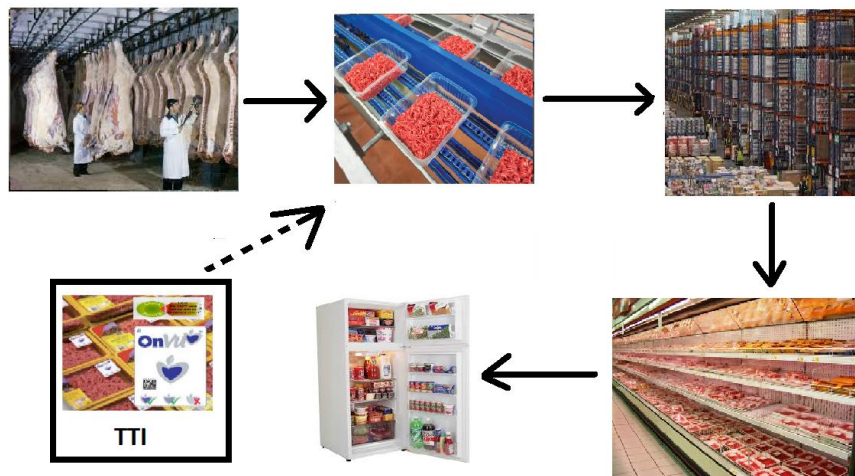




ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών (IV)
Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

Κινητική μελέτη έξυπνης συσκευασίας με εφαρμογή ενζυμικών και φωτοχημικών χρονο-θερμοκρασιακών ολοκληρωτών ΤΠΙ για τον έλεγχο της ψυκτικής αλυσίδας βόειου κιμά



Διπλωματική εργασία: Μαρία Δ. Πολεμαρχάκη

Επιβλέπων καθηγητής: Πέτρος Σ. Ταούκης

ΑΘΗΝΑ 2015

Αφιερωμένη στους γονείς μου

Πρόλογος

Η εκπόνηση της παρούσας Διπλωματικής Εργασίας με θέμα «Κινητική μελέτη έξυπνης συσκευασίας με εφαρμογή ενζυμικών και φωτοχημικών χρονο-θερμοκρασιακών ολοκληρωτών (ΤΤΙ) για τον έλεγχο της ψυκτικής αλυσίδας βόειου κιμά» πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου υπό την επίβλεψη του καθηγητή Ε.Μ.Π. Πέτρου Ταούκη.

Η συνεισφορά πολλών ανθρώπων υπήρξε καταλυτική για την επιτυχή περάτωση αυτής της Διπλωματικής Εργασίας και αισθάνομαι έντονα την ανάγκη να εκφράσω την ευγνωμοσύνη και τις ευχαριστίες μου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Πέτρο Ταούκη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση της παρούσας εργασίας, για τη συνεχή καθοδήγηση του και την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στην ομάδα του.

Έπειτα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Ελένη Πλατάκου, η οποία με απaráμιλλη προθυμία και υπομονή μου παρείχε συνεχώς τη βοήθεια, τις γνώσεις, την ουσιώδη καθοδήγηση και την αστείρευτη υποστήριξή της. Πολλές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω ακόμη στη διδάκτορα Ελένη Γώγου για την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε, τη συνεχή βοήθειά της καθώς και την όρεξη που πάντα είχε να μου λύσει κάθε απορία. Φυσικά δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω πολύ τη διδάκτορα Θεοφανία Τσιρώνη, η οποία με τις καίριες παρατηρήσεις και επισημάνσεις της με βοήθησε ιδιαιτέρως. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλα τα μέλη του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων για την άριστη συνεργασία και το φιλικό περιβάλλον που δημιούργησαν καθ' όλη τη διάρκεια τη παραμονής μου στο εργαστήριο.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένειά μου για την πίστη τους σε εμένα και την συνεχή στήριξή τους σε κάθε επίπεδο σε όλη τη διάρκεια της ακαδημαϊκής και μη πορείας μου και στους φίλους μου που έκαναν όλα τα φοιτητικά μου χρόνια μια μοναδική εμπειρία.

Αθήνα, Μάρτιος 2015

Μαρία Πολεμαρχάκη

Περίληψη

Η σωστή διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας αποτελεί βασική προϋπόθεση για τη διασφάλιση της ποιότητας των τροφίμων. Ωστόσο, η ψυκτική αλυσίδα των τροφίμων χαρακτηρίζεται από μεγάλες απώλειες ποιότητας, κυρίως λόγω σημαντικών αποκλίσεων από τις προδιαγραφές της θερμοκρασίας. Με τη θερμοκρασία να αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα που καθορίζει το ρυθμό υποβάθμισης ενός τροφίμου, ένα αποτελεσματικό σύστημα διασφάλισης της ποιότητας και της ασφάλειας, όπως αυτό ορίζεται από τις αρχές της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής και Ορθής Υγιεινής Πρακτικής, καθιστά ως κεντρικό στόχο την καταγραφή και τον έλεγχο της κρίσιμης αυτής παραμέτρου σε όλη την αλυσίδα.

Πρακτική λύση θα αποτελούσαν οι Χρονο-θερμοκρασιακοί Δείκτες ή Ολοκληρωτές ΤΠΙ (Time Temperature Indicators or Indegtrators), οι οποίοι είναι ένα πρωτοποριακό σύστημα επισήμανσης των τροφίμων. Έχουν τη μορφή μιας «ζωντανής», χαμηλού κόστους αυτοκόλλητης ετικέτας ή αποτελούν μέρος της ίδιας της συσκευασίας του τροφίμου (έξυπνη συσκευασία). Παρακολουθούν το χρονο-θερμοκρασιακό ιστορικό των τροφίμων, σε όλη τη διάρκεια της πορείας τους από το σημείο παραγωγής, τις ενδιάμεσες φάσεις διανομής μέχρι τον τελικό καταναλωτή και μπορούν να χρησιμοποιηθούν επικουρικά της ημερομηνίας ανάλωσης, ως «δυναμική» ημερομηνία λήξης.

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η κινητική μελέτη της απόκρισης ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ και η επιλογή των κατάλληλων δεικτών για την παρακολούθηση της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά με σκοπό την εφαρμογή τους στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας.

Συγκεκριμένα, στο πρώτο μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας, πραγματοποιήθηκε κινητική μελέτη διαφόρων ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ σε θερμοκρασίες ψύξης (0, 5, 10, 15°C) και κατάψυξης (-5, -8, -9, -10, -12, -15°C) και προσδιορίστηκαν οι συναρτήσεις απόκρισης και τα κινητικά χαρακτηριστικά των δεικτών αυτών. Η λειτουργία των ενζυμικών δεικτών στηρίζεται σε μια αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος, σταθερή με την πάροδο του χρόνου σε μια σταθερή θερμοκρασία. Η αντίδραση αυτή παρατηρείται οπτικά ως αλλαγή χρώματος, από πράσινο χρώμα κατά την ενεργοποίηση του, με σταδιακή αλλαγή σε κίτρινο και τελικά κόκκινο χρώμα κατά τη λήξη του ΤΠΙ. Οι φωτοχημικοί δείκτες που μελετήθηκαν ενεργοποιούνται ύστερα από έκθεσή τους στην υπεριώδη ακτινοβολία για συγκεκριμένο χρόνο και αποκτούν έντονο μπλε χρώμα, το οποίο σταδιακά φθίνει με χρονο-θερμοκρασιακά εξαρτώμενο ρυθμό έως ότου γίνει ανοιχτό γκρι. Οι ενζυμικοί δείκτες που μελετήθηκαν ήταν τύπου M (ένζυμο: παγκρεατική λιπάση, υπόστρωμα: μυριστικό μεθυλεστέρα), ενώ οι φωτοχημικοί δείκτες ήταν τύπου On-Vu B1, B1_Snowflake και BL.

Μετά την κινητική μελέτη των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών, έγινε ανάπτυξη των συνολικών μαθηματικών μοντέλων απόκρισης των ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ και ακολούθως μελετήθηκε η αξιοπιστία τους. Το μαθηματικό μοντέλο των ενζυμικών ΤΠΙ περιγράφει την εξάρτηση της απόκρισης των ΤΠΙ από τη θερμοκρασία, το χρόνο και τη

συγκέντρωση του ενζύμου του ΤΠΙ, ενώ το μαθηματικό μοντέλο των φωτοχημικών ΤΠΙ περιγράφει την εξάρτηση της απόκρισης αυτών από το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης καθώς και από τον αρχικό χρόνο έκθεσης του ΤΠΙ στην υπεριώδη ακτινοβολία (t_c), κατά την ενεργοποίησή τους. Η ενέργεια ενεργοποίησης E_A υπολογίστηκε 102kJ/mol για τα ενζυμικά ΤΠΙ, και για τους διάφορους τύπους φωτοχημικών ΤΠΙ κυμαίνεται από 147.8kJ/mol έως 158.7kJ/mol.

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας πραγματοποιήθηκε μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά, συσκευασμένα υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα MAP (80%O₂, 8%CO₂, 12%N₂), με απώτερο σκοπό την επιλογή κατάλληλων δεικτών για την παρακολούθηση της ποιότητας του τροφίμου αυτού στην ψυκτική αλυσίδα. Στο κομμάτι αυτό, πραγματοποιήθηκαν 2 σειρές πειραμάτων, στις οποίες μελετήθηκαν η μικροβιακή αλλοίωση, η μεταβολή του pH, του χρώματος και της αέριας σύστασης, ενώ πραγματοποιήθηκε και οργανοληπτική αξιολόγηση.

Στην πρώτη σειρά πειραμάτων έγινε μελέτη της διατηρησιμότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά, δύο διαφορετικών προελεύσεων (Γαλλίας και Βελγίου) συσκευασμένου υπό συνθήκες MAP. Με επεξεργασία των αποτελεσμάτων αναπτύχθηκε και επαληθεύτηκε μαθηματικό μοντέλο πρόβλεψης της ανάπτυξης γαλακτικών βακτηρίων (κύριος αλλοιογόνος μικροοργανισμός) σε νωπό βόειο κιμά Βελγίου, δηλαδή μοντέλο πρόβλεψης της υποβάθμισης της ποιότητάς του. Η ενέργεια ενεργοποίησης E_A υπολογίστηκε 104.1kJ/mol για θερμοκρασία αναφοράς 4 °C.

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης της αναλογίας μάζας βόειου κιμά και της υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) της συσκευασίας στη διατηρησιμότητα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά. Παρατηρήθηκε ότι η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης δεν επιδρά σημαντικά στην ποιότητα του τροφίμου.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε μελέτη για την εύρεση του κατάλληλου ΤΠΙ για την παρακολούθηση της ψυκτικής αλυσίδας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά. Αρχικά, προκειμένου να γίνει συσχέτιση των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών και του τροφίμου, συγκρίνονται οι ενέργειες ενεργοποίησής τους και οι χρόνοι ζωής τους, καθώς απαραίτητη προϋπόθεση είναι να έχουν παραπλήσιες τιμές. Έτσι, οι δείκτες που επιλέχθηκαν, επισυνάφθηκαν πάνω στη συσκευασία του τροφίμου και μελετήθηκαν ήταν ο ενζυμικός δείκτης M_37U και ο φωτοχημικός δείκτης B1-0.4s UV. Αφού πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των πραγματικών εναπομείναντων χρόνων ζωής του φρέσκου βόειου κιμά ($SL_{R (EXPERIMENTAL)}$) με τους θεωρητικούς εναπομείναντες χρόνους ζωής σύμφωνα με την ένδειξη του ΤΠΙ ($SL_{R (TPI)}$), επαληθεύτηκε ότι οι επιλεγμένοι δείκτες μπορούν να εφαρμοστούν με αξιοπιστία για την παρακολούθηση της ποιότητας φρέσκου βόειου κιμά στην ψυκτική αλυσίδα. Ταυτόχρονα, αξιολογήθηκε και επιβεβαιώθηκε η χρήση επιλεγμένων ΤΠΙ για το συγκεκριμένο τρόφιμο μέσα από προσομοίωση, χρησιμοποιώντας χρονο-θερμοκρασιακά δεδομένα από την πραγματική ψυκτική αλυσίδα φρέσκου βόειου κιμά.

Πίνακας Περιεχομένων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Ποιότητα τροφίμων	- 1 -
1.2.1 Διατηρησιμότητα τροφίμου (διάρκεια ζωής) και καθορισμός της	- 2 -
1.2.2 Ασφάλεια των τροφίμων	- 3 -
1.3 Πρότυπα και προδιαγραφές ποιότητας	- 4 -
1.4 Κινητική συνάρτηση ποιότητας τροφίμων	- 5 -
1.5 Επίδραση των περιβαλλοντικών παραμέτρων στην υποβάθμιση της ποιότητας των τροφίμων	- 9 -
1.5.1 Επίδραση της θερμοκρασίας	- 10 -
1.5.2 Επίδραση της ενεργότητας του νερού (a_w)	- 15 -
1.5.3 Η επίδραση του pH	- 16 -
1.5.4 Η επίδραση των αερίων	- 16 -
1.5.5 Η επίδραση της πίεσης	- 17 -
1.5.6 Μηχανική καταπόνηση	- 17 -
1.5.7 Η επίδραση του φωτός	- 17 -
1.6 Υποβάθμιση της ποιότητας της ψυγμένων τροφίμων – Διαχείριση και έλεγχος της ψυκτικής αλυσίδας	- 17 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος	- 21 -
2.1 Εισαγωγή	- 21 -
2.2 Σύσταση του κρέατος	- 22 -
2.3 Μεταθανάτιες (post-mortem) μεταβολές κρέατος	- 23 -
2.4 Παράγοντες που καθορίζουν τη μικροβιακή αλλοίωση του κρέατος	- 26 -
2.4.1 Μικροβιακή χλωρίδα του κρέατος	- 26 -
2.4.2 Πηγές μικροβιακής μόλυνσης	- 28 -
2.4.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αλλοίωση και τη διάρκεια ζωής του κρέατος	- 29 -
2.5 Μεταβολές στην ποιότητα του κρέατος κατά τη συντήρηση	- 30 -

Πίνακας περιεχομένων

2.5.1 Μεταβολές στην ποιότητα του κρέατος σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP)	- 31 -
2.6 Το χρώμα του κρέατος και οι μεταβολές του κατά τη διάρκεια της συντήρησης	- 32 -
2.7 Ψύξη και Συντήρηση του κρέατος	- 33 -
2.8 Ψυκτική αλυσίδα φρέσκου βόειου κιμά	- 35 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ	- 39 -
3.1 Εισαγωγή	- 39 -
3.2 Ορισμός, αρχή λειτουργίας και κατηγοριοποίηση των ΤΠΙ	- 40 -
3.2.1 Ορισμός και αρχή λειτουργίας των ΤΠΙ	- 40 -
3.2.2. Κατηγοριοποίηση των ΤΠΙ	- 40 -
3.3 Χαρακτηριστικά ενός ιδανικού ΤΠΙ	- 42 -
3.4 Ιστορική πορεία των ΤΠΙ	- 43 -
3.5 Σύγχρονα συστήματα ΤΠΙ	- 47 -
3.5.1 Δείκτες μοριακής διάχυσης	- 49 -
3.5.2 Πολυμερικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες	- 49 -
3.5.3 Χημικοί – Φυσικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες	- 50 -
3.5.4 Ενζυμικοί δείκτες	- 55 -
3.5.5 Μικροβιολογικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες	- 59 -
3.6 Κινητική απόκριση των ΤΠΙ	- 60 -
3.7 Αντιστοίχιση απόκρισης ΤΠΙ με την ποιότητα των τροφίμων	- 61 -
3.8 Σφάλματα στην εκτίμηση της δραστηκής θερμοκρασίας T_{eff} .	- 65 -
3.9 Μελέτες αντιστοίχισης χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών σε συγκεκριμένα τρόφιμα	- 65 -
3.10 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των ΤΠΙ	- 68 -
3.10.1 Πλεονεκτήματα των ΤΠΙ	- 68 -
3.10.2 Μειονεκτήματα – Περιορισμοί για την εφαρμογή των ΤΠΙ και επιφυλακτικότητα από τους τελικούς χρήστες	- 75 -
3.11 Η στάση των καταναλωτών απέναντι στα ΤΠΙ	- 77 -
3.12 Εφαρμογές των ΤΠΙ	- 79 -

Πίνακας περιεχομένων

3.13 Συστήματα διαχείρισης της ψυκτικής αλυσίδας με χρήση των ΤΠΙ	- 82 -
3.13.1 Σύστημα FIFO – LSFO ή SRSI	- 82 -
3.13.2 Ανάπτυξη και εφαρμογή συστήματος SMAS (Safety Monitoring and Assurance System)	- 82 -
3.14 Μελλοντικές τάσεις για τη χρήση ΤΠΙ	- 86 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Πειραματική διαδικασία – Υλικά και μέθοδοι	- 87 -
4.1 Εισαγωγή - Σκοπός	- 87 -
4.2 Μελέτη ενζυμικών και φωτοχημικών χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΠΙ)	- 88 -
4.2.1 Πειραματική διαδικασία	- 88 -
4.2.2 Συσκευές πειραματικής διαδικασίας	- 90 -
4.3 Μελέτη των παραγόντων αλλοίωσης νωπού βόειου κιμά σε MAP	- 93 -
4.3.1 Μέτρηση αέριας σύστασης συσκευασίας	- 94 -
4.3.2 Μέτρηση μικροβιακού φορτίου	- 94 -
4.3.3 Μέτρηση pH	- 96 -
4.3.4 Μέτρηση χρώματος	- 96 -
4.3.5 Οργανοληπτικός έλεγχος	- 97 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ	- 99 -
5.1 Επεξεργασία της απόκρισης των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών	- 99 -
5.1.1 Καθορισμός της συνάρτησης απόκρισης $F(X_C)$ των ενζυμικών ΤΠΙ	- 99 -
5.1.2 Καθορισμός της συνάρτησης απόκρισης $F(X_C)$ των φωτοχημικών ΤΠΙ	- 99 -
5.1.3 Προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων k και E_A των ΤΠΙ	- 100 -
5.1.4 Στατιστική επεξεργασία των ΤΠΙ ετικετών	- 101 -
5.1.5 Έλεγχος της αξιοπιστίας των κινητικών μοντέλων	- 103 -
5.2 Κινητική μελέτη της απόκρισης των ενζυμικών ΤΠΙ	- 104 -
5.2.1 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_4.2U	- 105 -
5.2.2 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_7.2U	- 107 -
5.2.3 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_9.6U	- 109 -

Πίνακας περιεχομένων

5.2.4 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_11U	- 112 -
5.2.5 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_13U	- 114 -
5.2.6 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_20U	- 117 -
5.2.7 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_25U	- 119 -
5.2.8 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_37U	- 122 -
5.2.9 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_44U	- 124 -
5.2.10 Επεξεργασία μετρήσεων εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τους δείκτες M_4.2U, M_7.2U και M_37U	- 127 -
5.3 Κινητική μελέτη της απόκρισης των φωτοχημικών ΤΠΙ	- 132 -
5.3.1 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_C 0.6s UV	- 133 -
5.3.2 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_C 1s UV	- 135 -
5.3.3 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_C 2s UV	- 137 -
5.3.4 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_H 1s UV	- 139 -
5.3.5 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_H 2s UV	- 140 -
5.3.6 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_Snowflake 1s UV	- 142 -
5.3.7 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_Snowflake 2s UV	- 144 -
5.3.8 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου BL 1s UV	- 145 -
5.3.9 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου BL 2s UV	- 147 -
5.3.10 Επεξεργασία μετρήσεων εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τους δείκτες B1_H 1s UV, B1_Snowflake 1s UV και BL 1s UV	- 149 -
5.4 Διάρκεια ζωής (Response time) των ΤΠΙ	- 153 -
5.5 Προσδιορισμός συνολικών μαθηματικών μοντέλων της απόκρισης των ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ	- 155 -
5.5.1 Προσδιορισμός συνολικού μαθηματικού μοντέλου των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M-	155 -
-	
5.5.2 Προσδιορισμός συνολικού μαθηματικού μοντέλου των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου OnVu B1 και BL.	- 159 -
5.6 Μελέτη αξιοπιστίας των μαθηματικών μοντέλων - στατιστική επεξεργασία	- 166 -
5.6.1 Ενζυμικά ΤΠΙ τύπου M	- 166 -

Πίνακας περιεχομένων

5.6.2 Φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1	- 169 -
5.6.3 Φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake	- 171 -
5.6.4 Φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου BL	- 172 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά	- 173 -
6.1 Εισαγωγή	- 173 -
6.2 Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στην ποιότητα και τη διάρκεια ζωής βόειου κιμά διαφορετικής προέλευσης (Βελγίου και Γαλλίας) – (Α σειρά πειραμάτων)	- 174 -
6.2.1 Συνθήκες αποθήκευσης	- 174 -
6.2.2 Επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης στους επιλεγμένους δείκτες ποιότητας	- 175 -
6.3 Επίδραση της αναλογίας μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) στην εμπορική διάρκεια ζωής του προϊόντος	- 185 -
6.3.1 Συνθήκες αποθήκευσης	- 185 -
6.3.2 Επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης στους επιλεγμένους δείκτες ποιότητας	- 186 -
6.4 Ανάπτυξη μαθηματικού μοντέλου πρόβλεψης της μικροβιολογικής αλλοίωσης προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά	- 202 -
6.4.1 Ισοθερμοκρασιακές συνθήκες αποθήκευσης-Ανάπτυξη κινητικού μοντέλου	- 202 -
6.4.2 Επαλήθευση μαθηματικού μοντέλου σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες	- 207 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΤΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά στην ψυκτική αλυσίδα	- 211 -
7.1 Εισαγωγή	- 211 -
7.2 Επιλογή κατάλληλων ΤΤΙ για την παρακολούθηση της ποιότητας των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά	- 212 -
7.3 Επαλήθευση εφαρμοσιμότητας δεικτών ΤΤΙ στην παρακολούθηση ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά	- 214 -
7.4 Εφαρμογή των Χρονο-θερμοκρασιακών Δεικτών για την πρόβλεψη της εναπομένουσας διάρκειας ζωής κατά τη διακίνηση των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά	- 216 -

Πίνακας περιεχομένων

7.5 Αξιολόγηση της εφαρμογής και χρήσης των επιλεγμένων ΤΠΙ σε συνθήκες της πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά (προσομοίωση)	- 218 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων	- 223 -
Συμπεράσματα - Προτάσεις	- 233 -
Βιβλιογραφία	- 235 -
Παράρτημα I	- 247 -
Παράρτημα II	- 249 -

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Ποιότητα τροφίμων

1.1 Εισαγωγή

Τα τρόφιμα είναι πολύπλοκα συστήματα - μίγματα χημικών συστατικών τα οποία πρέπει να καλύπτουν τις θρεπτικές ανάγκες του οργανισμού, να είναι ασφαλή και ευχάριστα και να έχουν χαμηλή τιμή. Οι βιομηχανίες τροφίμων επεξεργάζονται πρώτες ύλες (φυτικές, ζωικές) και παράγουν προϊόντα που πρέπει να ικανοποιούν τις ανάγκες της διατροφής του ανθρώπου.

Η ποιότητα ενός τροφίμου ορίζεται ως ο βαθμός προσαρμογής στις απαιτήσεις του καταναλωτή, που έχουν σχέση με τη θρεπτικότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητές του. Η ποιότητα κάθε τροφίμου εξαρτάται από την ποιότητα των πρώτων υλών και από την τεχνολογία παραγωγής, εκφράζεται δε με τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα όπως άρωμα, γεύση, σύσταση κ.ά. Έτσι, η ποιότητα ενός τροφίμου αποτελεί την οριακή «συνισταμένη των επιμέρους ποιοτήτων» των υλικών και των μεθόδων τεχνολογίας που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή του και είναι άμεσα συνδεδεμένη με το κόστος παραγωγής.

Έλεγχος ποιότητας τροφίμου είναι κάθε ενέργεια που αποσκοπεί στην παραγωγή του τροφίμου το οποίο να ανταποκρίνεται σε ένα προκαθορισμένο και σταθερό επίπεδο ποιότητας και να είναι ανταγωνιστικό στην αγορά.

Η Διασφάλιση της ποιότητας στη βιομηχανία τροφίμων συνεπάγεται για τον καταναλωτή ότι εξασφαλίζει αποδεκτά προϊόντα και σύμφωνα με τις προδιαγραφές και για τη βιομηχανία ότι διαθέτει Σύστημα Διασφάλισης Ποιότητας. Για τη διασφάλιση της ποιότητας στη βιομηχανία έχουν αναπτυχθεί από το Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (ISO) Πρότυπα Διαχείρισης Ποιότητας της σειράς ISO 9000 και Διαχείρισης Ασφάλειας (ISO 21000) τα οποία έχουν υιοθετηθεί από τη βιομηχανία τροφίμων (Ταούκης, 2012).

1.2 Συντελεστές ποιότητας τροφίμων

Η ποιότητα ενός τροφίμου μπορεί να αναλυθεί σε επί μέρους χαρακτηριστικά ποιότητας. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά ή **συντελεστές ποιότητας** ενός τροφίμου διακρίνονται σε "οργανοληπτικά χαρακτηριστικά" ή "εμφανή χαρακτηριστικά", τα οποία μπορούν να εκτιμηθούν εύκολα με τις αισθήσεις και σε "μη εμφανή χαρακτηριστικά" τα οποία δεν μπορούν να εκτιμηθούν με τις αισθήσεις αλλά παίζουν ρόλο στην ασφάλεια του τροφίμου, στη διατροφική αξία του καθώς και την εμπορική του αξία. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά ενός

Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων

τροφίμου μπορούν να προσδιοριστούν με φυσικές, φυσικοχημικές, χημικές, μικροβιολογικές και οργανοληπτικές μεθόδους και παραθέτονται αναλυτικά στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1: Ταξινόμηση χαρακτηριστικών ή συντελεστών ποιότητας τροφίμου

ΕΜΦΑΝΗ/ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ	ΜΗ ΕΜΦΑΝΗ
<u>Όραση - Εφάνιση:</u>	Αβλαβής νοθεία
Χρώμα	Θρεπτική αξία
Ιξώδες	Τοξικότητα
Στιλπνότητα	Διατηρησιμότητα
Μέγεθος και σχήμα	(χρόνος ζωής)
Ελαττώματα	
<u>Αφή - Κιναισθητική (υφή):</u>	
Αίσθηση στο χέρι ή στα δάχτυλα	
Στοματική αίσθηση	
<u>Όσφρηση και γεύση -Άρωμα:</u>	
Οσμή	
Γεύση	
<u>Ακοή:</u>	
Κοπή και μάσημα	

Χαρακτηριστικά της ποιότητας των τροφίμων αποτελούν επίσης η συμφωνία με τη νομοθεσία, η συσκευασία, η τιμή, η διαθεσιμότητα και φυσικά η ασφάλειά τους (Τζιά, 2007).

1.2.1 Διατηρησιμότητα τροφίμου (διάρκεια ζωής) και καθορισμός της

Η ποιότητα του τροφίμου είναι μια δυναμική κατάσταση που κινείται προς φθίνουσα κατεύθυνση. Για το λόγο αυτό τα τρόφιμα έχουν πεπερασμένη διατηρησιμότητα ή διάρκεια ζωής (shelf life).

Δεν έχει διατυπωθεί κάποιος γενικά εφαρμόσιμος ορισμός της διατηρησιμότητας των τροφίμων. Ο καθορισμός της διάρκειας ζωής και των κριτηρίων που οριοθετούν το τέλος της εξαρτώνται από το προϊόν και από τη χρήση για την οποία προορίζεται. Από το Διεθνές Ινστιτούτο Ψυγμένων Προϊόντων (International Institute of Refrigerator, IIR) υποδεικνύονται δύο διαφορετικοί ορισμοί:

1. **Ο Χρόνος Υψηλής Ποιότητας** (High quality life, HQL). Είναι ο χρόνος μετά την επεξεργασία του προϊόντος για την πρώτη αντιληπτή οργανοληπτική διαφορά (70-80% θετική απάντηση σε τριγωνικό τεστ).
2. **Ο Χρόνος Πρακτικής Διατήρησης** (PSL: Practical Shelf Life). Είναι ο χρόνος αποθήκευσης μετά την παραγωγή, προϊόντος υψηλής αρχικής ποιότητας, στον οποίο το τρόφιμο είναι οργανοληπτικά κατάλληλο για χρήση ή κατανάλωση. Ο χρόνος

Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων

πρακτικής διατήρησης είναι συνήθως δύο ή τρεις φορές μεγαλύτερος από το χρόνο υψηλής ποιότητας (HQL).

Η Ευρωπαϊκή Κοινότητα εισήγαγε για την επισήμανση των προϊόντων το **Χρόνο Ελάχιστης Διατηρησιμότητας** (Minimum Durability), ο οποίος ορίζεται ως χρόνος στον οποίο το τρόφιμο διατηρεί τα χαρακτηριστικά του, υπό κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης. Ο τελευταίος αυτός ορισμός διαφέρει από τους προαναφερθέντες στο ότι αναφέρεται στο τρόφιμο και τις ιδιότητές του χωρίς να λαμβάνει καθόλου υπόψη τη χρήση για την οποία προορίζεται. Πολλές φορές επιβεβαιώνεται η βασική παραδοχή ότι το υψηλότερης ποιότητας τρόφιμο είναι εκείνο που έχει παρασκευαστεί ή συλλεχθεί πρόσφατα. Παρ' όλα αυτά, μια και τα διάφορα χαρακτηριστικά των τροφίμων αλληλοεπικαλύπτονται, πρέπει να αποφασιστεί μέχρι ποιο σημείο ένα ορισμένο χαρακτηριστικό ή η εμφάνιση κάποιου ανεπιθύμητου μπορεί να ανιχνευθεί από τον καταναλωτή. Για παράδειγμα, αν η εμφάνιση κάποιου συγκεκριμένου αρώματος ή γεύσης σημαίνει την απουσία άλλων γεύσεων, πρέπει να αποφασιστεί μέχρι ποιο επίπεδο μπορεί να γίνει αυτό αντιληπτό από τον καταναλωτή. Ένας τέτοιος ορισμός πλησιάζει αρκετά με εκείνον που ορίστηκε παραπάνω ως χρόνος υψηλής ποιότητας (HQL).

Πάντως, όποιος ορισμός και αν χρησιμοποιηθεί σε κάθε περίπτωση, είναι απαραίτητο να συνοδεύεται από περαιτέρω διευκρινήσεις και οδηγίες, π.χ. πρέπει να γίνεται σαφές τι σημαίνει οργανοληπτική ποιότητα και ποιες είναι οι εκάστοτε μέθοδοι μέτρησης και τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για να οριστούν τα επιτρεπτά όρια αποδοχής. (Ταούκης, 2012)

1.2.2 Ασφάλεια των τροφίμων

Η σημασία της ποιότητας είναι γνωστή για όλα τα προϊόντα, επομένως και για τα τρόφιμα. Όλα τα επί μέρους χαρακτηριστικά ποιότητας τροφίμων έχουν σημασία για τον καταναλωτή. Ο καταναλωτής επιθυμεί αρεστά (οργανοληπτική ποιότητα), φθηνά, με καλή συσκευασία προϊόντα και σύμφωνα με τη νομοθεσία. Όπως υποδηλώνεται, όμως, η ασφάλεια των τροφίμων αποτελεί σήμερα ένα από τα σημαντικότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων λόγω της ιδιομορφίας των τροφίμων και της σχέσης τους με την υγεία του καταναλωτή και η ποιότητά τους περιλαμβάνει οπωσδήποτε την ασφάλειά τους (ολική ποιότητα).

Η **Ασφάλεια των τροφίμων** (food safety) ορίζεται ως η κατάσταση των τροφίμων η οποία δεν έχει δυσμενή επίπτωση στην υγεία του καταναλωτή ή η διασφάλιση των τροφίμων έναντι διαφόρων κινδύνων (μικροβιολογικών, χημικών, φυσικών). Ασφάλεια για τα τρόφιμα είναι η απουσία μικροβιολογικών (παθογόνα μικρόβια), χημικών (χημικά, φυτοφάρμακα κτλ) και φυσικών (γυαλί, μέταλλα κ.ά.) κινδύνων. Αντίστοιχα τα τρόφιμα που δεν περιέχουν κινδύνους (δυσμενείς παράγοντες για την υγεία) καλούνται ασφαλή. Όλα τα τρόφιμα που διακινούνται στην αγορά πρέπει υποχρεωτικά από τη νομοθεσία να είναι ασφαλή.

Ο Κίνδυνος (hazard) για τα τρόφιμα ορίζεται ως μια βιολογική, χημική ή φυσική ιδιότητα ή παράγοντας που μπορεί να καταστήσει το τρόφιμο μη ασφαλές για κατανάλωση.

Ως **απόλυτη ασφάλεια** (absolutely safety) ορίζεται η εξασφάλιση της μη πρόκλησης ασθένειας από τη χρήση ενός συστατικού (κατανάλωση τροφίμου) στον καταναλωτή.

Παρόλα αυτά, ένα ποσοστό επικινδυνότητας εμπεριέχεται σε κάθε τρόφιμο ή χημική ουσία. Κατά συνέπεια, ο στόχος για την επίτευξη της απόλυτης ασφάλειας δεν είναι εφικτός.

Η **σχετική ασφάλεια των τροφίμων** (relative food safety) ορίζεται ως η πρακτική σιγουριά, ότι δεν θα προκληθεί ασθένεια στον καταναλωτή από την κατανάλωση ενός τροφίμου ή συστατικού, με την προϋπόθεση ότι αυτό χρησιμοποιείται σωστά και η κατανάλωσή του δεν υπερβαίνει κάποια ανώτατα όρια.

Η ασφάλεια των τροφίμων δεν εξαρτάται μόνο από τα ίδια τα τρόφιμα, αλλά και από τα άτομα που τα καταναλώνουν. Έτσι, τρόφιμα, τα οποία κρίνονται ασφαλή για τους περισσότερους καταναλωτές, μπορεί να είναι ιδιαίτερα τοξικά ή ακόμα και θανατηφόρα για ευαίσθητα ή αλλεργικά άτομα.

Η ασφάλεια είναι ο σπουδαιότερος συντελεστής ποιότητας των τροφίμων και έχει ειδική σημασία για τα τρόφιμα. Δεν εννοείται ποιότητα για το τρόφιμο χωρίς ασφάλεια –θεωρείται ως δεδομένη. Η ασφάλεια αποτελεί προϋπόθεση για το τρόφιμο και θεωρείται αδιαπραγμάτευτη. Η ποιότητα των τροφίμων είναι επιθυμητή και σε κάποιο βαθμό προαιρετική, η ασφάλεια όμως των τροφίμων θεωρείται «δεδομένη» για τον καταναλωτή, είναι υποχρεωτικά απαιτούμενη από τη νομοθεσία και πρέπει να εξασφαλίζεται για όλα τα προϊόντα που παράγονται από τη βιομηχανία τροφίμων και διακινούνται στην αγορά.

Για τους παραπάνω λόγους, η ασφάλεια εξετάζεται ιδιαίτερα στα τρόφιμα και γι' αυτό έχει αναπτυχθεί ένα σύστημα ασφάλειας υγιεινής και πρότυπο ασφάλειας με γενική αποδοχή, που επίσης εστιάζει και στις φάσεις της προκατεργασίας των προϊόντων, η **Ανάλυση Επικινδυνότητας στα Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου (HACCP : Hazard Analysis of Critical Control Points)**. Το σύστημα HACCP επικεντρώνεται στα κρίσιμα σημεία ελέγχου (CCPs: *critical control points*) που είναι τα πιο σημαντικά στη ροή της παραγωγής του τροφίμου και προσεγγίζει συστηματικά με τον καλύτερο δυνατό τρόπο την ασφάλεια του τροφίμου ελέγχοντας τα σημεία αυτά. Ως κρίσιμα σημεία ελέγχου αναγνωρίζονται και ορισμένα στάδια της ψυκτικής αλυσίδας για διάφορα ελάχιστα επεξεργασμένα κατεψυγμένα προϊόντα. Η παρακολούθηση αυτών των σημείων ελέγχου αποδεικνύεται σημαντική για τη διασφάλιση της ποιότητας των τροφίμων (Τζιά, 2010).

1.3 Πρότυπα και προδιαγραφές ποιότητας

Για την επίτευξη της ποιότητας των προϊόντων τροφίμων πρέπει να ικανοποιούνται:

- 1. Νομικές προδιαγραφές:** Οι προδιαγραφές αυτές είναι υποχρεωτικές από διεθνείς φορείς (π.χ. FDA), από την ευρωπαϊκή ή διεθνή νομοθεσία. Αναφέρονται σε όρια συγκέντρωσης συστατικών ή σε απουσία νοθείας ή μόλυνσης, όπως και σε όρια συνθηκών επεξεργασίας τροφίμων ή/και σε απαγόρευση μόλυνσης (επαφής) των τροφίμων από κάποιο υλικό.
- 2. Προδιαγραφές τροφίμου:** Οι προδιαγραφές αυτές έχουν σχέση με τον κλάδο της βιομηχανίας τροφίμων, έχουν όμως σημασία για την εικόνα που σχηματίζει ο

καταναλωτής για το προϊόν και μπορεί να γίνει σήμα ή σύμβολο ποιότητας του προϊόντος.

3. **Προδιαγραφές βιομηχανίας/εταιρείας:** Οι βιομηχανίες κάνουν οργανωμένες προσπάθειες για τον καθορισμό και την εγκατάσταση ορίων/στόχων (προδιαγραφών) ποιότητας για τα προϊόντα τους. Οι προδιαγραφές εφαρμόζονται λόγω πίεσης από το μάρκετινγκ ή λόγω ομάδας στην οποία ανήκει ένα προϊόν ή όπου δεν εμπλέκονται νομοθετικές προδιαγραφές.
4. **Προδιαγραφές καταναλωτή:** Οι προδιαγραφές αυτές αντιπροσωπεύουν τις απαιτήσεις του καταναλωτή για το προϊόν και βασίζονται στην ενημέρωση και την εμπειρία του (Τζιά, 2010).

1.4 Κινητική συνάρτηση ποιότητας τροφίμων

Τα τρόφιμα θεωρούνται φθαρτά προϊόντα τα οποία κατά τη διατήρησή τους κάτω από ορισμένες συνθήκες υφίστανται ποιοτική υποβάθμιση και αλλοίωση. Εφαρμόζοντας τις βασικές αρχές της χημικής κινητικής, ο ρυθμός υποβάθμισης της ποιότητας ενός τροφίμου μπορεί γενικά να εκφραστεί ως μία συνάρτηση ενδογενών και εξωγενών παραγόντων:

$$\frac{dQ}{dt} = f(C_i, E_j) \quad (1.1)$$

όπου:

C_i : οι παράμετροι σύστασης (αντιδρώντα συστατικά, ανόργανοι καταλύτες, ένζυμα, παρεμποδιστές, pH, ενεργότητα νερού, μικροβιακή χλωρίδα)

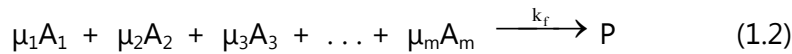
E_j : οι παράμετροι περιβάλλοντος (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, ολική πίεση, μερική πίεση περιβαλλόντων αερίων π.χ. CO_2 , N_2 , O_2 , φως, μηχανικές καταπονήσεις)

Σύμφωνα όμως με την παραπάνω εξίσωση, ο ρυθμός μεταβολής της ποιότητας είναι ένα πολύπλοκο φυσικοχημικό σύστημα το οποίο περιλαμβάνει πολυάριθμες φυσικές και χημικές μεταβλητές και σταθερές, οι οποίες στις περισσότερες περιπτώσεις είναι αδύνατον ή μη πρακτικό να καθοριστούν ποσοτικά.

Η καθιερωμένη μεθοδολογία περιλαμβάνει αρχικά την αναγνώριση των χημικών και βιολογικών δράσεων που επηρεάζουν την ποιότητα και την ασφάλεια του τροφίμου. Στη συνέχεια, μετά από προσεκτική μελέτη των συστατικών του τροφίμου και της χρησιμοποιούμενης διεργασίας, προσδιορίζονται οι αντιδράσεις που έχουν τη σημαντικότερη επίδραση στο ρυθμό της κινητικής αλλοίωσης (Labuza, 1985). Εξαιρώντας την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων E_j , θεωρώντας ότι παραμένουν σταθεροί ή ότι η επίδρασή τους είναι αμελητέα, μπορεί να αναπτυχθεί ένα απλοποιημένο σχεδιάγραμμα αντιδράσεων που να εκφράζει την επίδραση της συγκέντρωσης των αντιδρώντων συστατικών. Ο αντικειμενικός στόχος είναι η διαμόρφωση ενός μοντέλου που θα περιγράφει τη μεταβολή των συγκεντρώσεων των συστατικών εκείνων που σχετίζονται με την ποιότητα του τροφίμου, ως συναρτήσεις του χρόνου.

Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων

Για μη αντιστρεπτές αντιδράσεις ισχύει γενικά το σχήμα:



όπου:

A_j : τα αντιδρώντα.

μ_j : οι αντίστοιχοι στοιχειομετρικοί συντελεστές ($j = 1, 2, \dots, m$).

P: τα προϊόντα και

k_f : η σταθερά του ρυθμού αντίδρασης.

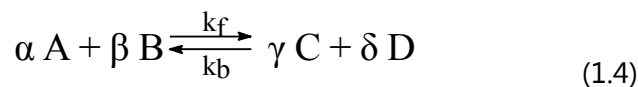
Ο ρυθμός r της παραπάνω αντίδρασης δίνεται από την παρακάτω σχέση (Hills and Grieger-Block, 1980) :

$$r = -\frac{1}{\hat{1}_j} \frac{d[A_j]}{dt} = k_f [A_1]^{n_1} [A_2]^{n_2} \dots [A_m]^{n_m} \quad (1.3)$$

όπου:

n_j : η τάξη της αντίδρασης ως προς κάθε αντιδρών A_j

Συχνά, η αποικοδόμηση σημαντικών συστατικών ενός τροφίμου προς ανεπιθύμητα προϊόντα είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη αντίδραση πολλαπλών σταδίων και έτσι είναι πολύ δύσκολο να αναγνωριστούν τόσο η αντίδραση τερματισμού, όσο και τα ενδιάμεσα προϊόντα. Πολλές αντιδράσεις που συμβαίνουν στα τρόφιμα είναι στην πραγματικότητα αμφίδρομες και έχουν τη μορφή:



Ο ρυθμός αντίδρασης σε αυτή την περίπτωση δίνεται από τη σχέση:

$$r = \frac{-d[A]}{\alpha dt} = \frac{-d[B]}{\beta dt} = \frac{+d[C]}{\gamma dt} = \frac{+d[D]}{\delta dt} = k_f [A]^\alpha [B]^\beta - k_b [C]^\gamma [D]^\delta \quad (1.5)$$

Στις περισσότερες δράσεις που συμβαίνουν στα τρόφιμα, η k_b είναι αμελητέα συγκρινόμενη με την k_f ή για το χρονικό διάστημα που υπάρχει πρακτικό ενδιαφέρον οι σταθερές απέχουν από την ισορροπία, δηλαδή οι συγκεντρώσεις των C, D είναι πολύ μικρές, οπότε η αντίδραση μπορεί να θεωρηθεί ως μονόδρομη. Συνήθως, ένα περιοριστικό αντιδρών επηρεάζει περισσότερο την ποιότητα του τροφίμου, ενώ τα άλλα συστατικά βρίσκονται σε μεγάλη περίσσεια ώστε η μεταβολή της συγκέντρωσής τους με το χρόνο να θεωρείται αμελητέα (Labuza, 1984). Έτσι ο ρυθμός της απώλειας ποιότητας (Σχέση 1.3) μπορεί να εκφραστεί ως συνάρτηση συγκεκριμένων αντιδρώντων, π.χ. του A:

$$r = \frac{-d[A]}{dt} = k_f' [A]^\alpha \quad (1.6)$$

Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων

όπου:

α : η φαινόμενη τάξη της αντίδρασης ως προς το συστατικό A

k_f : η φαινόμενη σταθερά ρυθμού

Με βάση την παραπάνω ανάλυση και αναγνωρίζοντας την πολυπλοκότητα των συστημάτων τροφίμων, μπορεί να θεωρηθεί ότι η αποικοδόμηση και η απώλεια διατηρησιμότητας ενός τροφίμου αντιπροσωπεύεται στην πράξη, από την απώλεια επιθυμητών παραγόντων ποιότητας A (π.χ. θρεπτικά συστατικά, χαρακτηριστικό άρωμα) ή από το σχηματισμό ανεπιθύμητων παραγόντων B (π.χ. ανεπιθύμητων αρωμάτων, ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου, αλλαγή χρώματος). Οι ρυθμοί απώλειας του A και σχηματισμού του B περιγράφονται από τις παρακάτω σχέσεις:

$$r_A = \frac{d[A]}{dt} = k[A]^m \quad (1.7)$$

$$r_B = \frac{d[B]}{dt} = k'[B]^{m'} \quad (1.8)$$

Οι δείκτες ποιότητας A και B είναι συνήθως χημικές, φυσικές, μικροβιολογικές ή οργανοληπτικές παράμετροι χαρακτηριστικές για το εκάστοτε σύστημα τροφίμου.

Τα k και k' (φαινόμενες σταθερές ρυθμού αντίδρασης) και τα m και m' (φαινόμενες τάξεις των αντιδράσεων) προσδιορίζονται πειραματικά με τους δύο παρακάτω τρόπους:

1) Διαφορικές μέθοδοι και

2) Μέθοδοι με ολοκλήρωση (Hills and Grieger-Block, 1980).

Διαφορικές μέθοδοι

Στην κινητική μελέτη των συστημάτων των τροφίμων δεν είναι δυνατόν να υπολογιστεί πειραματικά ο ρυθμός της αντίδρασης γι' αυτό μετρώνται οι συγκεντρώσεις των A, B (άμεσα ή έμμεσα) ως συνάρτηση του χρόνου. Με γραφική ή με κάποια στατιστική μέθοδο προσαρμογής των καμπύλων που προκύπτουν από τα παραπάνω δεδομένα (π.χ. γραμμική ή πολυωνυμική προσαρμογή) είναι δυνατόν να υπολογιστούν γραφικά ή αναλυτικά οι ρυθμοί των αντιδράσεων. Με λογαρίθμηση των εξισώσεων (1.7) και (1.8) προκύπτουν οι παρακάτω γραμμικές σχέσεις:

$$\log r_A = \log k + m \log [A] \quad (1.9)$$

$$\log r_B = \log k' + m' \log [B] \quad (1.10)$$

Με γραμμική προσαρμογή των δεδομένων, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων για τις παραπάνω εξισώσεις, είναι δυνατόν να υπολογιστούν οι σταθερές k , k' , m , m' .

Μέθοδοι με ολοκλήρωση

Στις μεθόδους ολοκλήρωσης, διαχωρίζονται οι μεταβλητές των εξισώσεων (1.7) και (1.8) και ακολουθεί ολοκλήρωση. Για παράδειγμα, η εξίσωση (1.7) γίνεται:

$$-\int_{A_0}^A \frac{d[A]}{[A]^m} = kt \quad (1.11)$$

Η παραπάνω σχέση είναι της μορφής: $Q(A) = kt$ (1.12)

όπου το $Q(A)$ ορίζεται ως η **συνάρτηση ποιότητας** του τροφίμου.

Ανάλογα με την τάξη της αντίδρασης προκύπτουν διαφορετικές συναρτήσεις ποιότητας για κάθε τρόφιμο. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συναρτήσεις ποιότητας και ο χρόνος ημιζωής, δηλαδή ο χρόνος στον οποίο η τιμή της συγκέντρωσης του δείκτη A έχει μειωθεί στο μισό της αρχικής τιμής της, για φαινόμενη τάξη αντίδρασης μηδενική, πρώτη, δεύτερη, m-οστή.

Πίνακας 1.2 Συναρτήσεις ποιότητας και χρόνοι ημιζωής για διαφορετικές φαινόμενες τάξεις αντιδράσεων

Φαινόμενη τάξη αντίδρασης	Συνάρτηση Ποιότητας $Q(A)t$	Χρόνος ημιζωής $t_{1/2}$
0	$A_0 - A_t$	$\frac{A_0}{2k_0}$
1	$\ln \frac{A_0}{A_t}$	$\ln \frac{2}{k_1}$
2	$\frac{1}{A_0} - \frac{1}{A_t}$	$\frac{1}{k_2 A_0}$
m (m≠1)	$\frac{1}{m-1} (A_t^{1-m} - A_0^{1-m})$	$\frac{2^{m-1} - 1}{k_m (m-1)} A_0^{1-m}$

Στη μέθοδο με ολοκλήρωση γίνεται ποσοτικός προσδιορισμός της τιμής του δείκτη A, η οποία υπολογίζεται με κατάλληλες φυσικοχημικές μεθόδους, σε τακτά χρονικά σημεία. Επίσης επιλέγεται από τον πιο παραπάνω πίνακα η εξίσωση που δίνει την καλύτερη στατιστική προσαρμογή στα πειραματικά σημεία (μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων).

Οι περισσότερες αντιδράσεις αλλοίωσης που έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί για την ποσοτική περιγραφή της διατηρησιμότητας των τροφίμων χαρακτηρίζονται ως μηδενικής ή πρώτης τάξης και παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.3.

Πίνακας 1.3. Σημαντικές αντιδράσεις αλλοίωσης που ακολουθούν κινητική μηδενικής ή πρώτης φαινόμενης τάξης.

ΜΗΔΕΝΙΚΗ ΤΑΞΗ	<ul style="list-style-type: none">• Αλλοίωση κατεψυγμένων τροφίμων• Μη ενζυμικό μαύρισμα (αντιδράσεις Maillard)
ΠΡΩΤΗ ΤΑΞΗ	<ul style="list-style-type: none">• Απώλεια βιταμινών• Μικροβιακή μείωση / ανάπτυξη• Οξειδωτική απώλεια χρώματος• Απώλεια υφής κατά τη θερμική κατεργασία

Πρέπει ακόμη να σημειωθεί το γεγονός ότι συνήθως η κινητική μελέτη δεν αναφέρεται συχνά στον πολύπλοκο πραγματικό μηχανισμό των αντιδράσεων, οπότε κάποια μεταβολή στη σύσταση του συστήματος μπορεί να επηρεάσει το ρυθμό αντίδρασης του δείκτη ποιότητας χωρίς αυτό να μπορεί να προβλεφθεί. Για το λόγο αυτό η αναγωγή των αποτελεσμάτων σε σύστημα διαφορετικής σύστασης πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή.

Για αυτό είναι σκόπιμο, σε ορισμένα συστήματα τροφίμων να μελετάται σε βάθος ο αληθινός μηχανισμός ορισμένων καθοριστικών για την ποιότητα του τροφίμου αντιδράσεων ώστε να μπορούν να μελετηθούν αλλαγές στη σύστασή του. Τέτοια διερεύνηση γίνεται συνήθως σε μοντέλα συστημάτων, για αντιδράσεις ιδιαίτερης διατροφικής και τοξολογικής σημασίας παρά σε πραγματικά τρόφιμα.

1.5 Επίδραση των περιβαλλοντικών παραμέτρων στην υποβάθμιση της ποιότητας των τροφίμων

Ένα κινητικό μοντέλο που περιγράφει την απώλεια της ποιότητας είναι χαρακτηριστικό για κάθε τρόφιμο, αλλά επηρεάζεται άμεσα και από περιβαλλοντικούς παράγοντες οι οποίοι θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά το σχεδιασμό του.

Κατά την προηγούμενη ανάλυση θεωρήθηκε ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες E_j παραμένουν σταθεροί. Στην πραγματικότητα, όμως, μεταβάλλονται συνεχώς και επηρεάζουν τους ρυθμούς των αντιδράσεων που συμβαίνουν μέσα σε ένα σύστημα.

Οι σημαντικότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν στην ποιότητα του τροφίμου είναι οι εξής:

- η θερμοκρασία
- η ενεργότητα του νερού
- η ολική και οι μερικές πιέσεις των διαφορετικών αερίων
- το pH
- η σχετική υγρασία
- οι ακτινοβολίες

- οι μηχανικές πιέσεις

Ο σημαντικότερος περιβαλλοντικός παράγοντας από όλους είναι η θερμοκρασία, η οποία παρουσιάζει και ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την παρούσα μελέτη.

1.5.1 Επίδραση της θερμοκρασίας

Η θερμοκρασία επηρεάζει ισχυρά τους ρυθμούς των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα σ' ένα σύστημα τροφίμου. Από τις παραμέτρους είναι εκείνη η οποία ελέγχεται λιγότερο από τη συσκευασία και καθορίζεται αποκλειστικά από τις συνθήκες αποθήκευσης. Αρκετά μοντέλα έχουν αναπτυχθεί για την επίδραση της θερμοκρασίας. Τα σημαντικότερα από αυτά παρουσιάζονται παρακάτω.

1.5.1.1 Μοντέλο Arrhenius

Πρόκειται για το πιο διαδεδομένο και ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο, το οποίο περιγράφεται από τη **σχέση Arrhenius**:

$$k = k_A \cdot e^{\left(\frac{E_A}{R \cdot T}\right)} \quad (1.13)$$

όπου:

k: η σταθερά του ρυθμού της αντιδράσεως

k_A: ο συντελεστής Arrhenius ή σταθερά Arrhenius

E_A: η ενέργεια ενεργοποίησης σε cal/mol

R η παγκόσμια σταθερά των αερίων (1,9872 cal/mol/K)

T η απόλυτη θερμοκρασία σε K

Λογαριθμίζοντας τη σχέση (1.13) προκύπτει η παρακάτω λογαριθμική σχέση:

$$\ln k = \ln k_A - \frac{E_A}{R} \cdot \left(\frac{1}{T}\right) \quad (1.14)$$

Από την παραπάνω μορφή της εξίσωσης του Arrhenius, γνωρίζοντας τις τιμές των k σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες T, οι παράμετροι E_A και k_A μπορούν να υπολογιστούν από τις ακόλουθες εξισώσεις :

$$E_A = \ln \left(\frac{k_2}{k_1} \right) \frac{R \cdot T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1} \quad (1.15)$$

$$k_A = k_1 \left(\frac{T_1}{T_1 - T_2} \right) \cdot k_2 \left(\frac{T_2}{T_1 - T_2} \right) \quad (1.16)$$

Στην πράξη, από τη στιγμή που υπάρχει πειραματικό σφάλμα στον προσδιορισμό των τιμών του k, ο υπολογισμός του E_A από δύο μόνο σημεία θα είναι σίγουρα εσφαλμένος. Συνήθως, ο ρυθμός της αντίδρασης προσδιορίζεται, όταν είναι γνωστές σε τρεις ή περισσότερες

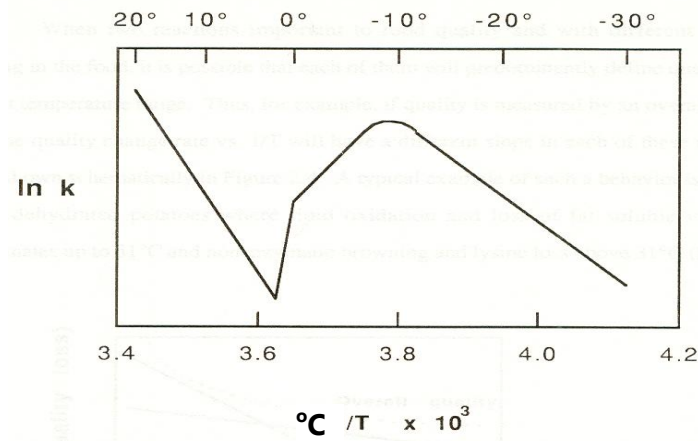
Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων

Θερμοκρασίες οι τιμές των k , από το ημιλογαριθμικό διάγραμμα του $\ln k$ με το $1/T$ όπου προκύπτει ευθεία με κλίση $-E_A/R$ (Σχήμα 1.1) ή με γραμμική προσαρμογή των δεδομένων στην εξίσωση (1.14).

Με την εφαρμογή αριθμητικών μεθόδων προσαρμογής (στατιστική ανάλυση) προσδιορίζονται οι παράμετροι της σχέσης Arrhenius με ακρίβεια 95%. Όταν υπάρχουν τρεις μόνο τιμές του k , το διάστημα εμπιστοσύνης είναι συνήθως πολύ μεγάλο. Προκειμένου να ληφθούν αξιόπιστες εκτιμήσεις των E_A και k_A , απαιτούνται δεδομένα σε περισσότερες θερμοκρασίες. Μία εκτίμηση του βέλτιστου αριθμού πειραμάτων που δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα ήταν 5 ή 6 θερμοκρασίες (Lenz and Lund, 1980). Όταν τα πειραματικά σημεία περιορίζονται σε τρεις μόνο θερμοκρασίες, τότε μόνο με γραμμική προσαρμογή ή με τη μέθοδο σημείου προς σημείο (point by point), μπορεί να υπολογιστούν οι παράμετροι της σχέσης του Arrhenius με μικρότερα διαστήματα εμπιστοσύνης (Labuza and Kamman, 1983).

1.5.1.2 Αποκλίσεις από τη συμπεριφορά Arrhenius

Παρόλο που η σχέση του Arrhenius ισχύει για τις περισσότερες των περιπτώσεων, πολλές φορές υπάρχουν παράγοντες που έχουν σχέση με το τρόφιμο ή με τις αντιδράσεις αλλοίωσής του, οι οποίοι μπορεί να επιφέρουν σημαντικές αποκλίσεις από τη συμπεριφορά κατά Arrhenius (Labuza and Riboh, 1982). Οι αποκλίσεις αυτές προέρχονται από την επίδραση της θερμοκρασίας στις συνθήκες των αντιδράσεων που θεωρούνταν σταθερές καθώς και από μεταβολές στη φυσική κατάσταση του τροφίμου π.χ. στα κατεψυγμένα τρόφιμα στην περιοχή απόψυξης-κατάψυξης, αλλαγή στην κρυσταλλική δομή των υδατανθράκων, ρευστοποίηση λιπαρών κ.λ.π. Οι αποκλίσεις Arrhenius απεικονίζονται στο σχήμα 1.1.

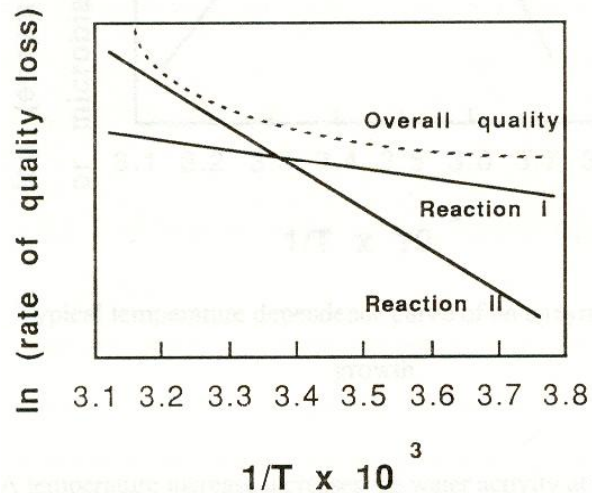


Σχήμα 1.1: Αποκλίσεις από τη συμπεριφορά κατά Arrhenius για κατεψυγμένα τρόφιμα

Σε ορισμένες περιπτώσεις, η ποιότητα του τροφίμου επηρεάζεται από περισσότερες από μία αντιδράσεις. Όταν αυτές οι αντιδράσεις (π.χ. μη ενζυμικό μαύρισμα, αυτοξείδωση λιπαρών) έχουν διαφορετική θερμοκρασιακή συμπεριφορά (διαφορετική E_A), επηρεάζουν την ολική ποιότητα ανάλογα με το θερμοκρασιακό εύρος σε άλλο βαθμό, με αποτέλεσμα η συνάρτηση της τελευταίας με τη θερμοκρασία να αποκλίνει από τη σχέση Arrhenius. Για παράδειγμα, αν η ποιότητα του τροφίμου εξαρτάται από δύο κυρίως αντιδράσεις τότε η γραφική απεικόνιση

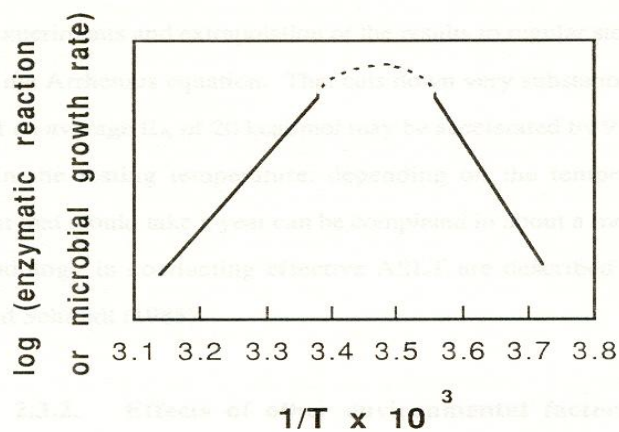
Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων

της μεταβολής της με το $1/T$ θα έχει διαφορετική κλίση σε κάθε μία από τις διαφορετικές θερμοκρασιακές περιοχές, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1.2. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιας συμπεριφοράς είναι η απώλεια ποιότητας των αφυδατωμένων νιφάδων πουρέ πατάτας, όπου η οξείδωση των λιπαρών και η απώλεια των λιποδιαλυτών βιταμινών κυριαρχούν ως θερμοκρασία των 31°C , ενώ πάνω από αυτή κυριαρχεί το μη ενζυμικό μαύρισμα και η απώλεια λυσίνης (Labuza, 1982).



Σχήμα 1.2: Τυπική θερμοκρασιακή εξάρτηση του ρυθμού απώλειας της ποιότητας τροφίμου όταν αυτή επηρεάζεται από δύο αντιδράσεις με διαφορετική E_A .

Στις ενζυμικές και μικροβιολογικές αντιδράσεις, ο ρυθμός των αντιδράσεων παρουσιάζει θερμοκρασιακό μέγιστο κάτω και άνω του οποίου ακολουθείται συμπεριφορά Arrhenius (Σχήμα 1.3).



Σχήμα 1.3: Τυπική καμπύλη της θερμοκρασιακής εξάρτησης του ρυθμού σε ενζυμικές και μικροβιολογικές αντιδράσεις.

1.5.1.3 Δραστική θερμοκρασία (T_{eff})

Η μεταβολή της συνάρτησης ποιότητας κατά τη διάρκεια έκθεσης σε γνωστή μεταβαλλόμενη θερμοκρασία, $T(t)$, μπορεί να υπολογιστεί με αντικατάσταση της σταθεράς ρυθμού από την έκφραση της θερμοκρασιακής της εξάρτησης και ολοκλήρωση της εξίσωσης. Έτσι, σε χρόνο t θα έχουμε:

$$f(A)_t = \int_0^t k dt = k_A \int_0^t \exp\left(-\frac{E_A}{RT(t)}\right) dt \quad (1.17)$$

Ένας άλλος τρόπος έκφρασης της τιμής του $f(A)_t$ είναι συναρτήσει της δραστικής θερμοκρασίας.

Ως **δραστική θερμοκρασία**, T_{eff} ορίζεται η σταθερή θερμοκρασία έκθεσης στην οποία, για το ίδιο χρονικό διάστημα, η μεταβολή της ποιότητας είναι η ίδια με τη μεταβολή της ποιότητας στις συνθήκες της μεταβαλλόμενης θερμοκρασίας $T(t)$.

Οπότε η σχέση (1.17) γίνεται:

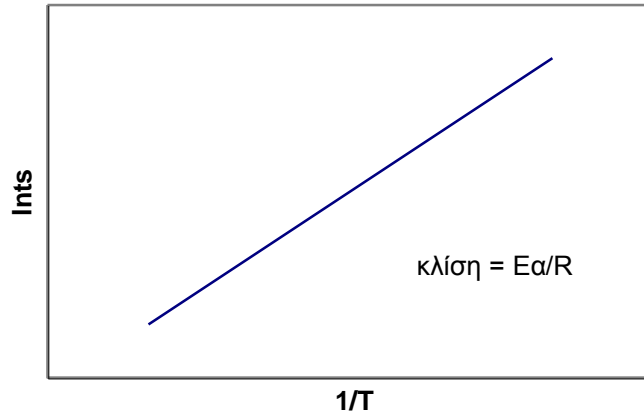
$$f(A)_t = k_A \cdot \exp\left(-\frac{E_A}{R \cdot T_{\text{eff}}}\right) \cdot t \Rightarrow T_{\text{eff}} = -\frac{E_A}{R \cdot \ln\left(\frac{f(A)_t}{k_A \cdot t}\right)} \quad (1.18)$$

Η δραστική θερμοκρασία είναι μία πολύ σημαντική έννοια η οποία πρακτικά αντικαθιστά μία κατανομή θερμοκρασίας $T(t)$ με μία μόνο τιμή. Η χρησιμότητά της γίνεται περισσότερο αντιληπτή στις επόμενες ενότητες. Πρέπει να τονιστεί ότι η T_{eff} δεν είναι ίση με τη μέση θερμοκρασία T_m , όπου :

$$T_m = \frac{1}{t} \int_0^t T(t) dt \quad (1.19)$$

1.5.1.4 Απλό ή λογαριθμικό μοντέλο διατηρησιμότητας

Για έναν δεδομένο βαθμό αλλοίωσης, ο οποίος μεταφράζεται σε τιμή της συνάρτησης ποιότητας, η σταθερά ρυθμού είναι αντιστρόφως ανάλογη του χρόνου που απαιτείται για την επίτευξη συγκεκριμένου βαθμού ποιοτικής υποβάθμισης. Το ίδιο ισχύει και για το t_s , τον χρόνο στον οποίο η ποιότητα φτάνει σε μη αποδεκτά επίπεδα ή αλλιώς τη διάρκεια ζωής του τροφίμου. Έτσι, η γραφική απεικόνιση του λογάριθμου της διάρκειας ζωής ($\ln t_s$) ως προς $1/T$ θα δώσει μία ευθεία γραμμή με κλίση ίση με E_A/R , όπως φαίνεται στο σχήμα 1.4.



Σχήμα 1.4: Γραφική απεικόνιση του λογαρίθμου της διάρκειας ζωής ως προς το αντίστροφο της απόλυτης θερμοκρασίας

1.5.1.5 Μοντέλο Q_{10}

Ένας άλλος τρόπος έκφρασης της επίδρασης της θερμοκρασίας στη διατηρησιμότητα, πολύ συνήθης στην παλαιότερη βιβλιογραφία και βιομηχανία τροφίμων, είναι ο όρος Q_{10} . Ο παράγοντας Q_{10} ορίζεται ως ο λόγος των σταθερών του ρυθμού αντίδρασης σε δύο θερμοκρασίες που διαφέρουν κατά 10 βαθμούς K ή $^{\circ}\text{C}$. Το Q_{10} εναλλακτικά ορίζεται και ως η μεταβολή στη διάρκεια ζωής θ_s ενός προϊόντος (ο χρόνος στον οποίο οι δείκτες ποιότητας A και B φτάνουν σε μη αποδεκτά όρια), όταν το τρόφιμο αποθηκεύεται σε θερμοκρασία κατά 10 βαθμούς υψηλότερη. Η εξίσωση είναι:

$$Q_{10} = \frac{k(T+10)}{k(T)} = \frac{\theta_s(T)}{\theta_s(T+10)} \quad (1.20)$$

Το Q_{10} εισάγει την παρακάτω εξίσωση εξάρτησης της θερμοκρασίας:

$$k(T) = k_0 e^{bT} \quad (1.21\alpha)$$

$$\text{ή } \ln k = \ln k_0 + bT \quad (1.21\beta)$$

από την οποία συμπεραίνεται ότι αν απεικονιστεί γραφικά το $\ln k$ με τη θερμοκρασία T (σε αντίθεση με το $1/T$ στην εξίσωση του Arrhenius) προκύπτει ευθεία. Το ίδιο ισχύει και για το $\ln \theta_s$ με τη θερμοκρασία T . Αυτές οι γραφικές παραστάσεις ονομάζονται διαγράμματα διάρκειας ζωής (shelf life plot), όπου το b είναι η κλίση της ευθείας και $\ln k_0$ η αποτέμνουσα.

Οι παραπάνω απεικονίσεις αντιπροσωπεύουν την πραγματικότητα μόνο για στενές θερμοκρασιακές περιοχές 10 έως 20°C (Labuza, 1982). Το Q_{10} και το b συσχετίζονται με την ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης που καθορίζει την ποιοτική υποβάθμιση του τροφίμου από την παρακάτω σχέση:

$$\ln Q_{10} = 10b = \frac{E_A}{R} \cdot \frac{10}{T \cdot (T+10)} \quad (1.22)$$

Η εξάρτηση του Q_{10} από τη θερμοκρασία γίνεται πιο έντονη όσο πιο μεγάλη είναι η ευαισθησία της αντίδρασης ως προς τη θερμοκρασία.

1.5.2 Επίδραση της ενεργότητας του νερού (a_w)

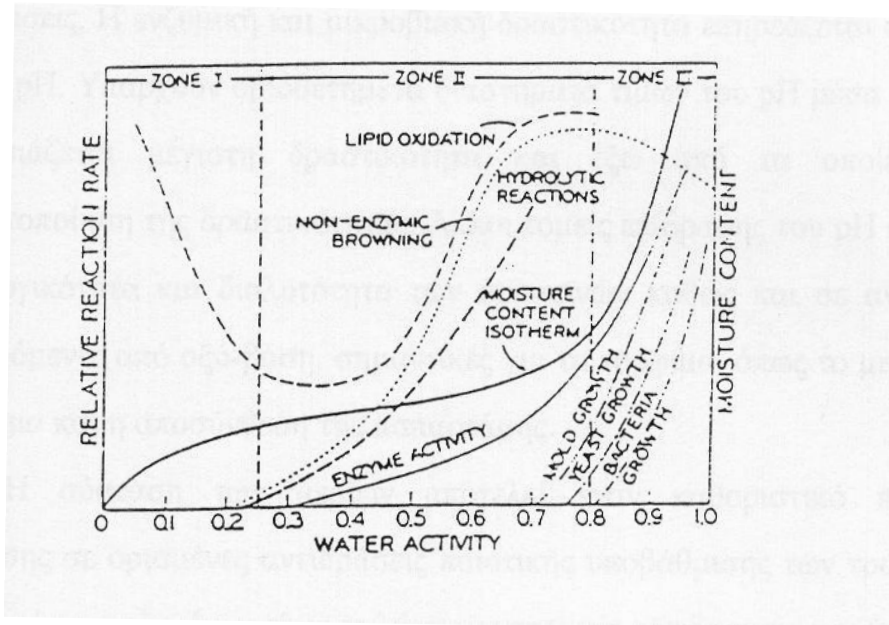
Εκτός από τη θερμοκρασία, η περιεχόμενη υγρασία και η ενεργότητα νερού (a_w) είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό των αντιδράσεων που καθορίζουν την ποιοτική υποβάθμιση των τροφίμων. Η ενεργότητα του νερού περιγράφει το πόσο ισχυρά δεσμευμένο είναι το περιεχόμενο νερό στο τρόφιμο και το βαθμό "διαθεσιμότητας" του νερού να δρα ως διαλύτης και να συμμετέχει σε χημικές αντιδράσεις (Labuza, 1980).

Υπάρχουν ορισμένα κρίσιμα όρια του a_w πάνω από τα οποία παρατηρούνται ανεπιθύμητες μεταβολές στα τρόφιμα σε σχέση με την ασφάλεια και την ποιότητά τους. Ο έλεγχος του a_w αποτελεί βασικό παράγοντα για τη διατήρηση των ξηρών και μέσης υγρασίας τροφίμων (IMF, Intermediate Moisture Foods). Επίσης, μπορούν να οριστούν ελάχιστες τιμές a_w για την ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών. Το κρίσιμο όριο παθογένεσης στα τρόφιμα ορίζεται για ενεργότητα a_w 0.84-0.85 (το πιο ανθεκτικό παθογόνο βακτήριο είναι το *Staphylococcus aureus*) (Taoukis et al., 1988).

Η υφή του τροφίμου επηρεάζεται επίσης σημαντικά από την περιεχόμενη υγρασία και την ενεργότητα του νερού a_w . Τα ξηρά και τραγανά τρόφιμα (τσίπες, κράκερς) χάνουν το κύριο χαρακτηριστικό της υφής τους, την τραγανότητά τους, όταν αυξάνεται η περιεχόμενη υγρασία τους συνήθως σε διάστημα a_w από 0.35 έως 0.5 (Katz and Labuza, 1981). Τρόφιμα μέσης υγρασίας, όπως αποξηραμένα φρούτα και προϊόντα αρτοποιίας και ζαχαροπλαστικής, χάνοντας υγρασία σε διάστημα a_w μεταξύ 0.5 - 0.7, γίνονται πολύ σκληρά.

Ένα άλλο σημαντικό πρόβλημα, σχετικό με την ενεργότητα νερού a_w , είναι το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης. Εμφανίζεται στα τρόφιμα που περιέχουν άμορφα σάκχαρα όταν η a_w αυξάνει πάνω από 0.35 με 0.40, οπότε τα άμορφα σάκχαρα ανακρυσταλλώνονται απελευθερώνοντας νερό με επιπτώσεις στην ποιότητα και την υφή του τροφίμου (Labuza and Contreras-Medellin, 1981).

Εκτός από τα κρίσιμα όρια της a_w , η ενεργότητα του νερού επιδρά και στις χημικές αντιδράσεις. Η επίδραση αυτή παίζει καθοριστικό ρόλο στη διατηρησιμότητα των ξηρών και μέσης υγρασίας τροφίμων. Γενικά, η ιδιότητα του νερού να συμπεριφέρεται ως διαλύτης αλλά και να παίρνει μέρος σε διάφορα χημικά φαινόμενα, αυξάνεται αυξανόμενης της τιμής της a_w . Σαν αποτέλεσμα, έχουμε την εκθετική αύξηση του ρυθμού πολλών αντιδράσεων αλλοίωσης των τροφίμων όσο αυξάνεται η a_w πάνω από την τιμή που αντιστοιχεί στο μονομοριακό στρώμα νερού. Τα παραπάνω παρουσιάζονται σχηματικά στο παρακάτω διάγραμμα σταθερότητας (Σχήμα 1.5).



Σχήμα 1.5: Ολικός χάρτης σταθερότητας των τροφίμων (Labuza et al., 1969)

1.5.3 Η επίδραση του pH

Η επίδραση του pH έχει μελετηθεί για διάφορα συστήματα τροφίμων και αντιδράσεις. Η ενζυμική και μικροβιακή δραστηριότητα επηρεάζεται σημαντικά από το pH. Υπάρχουν οριοθετημένα διαστήματα τιμών του pH μέσα στα οποία παρουσιάζεται μέγιστη δραστηριότητα και έξω από τα οποία έχουμε ελαχιστοποίηση της δραστηριότητας. Άλλοι τομείς επίδρασης του pH είναι στη λειτουργικότητα και διαλυτότητα των πρωτεϊνών καθώς και σε αντιδράσεις καταλυόμενες από οξύ-βάση, σημαντικές για τα τρόφιμα, όπως το μη ενζυμικό μαύρισμα και η αποσύνθεση της ασπαρτάμης.

1.5.4 Η επίδραση των αερίων

Η σύσταση των αερίων αποτελεί έναν καθοριστικό παράγοντα επίδρασης σε ορισμένες αντιδράσεις ποιοτικής υποβάθμισης των τροφίμων. Η διαθεσιμότητα οξυγόνου είναι πολύ σημαντική για οξειδωτικές αντιδράσεις και μπορεί να επηρεάσει το ρυθμό και τη φαινόμενη τάξη αντίδρασης. Η συσκευασία κενού βασίζεται στη μείωση της ταχύτητας ανεπιθύμητων αντιδράσεων με περιορισμό του διαθέσιμου O_2 . Επιπλέον, η παρουσία άλλων αερίων, ειδικότερα του διοξειδίου του άνθρακα, επηρεάζει σημαντικά βιολογικές και μικροβιολογικές αντιδράσεις στο φρέσκο κρέας, ψάρια, φρούτα και λαχανικά. Άλλα σημαντικά αέρια είναι το αιθυλένιο και το μονοξείδιο του άνθρακα. Πολλές επιτυχημένες εφαρμογές πάνω στη συσκευασία ελεγχόμενης (CAP) και τροποποιημένης (MAP) ατμόσφαιρας βασίζονται στην παραπάνω γνώση. Κινητικά μοντέλα συστημάτων CAP/MAP έχουν εξεταστεί από τους Labuza, Fu and Taoukis (1992).

1.5.5 Η επίδραση της πίεσης

Η μεταβολή της πίεσης στα συστήματα τροφίμων επηρεάζει διάφορα συστατικά τους όπως το νερό, τις πρωτεΐνες, τα λίπη, τα ένζυμα καθώς και μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε αυτά. Μία από τις πιο σύγχρονες τεχνολογίες παραγωγής και συντήρησης τροφίμων η οποία στηρίζεται στην άσκηση υδροστατικών πιέσεων στα τρόφιμα είναι η διεργασία της υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης (ΥΥΠ). Με την υπερυψηλή υδροστατική πίεση επιτυγχάνεται μείωση του μικροβιακού φορτίου και της ενζυμικής δραστηριότητας, καθώς και μείωση της αλλοίωσης των θρεπτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών.

1.5.6 Μηχανική καταπόνηση

Η μηχανική καταπόνηση προκαλεί μηχανικές φθορές στα τρόφιμα, όπως μώλωπες, θρυμματισμό, ράγισμα ή την πλήρη καταστροφή ευπαθών τροφίμων ή της συσκευασίας που τα περιβάλλει (Μπλούκας 2004).

1.5.7 Η επίδραση του φωτός

Το φως καταλύει και επιταχύνει διάφορες ανεπιθύμητες αντιδράσεις στα τρόφιμα. Για παράδειγμα την οξειδωση των λιπαρών που οδηγεί σε οξειδωτικό ταγγισμό, την οξειδωση του γάλακτος προς σχηματισμό δύσοσμων μερκαπτανών, τις αντιδράσεις αλλοίωσης διάφορων χρωστικών ουσιών, τις αντιδράσεις ορισμένων βιταμινών (ριβοφλαβίνη, βιταμίνη C) που οδηγούν σε απώλεια της αξίας τους, κ.τ.λ. Η καταλυτική επίδραση του φωτός είναι γενικά εντονότερη όσο χαμηλότερο το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, δηλαδή στην περιοχή του υπεριώδους και στα χαμηλότερα μήκη κύματος του ορατού φάσματος.

1.6 Υποβάθμιση της ποιότητας της ψυγμένων τροφίμων – Διαχείριση και έλεγχος της ψυκτικής αλυσίδας

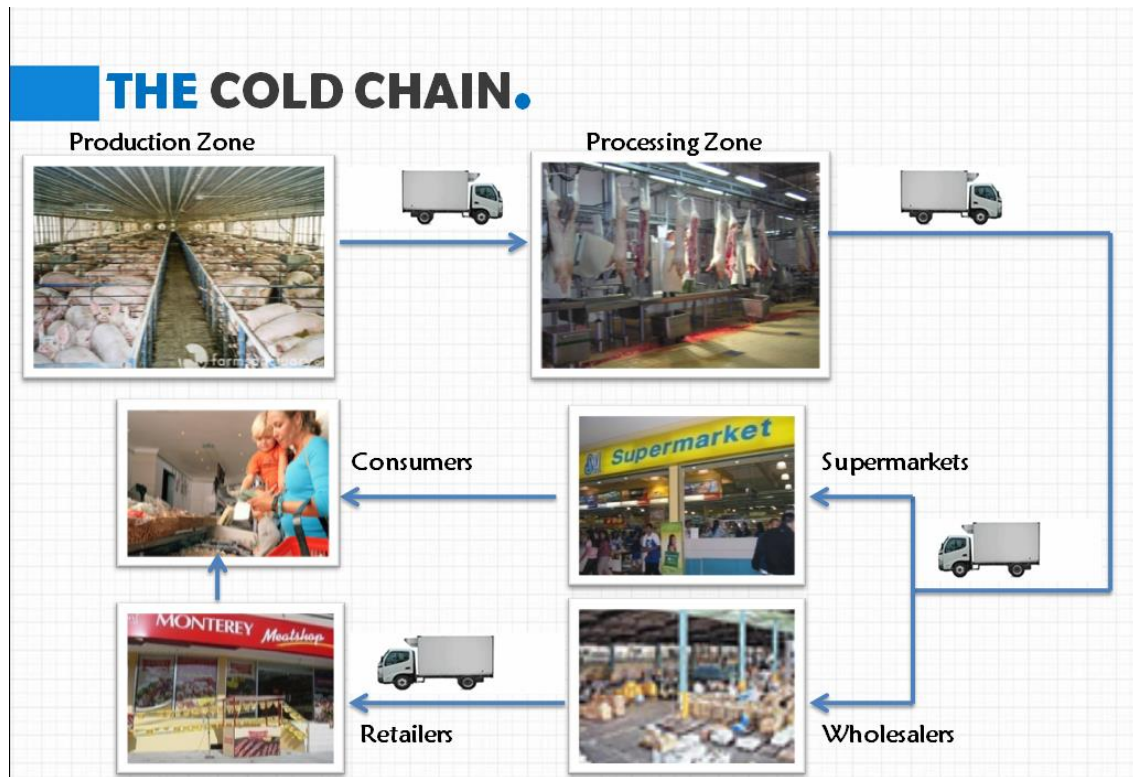
Η σύγχρονη διασφάλιση ποιότητας και ασφάλειας των τροφίμων βασίζεται στην ανάπτυξη και εφαρμογή συστημάτων διαχείρισης με τον καθορισμό, καταγραφή και έλεγχο των κρίσιμων παραμέτρων των τροφίμων σε όλο το κύκλο ζωής τους από την παραγωγή ως την τελική χρήση τους. Η ορθή εφαρμογή τέτοιων συστημάτων σε συνδυασμό με την βέλτιστη συσκευασία είναι προϋπόθεση για την επίτευξη μιας αυξημένης διατηρησιμότητας, απαραίτητη για την εμπορική βιωσιμότητα των τροφίμων. Νέα υλικά και τεχνικές, όπως η συσκευασία υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) προσφέρουν νέες δυνατότητες βελτίωσης και επιμήκυνσης της διάρκειας ζωής.

Παρά ταύτα, το τελευταίο στάδιο, η ψυκτική αλυσίδα των τροφίμων, εξακολουθεί να χαρακτηρίζεται από απώλειες ποιότητας κυρίως λόγω σημαντικών αποκλίσεων από τις προδιαγραφές θερμοκρασίας όταν τα προϊόντα φύγουν από την άμεση επίβλεψη που είναι εφικτή στη μονάδα παραγωγής. (Ταούκης, 2010)

Η αλυσίδα των τροφίμων περιλαμβάνει την πρωτογενή παραγωγή (αγρότες και κτηνοτρόφοι), τη δευτερογενή παραγωγή (βιομηχανία τροφίμων), τη διακίνηση και εμπορία

Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων

(χονδρέμποροι), τη λιανική πώληση (υπεραγορές), αλλά και τον χειρισμό στην οικιακή κουζίνα (καταναλωτής) (Σχήμα 1.6).

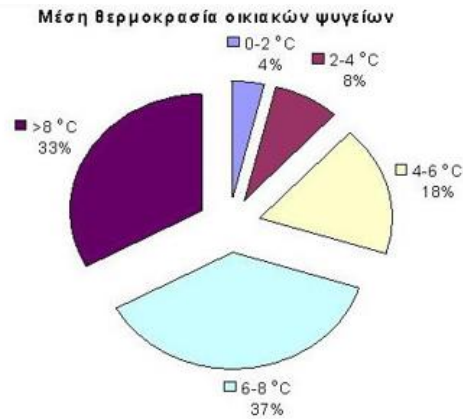


Σχήμα 1.6: Παράδειγμα ψυκτικής αλυσίδας προϊόντων κρέατος

Θα πρέπει να τονιστεί ότι ο επιμερισμός των ευθυνών στα διάφορα στάδια της αλυσίδας τροφίμων δεν είναι ισομερής, αλλά εξαρτάται από το πόσο σημαντικό είναι ένα στάδιο για την ασφάλεια του συγκεκριμένου τροφίμου, αλλά και από το πόσο σωστά εφαρμόζονται οι διαδικασίες στο στάδιο αυτό.

Για να γίνει αυτό περισσότερο κατανοητό, παραθέτονται τα αποτελέσματα που βρέθηκαν από μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Τομέα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Α.Π.Θ. και στην οποία έγινε λεπτομερή χαρτογράφηση της ελληνικής αλυσίδας τροφίμων με τη συλλογή δεδομένων σχετικά με την παρουσία και τη συγκέντρωση του παθογόνου στα υπό εξέταση προϊόντα κατά την παραγωγή, καθώς και τις συνθήκες συντήρησης (κυρίως χρόνο-θερμοκρασιακές) κατά τη μεταφορά και συντήρηση στα σημεία πώλησης και στα οικιακά ψυγεία. Η μελέτη της θερμοκρασίας των ψυγείων λιανικής πώλησης (50 ψυγεία σε αλυσίδα υπεραγορών) έδειξε μέση θερμοκρασία 3.5°C με σημαντικές, εντούτοις, αυξομειώσεις της θερμοκρασίας που οφείλονται στο σύστημα απόψυξης των ψυγείων λιανικής πώλησης (Σχήμα 1.7). Η θερμοκρασία στα οικιακά ψυγεία παρέκλινε σημαντικά από το συνιστώμενο εύρος τιμών (100 ψυγεία). 33% των ψυγείων είχαν μέση θερμοκρασία μεγαλύτερη από 8°C, ενώ στο 70% των ψυγείων η θερμοκρασία ξεπερνούσε τους 6°C. Σε ορισμένες θέσεις, η θερμοκρασία ξεπερνούσε τους 15°C (Σχήμα 1.8). (Κουτσουμανής, 2006)

Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων



Σχήμα 1.7: Μέση θερμοκρασία ψυγείων λιανικής πώλησης για προϊόντα κρέατος

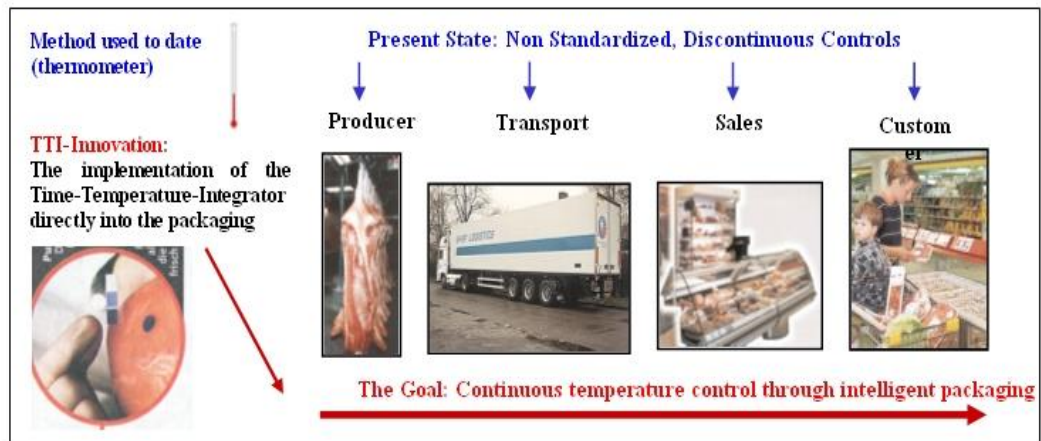


Σχήμα 1.8: Μέση θερμοκρασία οικιακών ψυγείων

Έτσι λοιπόν, γίνεται αντιληπτό ότι η ημερομηνία ανάλωσης που αναγράφεται στην ετικέτα των τροφίμων δίνει συνήθως μια ενδιάμεση ένδειξη, με αποτέλεσμα να έχουμε σε περιπτώσεις κακής συντήρησης, προϊόντα που είναι μη αποδεκτά πριν από την αναγραφόμενη ημερομηνία ανάλωσής τους και στις περιπτώσεις ορθής συντήρησης απόρριψη καλών προϊόντων λόγω «λήξης» τους.

Πρακτική λύση θα αποτελούσε η «έξυπνη συσκευασία» που επιτρέπει την παρακολούθηση του ιστορικού ποιότητας του κάθε προϊόντος και με βάση αυτό τη βελτίωση της διαχείρισής του στην ψυκτική αλυσίδα. Η έξυπνη συσκευασία φέρει ενσωματωμένους δείκτες ποιότητας, έμμεσους ή άμεσους. Οι **Χρονο-θερμοκρασιακοί Δείκτες ή Ολοκληρωτές ΤΠΙ** (ΤΠΙ = Time Temperature Indicators or Indegrators) είναι ένα πρωτοποριακό σύστημα επισήμανσης των τροφίμων. Έχουν τη μορφή μιας «ζωντανής», χαμηλού κόστους αυτοκόλλητης ετικέτας ή αποτελούν μέρος της ίδιας της συσκευασίας του τροφίμου. Οι ΤΠΙ επιτρέπουν τον έλεγχο ενδεχόμενης κακομεταχείρισης του προϊόντος όσον αφορά τη θερμοκρασία συντήρησης, η οποία όπως προαναφέρθηκε αποτελεί και τον σημαντικότερο παράγοντα που καθορίζει την ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων. Είναι «χημικά» ενεργοί και δείχνουν μια εύκολα μετρήσιμη, συσσωρευτική χρωματική αλλαγή. Η αλλαγή αυτή λ.χ. από πράσινο σε κόκκινο, επιταχύνεται όταν η θερμοκρασία συντήρησης αυξάνει, με τρόπο που να μιμείται τη συμπεριφορά και τη σταδιακή απώλεια ποιότητας του τροφίμου που συνοδεύουν. Έτσι, οι δείκτες ΤΠΙ παρακολουθούν το χρονοθερμοκρασιακό ιστορικό των τροφίμων, σε όλη τη διάρκεια της πορείας τους από το σημείο παραγωγής, τις ενδιάμεσες φάσεις διανομής μέχρι τον τελικό καταναλωτή και μπορούν να χρησιμοποιηθούν επικουρικά της ημερομηνίας ανάλωσης, ως «ζωντανή» ημερομηνία λήξης (Ταούκης, 2010). Ο ρόλος των ΤΠΙ στη βελτίωση του συστήματος διασφάλισης της ποιότητας των τροφίμων παρουσιάζεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 3. Αντίστοιχα, οι άμεσοι δείκτες ποιότητας είναι χημικά ή ενζυμικά συστήματα που ανταποκρίνονται, χρωματικά ή με κάποιον άλλο ανιχνεύσιμο τρόπο, σε μεταβολίτες ή άλλους χημικούς δείκτες αλλοίωσης που παράγονται κατά την σταδιακή ποιοτική υποβάθμιση του τροφίμου (Smolander, 2008).

Κεφάλαιο 1: Ποιότητα τροφίμων



Σχήμα 1.9: Η χρήση των ΤΠΙ στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος

2.1 Εισαγωγή

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων, με τον όρο «κρέας» χαρακτηρίζονται τα αυτοτελή σώματα ή τμήματα σωμάτων των θερμόαιμων ζώων και πτηνών, που είναι κατάλληλα για τη διατροφή του ανθρώπου και διατίθενται στην κατανάλωση όπως έχουν, χωρίς καμία επεξεργασία εκτός από την ψύξη.

Η ποιότητα του κρέατος εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, εκ των οποίων οι κυριότεροι είναι οι εξής:

- Το είδος
- Η ηλικία
- Η διατροφή
- Η φυσική άσκηση
- Η κατάσταση του ζώου κατά τη θανάτωσή του, καθώς και ο τρόπος με τον οποίο γίνεται αυτή

Το κρέας και τα προϊόντα του προτιμώνται από τους καταναλωτές έναντι άλλων τροφίμων για τη γευστικότητα και τη θρεπτική τους αξία. Επίσης, το κρέας είναι από τα λίγα τρόφιμα που μπορούν να ικανοποιήσουν τόσο γρήγορα και αποτελεσματικά το αίσθημα της πείνας και τις γευστικές απαιτήσεις του ανθρώπου. Αποτελεί εξαιρετική πηγή πρωτεϊνών υψηλής βιολογικής αξίας, περιέχει σίδηρο και ψευδάργυρο, που είναι εύκολα αφομοιώσιμα από τον ανθρώπινο οργανισμό, και βιταμίνες του συμπλέγματος Β, ενώ είναι μια από τις λίγες αξιόλογες πηγές βιταμίνης Β₁₂. Τέλος, περιέχει ουσίες, όπως το συζευγμένο λινελαϊκό οξύ και άλλα συστατικά που φέρονται να έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου.

Το κρέας είναι ένα από τα πλέον ευαλλοίωτα τρόφιμα. Τυπικά χαρακτηριστικά της αλλοίωσης είναι η υποβάθμιση του αρώματος από το χαρακτηριστικό φρέσκο άρωμα σε ένα δυσάρεστο, όπως και η εμφάνιση γλοιώδους υφής στην επιφάνεια του κρέατος. Ως σημείο της αλλοίωσης ορίζεται το ανώτατο αποδεκτό επίπεδο μικροοργανισμών καθώς και το σημείο μέχρι να εμφανιστούν μη αποδεκτές οσμές και γεύσεις. Γενικά η διάρκεια ζωής του κρέατος είναι ο χρόνος αποθήκευσης μέχρι την αλλοίωσή του.

Ένα αλλοιωμένο τρόφιμο δεν σημαίνει απαραίτητα ότι είναι μη ασφαλές τρόφιμο. Όμως, η αλλοίωση των τροφίμων είναι εξαιρετικής σημασίας λόγω της απώλειας των προϊόντων, των οικονομικών απωλειών και της έλλειψης εμπιστοσύνης που προκαλείται στους καταναλωτές,

καθώς είναι γνωστό ότι το ¼ της παγκόσμιας παραγωγής τροφίμων απορρίπτεται εξαιτίας της μικροβιακής δραστηριότητας (Παπαδοπούλου, 2013).

2.2 Σύσταση του κρέατος

Η χημική σύσταση του κρέατος ποικίλει και εξαρτάται από το είδος, το φύλο και την ηλικία του ζώου, το είδος της διατροφής του, τη μεταχείριση του ζώου πριν και κατά τη σφαγή, τη διάρκεια και τη θερμοκρασία ωρίμανσης και συντήρησης του κρέατος. Η χημική σύνθεση ενός μύος ενηλικιωμένου θηλαστικού μετά τη νεκρική ακαμψία παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Χημική σύσταση κρέατος μετά το τέλος της νεκρικής ακαμψίας (%) (Garcia-Lopez, 1998)

Συστατικά	% βάρος
Νερό	75.0
Πρωτεΐνες	19.0
Ινώδης	11.5
Σαρκοπλασματικές	5.50
Συνδετικός ιστός	2.0
Λίπος	2.50
Υδατάνθρακες και γαλακτικό οξύ	1.20
Γαλακτικό οξύ	0.90
Γλυκόζη 6-P	0.15
Γλυκογόνο	0.10
Γλυκόζη και ενδιάμεσα γλυκολιτικής οδού	0.05
Διαλυτά μη πρωτεϊνούχα συστατικά:	2.30
Άζωτο	1.65
Κρεατίνη	0.55
Ίνωσίνη	0.30
ATP, AMP	0.10
Αμινοξέα	0.35
Καρνοσίνη, ανσερίνη	0.35
Ανόργανα	0.65
Ολικός διαλυτός φώσφορος	0.20
Κάλιο	0.35
Νάτριο	0.05
Μαγνήσιο	0.02
Άλλα μέταλλα	0.23
Βιταμίνες	Ίχνη

Το κρέας αποτελείται κυρίως από νερό, πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες. Βιταμίνες, ένζυμα ή χρωστικές αποτελούν δευτερεύοντα συστατικά εξαιτίας της υψηλής ενεργότητας του νερού (a_w) και της αφθονίας σε θρεπτικά συστατικά. Το κρέας συνιστά ένα εξαιρετικό μέσο για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών, δεδομένου ότι οι

αλλαγές που συμβαίνουν κατά την αλλοίωση λαμβάνουν χώρα στην υδατική φάση του κρέατος. Αυτές οι ουσίες καταβολίζονται από όλους σχεδόν τους μικροοργανισμούς και καθιστούν το κρέας ιδιαίτερα ευπαθές και ευαλλοίωτο προϊόν (Argyri 2010a, Drosinos and Board, 1995, Nychas et al., 2007)

2.3 Μεταθανάτιες (post-mortem) μεταβολές κρέατος

Από τη στιγμή που το ζώο πεθαίνει μέχρι να καταναλωθεί ως τρόφιμο, λαμβάνει χώρα στους μύες μια σειρά βιοχημικών μεταβολών. Οι φυσιολογικές μεταθανάτιες αυτές μεταβολές (*post mortem*), οι οποίες έχουν ιδιαίτερη σημασία για την τεχνολογία και τη διαμόρφωση της ποιότητας του κρέατος, μπορούν να διακριθούν σε τρεις φάσεις: το στάδιο πριν τη νεκρική ακαμψία, τη νεκρική ακαμψία (*rigor mortis*) και το στάδιο μετά τη νεκρική ακαμψία του κρέατος (ωρίμανση).

Όταν το ζώο είναι ακόμα εν ζωή, οι ιστοί και τα επιμέρους κύτταρα προσπαθούν να διατηρήσουν την οργάνωσή τους, αντλώντας ενέργεια από το περιβάλλον. Η απαραίτητη αυτή ενέργεια προέρχεται από την οξείδωση των αποθηκευτικών μορίων και πιο συγκεκριμένα των υδατανθράκων και των λιπών, μέσω των μηχανισμών της γλυκόλυσης, της β-οξείδωσης των λιπαρών οξέων, του κύκλου του Krebs και της αναπνευστικής αλυσίδας. Η λειτουργία όλου του συστήματος απαιτεί αερόβιες συνθήκες. Το ATP που παράγεται από τους μηχανισμούς αυτούς είναι απαραίτητο για τη κίνηση του μυ, καθώς εμποδίζει το σχηματισμό του συμπλόκου της ακτινομουσίνης, διατηρώντας τους μύες σε κατάσταση ηρεμίας. Η συστολή του μυός επέρχεται μόνο με την υδρόλυση του ATP σε ADP. Σε περιπτώσεις έντονης μυϊκής δραστηριότητας το οξυγόνο δεν επαρκεί για την πλήρη οξείδωση των αποθηκευτικών μορίων μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας, με αποτέλεσμα ο οργανισμός να καταφεύγει στην αναερόβια γλυκόλυση. Στην περίπτωση αυτή, το πυροσταφυλικό οξύ, το οποίο παράγεται κατά την γλυκόλυση μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ, μέσω του ενζύμου γαλακτικής αφυδρογονάσης. Κατά την αναερόβια γλυκόλυση, η παραγωγή του ATP είναι σημαντικά μικρότερη (2 ή 3 mole ATP/mole γλυκόζης) σε σχέση με τις ποσότητες που παράγονται στην αερόβια γλυκόλυση (36 ή 37 mole ATP/mole γλυκόζης) (Τσακαλίδου, 2001; Γεωργάκης, 2005).

Μετά τη σφαγή, οι ιστοί συνεχίζουν την μεταβολική τους δραστηριότητα. Λόγω της παύσης της αιματικής κυκλοφορίας και της απομάκρυνσης του αίματος (αφαίμαξη), η παροχή του οξυγόνου στους μύες μειώνεται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του μηχανισμού της αναπνευστικής αλυσίδας (σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων) και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (δέσμευση της ενέργειας που παράγεται κατά την αερόβια γλυκόλυση), γεγονός που οδηγεί στην αδυναμία ανασύνθεσης του ATP από τους μηχανισμούς αυτούς και στη διέγερση της αναερόβιας γλυκόλυσης. Κατά την αναερόβια γλυκόλυση, η γλυκόζη που παράγεται από τη διάσπαση του γλυκογόνου, μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ. Λόγω της κατάρρευσης του αιμοποιητικού συστήματος, το παραγόμενο γαλακτικό οξύ δεν μπορεί να

Κεφάλαιο 2: Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος

απομακρυνθεί, γεγονός που οδηγεί στην πτώση του pH και την οξίνιση του μυ. Η τελική τιμή του pH ποικίλει και εξαρτάται από το είδος του μυ καθώς και το είδος και τη φυσική κατάσταση του ζώου πριν τη σφαγή. Έτσι, έχει βρεθεί ότι σε κάποιους μύες που προέρχονται από χοίρους, το τελικό pH μπορεί να είναι πιο κοντά στο 6. Επίσης, σε κρέας το οποίο προέρχεται από ξεκούραστο ζώο με καλή διατροφή πριν τη σφαγή, η αρχική τιμή του pH, που κυμαίνεται από περίπου 7.2-7.4, φτάνει σε τελική τιμή 5.3-5.5. Στην περίπτωση, όμως, που το ζώο έχει υποβληθεί σε συνθήκες stress πριν τη σφαγή (έχει υποστεί έντονη σωματική καταπόνηση, νηστεία ή έχει υποβληθεί σε πολύ χαμηλές ή υψηλές θερμοκρασίες ή έχει φοβηθεί), το pH φτάνει στη τιμή 6-6.5, με αποτέλεσμα το κρέας που παράγεται να είναι σκούρο, ξηρό και ευαίσθητο σε μικροοργανισμούς. Το κρέας αυτό αναφέρεται ως DFD (Dark, Firm, Dry). Η τιμή του pH είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης γαλακτικού. Η τελική συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος φτάνει σε τιμές μικρότερες των 10 mg/g.

Η διάρκεια της διαδικασίας οξίνισης εξαρτάται από το είδος του ζώου και κυμαίνεται από 4-8h για το κρέας προερχόμενο από χοίρους, 12-24 h για κρέας προερχόμενο από αρνί και 15-36h για κρέας από βοοειδή (Dransfield, 1994). Για κρέας από πουλερικά, η πτώση του pH πραγματοποιείται πολύ γρήγορα. Για παράδειγμα, στο κρέας από γαλοπούλα το pH πέφτει στην τιμή 6 μέσα σε 10-15 λεπτά *post mortem*.

Η μεταθανάτια πτώση του pH έχει τεράστια σημασία για την ποιότητα του κρέατος, καθώς επηρεάζει τη δομή του, την ικανότητα συγκράτησης νερού, το χρώμα και την ανθεκτικότητα του σε μικροοργανισμούς. Οι μυϊκές πρωτεΐνες τείνουν να μετουσιώνονται καθώς το pH πέφτει. Αυτό οδηγεί σε μείωση της ικανότητας τους να προσδένονται σε μόρια νερού, με αποτέλεσμα την αποβολή της υδατικής φάσης από τις μυϊκές ίνες και την εμφάνιση ορού. Το τελευταίο οδηγεί σε απώλεια βάρους. Η αλλαγή των πρωτεϊνών αυξάνει την ικανότητα σκέδασης του φωτός των συσταλτών μερών της μυϊκής ίνας. Έτσι, το χρώμα του κρέατος αλλάζει από σχετικά σκούρο, που εμφανίζεται στο ζωντανό ζώο, σε θαμπό και ωχρο (Warris, 2000, Τσακαλίδου 2001).

Καθώς το pH πέφτει και η αναερόβια γλυκόλυση συνεχίζεται ώστε να παρέχει την απαραίτητη για το μυ ενέργεια, το γλυκογόνο εξαντλείται. Μετά την εξάντληση του γλυκογόνου, η αναγέννηση του ATP γίνεται μέσω της φωσφορικής κρεατίνης (CP), η οποία μεταφέρει τη φωσφορική της ομάδα στο ADP, οπότε σχηματίζεται ATP και κρεατίνη (C). Γρήγορα, όμως, και η φωσφορική κρεατίνη εξαντλείται. Τελικά, η παραγωγή του ATP σταματάει, αρχικά λόγω της εξάντλησης του υποστρώματος και κατά δεύτερον λόγω της πτώσης του pH σε τέτοια επίπεδα ώστε να εμποδίζεται η δράση κρίσιμων ενζύμων της γλυκόλυσης. Η εξάντληση του ATP σε επίπεδα μικρότερα του 1 $\mu\text{mol/g}$ ιστού οδηγεί στο στάδιο της **νεκρικής ακαμψίας** (*rigor mortis*). Κατά το στάδιο αυτό, η ακτίνη και η μυοσίνη των χονδρών και λεπτών νηματίων αντιδρούν απουσία του ATP μη αντιστρεπτά προς το σχηματισμό της ακτινομυοσίνης, με αποτέλεσμα η ελαστικότητα του μυός να χάνεται. Κάθε μυϊκή ίνα εισέρχεται στο στάδιο της νεκρικής ακαμψίας πολύ γρήγορα, και καθώς όλο και

Κεφάλαιο 2: Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος

περισσότερες μυϊκές ίνες χάνουν την ελαστικότητα τους, ολόκληρος ο μυς γίνεται σταδιακά άκαμπτος.

Είναι φανερό, ότι το στάδιο της νεκρικής ακαμψίας είναι στενά συνδεδεμένο με τους παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση του γλυκογόνου και της φωσφορικής κρεατίνης πριν τη σφαγή του ζώου και το ρυθμό του μεταθανάτιου μεταβολισμού. Για παράδειγμα, σε ζώα τα οποία έχουν υποστεί συνθήκες stress πριν τη σφαγή (DFD κρέας), η μειωμένη συγκέντρωση του γλυκογόνου θα οδηγήσει στην ταχύτερη ενεργοποίηση του σταδίου της νεκρικής ακαμψίας, πριν ακόμα το pH πάρει την τελική του τιμή. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η ενεργοποίηση της νεκρικής ακαμψίας εξαρτάται αποκλειστικά και μόνο από τη διαθεσιμότητα των μορίων ATP και όχι από το pH του μυός.

Τη νεκρική ακαμψία διαδέχεται μια άλλη κατάσταση, η **ωρίμανση ή σίτεμα του κρέατος**, χάρη στην οποία το κρέας αποκτά τρυφερότητα, καλύτερο άρωμα και γεύση. Η ωρίμανση αποτελεί ένα πολύπλοκο βιοχημικό φαινόμενο, αρχίζει πριν ακόμα ο μυς αποκτήσει το τελικό του pH και οφείλεται στην αποδόμηση των συστατών πρωτεϊνών από τα μυϊκά νημάτια. Το στάδιο της ωρίμανσης οφείλεται στη δράση των πρωτεολυτικών ενζύμων, τα οποία βρίσκονται στο μυϊκό ιστό. Ο ρόλος των πρωτεϊνικών αυτών μορίων κάτω από φυσιολογικές συνθήκες είναι η αποδόμηση και η ανακύκλωση των πρωτεϊνών, φαινόμενο το οποίο παρατηρείται σε όλους τους ζωντανούς ιστούς. Δύο είναι τα ένζυμα τα οποία εμπλέκονται στη διαδικασία της ωρίμανσης, οι καθεψίνες και οι καλπαΐνες. Πιστεύεται ότι η δράση των *m*-καλπαϊνών είναι πιο σημαντική στη διαδικασία τρυφεροποίησης του κρέατος. Η δράση της καλπαΐνης αυξάνεται με τα υψηλότερα επίπεδα ασβεστίου, την αύξηση της θερμοκρασίας και του pH (Warris, 2000).

Η αποδόμηση των πρωτεϊνών, η οποία, ξεκινάει από το στάδιο της ωρίμανσης λόγω της δράσης των ενδογενών ενζύμων του κρέατος, συνεχίζεται, σε μετέπειτα στάδιο από τα βακτηριακά ένζυμα, η δράση των οποίων οδηγεί στη σήψη του κρέατος.

Ιδιαίτερα σημαντικός για την τεχνολογία τροφίμων είναι ο χρόνος ωρίμανσης του κρέατος, ο οποίος επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία συντήρησης του. Για θερμοκρασία μεταξύ 0-40°C, ο ρυθμός τρυφεροποίησης διπλασιάζεται για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10°C. Σε γενικές γραμμές, ένα κρέας ωριμάζει σε 12 περίπου ώρες στους 36°C, σε 3 περίπου ημέρες σε θερμοκρασία 15-17°C και σε 10 περίπου ημέρες στους 2-4°C. Ο προτεινόμενος χρόνος ωρίμανσης για κρέας από χοιρινό 4-10 ημέρες, από αρνί 7-14 ημέρες και από μοσχάρι 10-21 ημέρες (Dransfield and MacFie, 1980, Dransfield et al., 1981, Varnam and Sutherland, 1999).

2.4 Παράγοντες που καθορίζουν τη μικροβιακή αλλοίωση του κρέατος

2.4.1 Μικροβιακή χλωρίδα του κρέατος

Η μικροβιολογία του νωπού κρέατος έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τόσο από την άποψη της δημόσιας υγείας και της προστασίας του καταναλωτή όσο και από την άποψη της εμπορίας. Το νωπό κρέας είναι ένα ευαλλοίωτο προϊόν για τους παρακάτω λόγους:

- 1) Περιέχει αφθονία θρεπτικών συστατικών που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των βακτηρίων, των ζυμών και των μυκήτων.
- 2) Έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε υγρασία που αντιστοιχεί σε μια τιμή a_w περίπου 0,99, η οποία είναι ευνοϊκή για την ανάπτυξη των περισσότερων μικροοργανισμών.
- 3) Η τιμή του pH κυμαίνεται από 5.0-7.0 και επιτρέπει την ανάπτυξη των περισσότερων μικροοργανισμών.
- 4) Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό στο εσωτερικό μεγάλων τεμαχίων κρέατος είναι χαμηλό με αποτέλεσμα να επιτρέπεται η ανάπτυξη μόνο αναερόβιων μικροοργανισμών, από τους οποίους λίγοι αναπτύσσονται στις χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης. Στην επιφάνεια και στην περιοχή που βρίσκεται κοντά στην επιφάνεια του κρέατος επικρατούν ψηλότερες τιμές οξειδοαναγωγικού δυναμικού με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται αυστηρά αερόβιοι και προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί (Κοτζεκίδου, 1993).

Το κρέας των υγιών ζώων, πριν από τη σφαγή, θεωρείται ελεύθερο μικροοργανισμών. Εξαιρέσεις της γενίκευσης αποτελούν οι λεμφαδένες και μερικά όργανα που μπορούν να φέρουν περιορισμένο αριθμό βακτηρίων. Αντίθετα οι επιφάνειες του ζώου που εκτίθενται στο περιβάλλον όπως το δέρμα, το στόμα και ο γαστρεντερικός σωλήνας είναι δυνατό να φέρουν υψηλό μικροβιακό φορτίο. Αυτά τα μέρη του ζώου αποτελούν τις σημαντικότερες πηγές επιμόλυνσης σφαγίων κρέατος. Η έκταση της μεταφοράς της μικροβιακής επιμόλυνσης από τις ανωτέρω πηγές στο σφάγιο εξαρτάται από τις συνθήκες εκτροφής, σφαγής και επεξεργασίας (Nottingham, 1982, Grau, 1986, Gill, 1998, Koutsoumanis and Sofos, 2005). Οι συνθήκες υγιεινής κατά τον χειρισμό και την επεξεργασία καθώς και οι συνθήκες αποθήκευσης και διακίνησης είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που καθορίζουν την μικροβιολογική ποιότητα των τελικών προϊόντων κρέατος. (Καραμπέρη, 2010)

2.4.1.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί στο κρέας

Έχει διαπιστωθεί ότι μόνο το 10% των μικροοργανισμών που βρίσκονται αρχικά στο κρέας θα αυξηθεί σε θερμοκρασίες ψύξης και μόνο ένα μέρος αυτών θα οδηγήσει σε αλλοιώσεις μέσω της μεταβολικής δραστηριότητάς τους (Borch et al., 1996, Garcia-Lopez et al., 1998). Οι μικροβιακές αλλοιώσεις του κρέατος και των προϊόντων του εξαρτώνται από τον αριθμό και τον τύπο των μικροοργανισμών που υπάρχουν ενδογενώς στη μικροβιακή χλωρίδα του προϊόντος, την επεξεργασία στην οποία υποβάλλεται αυτό, τη θερμοκρασία αποθήκευσης, την ατμόσφαιρα συσκευασίας και τη σύνθεση του προϊόντος (Gill, 1983).

Κεφάλαιο 2: Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος

Οι κύριες ομάδες βακτηρίων που προκαλούν αλλοιώσεις του κρέατος είναι *Pseudomonas* spp., Enterobacteriaceae (*Serratia liquefaciens*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter agglomerans*), *Brochothrix thermosphacta*, γαλακτικά βακτήρια (*Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* and *Leuconostoc* spp.), *Moraxella* spp., *Psychrobacter* spp., *Anicetobacter* spp., *Aeromonas* spp., και *Shewanella putrefaciens* (Dainty and Mackey, 1992, Jay, 2000).

Οι ζύμες και οι μύκητες μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην αλλοίωση του κρέατος αλλά μόνο όταν ο βακτηριακός ανταγωνισμός μειώνεται (Walker and Ayres, 1970), όπως κατά την έκθεση στην ακτινοβολία ιονισμού, τη μειωμένη ενεργότητα νερού και την παρουσία συντηρητικών ή αντιμικροβιακών παραγόντων (Dillon, 1998).

Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών αυτών υλοποιείται στην υδάτινη φάση του κρέατος. Οι μικροοργανισμοί στην φάση αυτή, καταναλώνουν τη γλυκόζη, το γαλακτικό οξύ, ορισμένα αμινοξέα, νουκλεοτίδια, ουρία και υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες (Gill, 1976, Nychas et al., 1988, Drosinos, 1994).

Το κρέας και τα προϊόντα κρέατος που αποθηκεύονται υπό αερόβιες συνθήκες σε χαμηλή θερμοκρασία αλλοιώνονται κυρίως από αυστηρά αερόβια Gram-αρνητικά βακτήρια τα οποία, στις συνθήκες αυτές, παρουσιάζουν υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης. Οι ψευδομονάδες και συγκεκριμένα οι *Ps. fragi*, *Ps. fluorescens* και *Ps. Lundensis* κυριαρχούν συνήθως στο κρέας που αποθηκεύεται σε χαμηλές θερμοκρασίες (Koutsoumanis et al., 2004). Οι ψευδομονάδες μεταβολίζουν κατά προτίμηση τη γλυκόζη και παράγουν προϊόντα μεταβολισμού τα οποία δεν επηρεάζουν σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Όταν εντούτοις, ο ρυθμός διάχυσης της γλυκόζης από τον ιστό στην επιφάνεια του κρέατος δεν μπορεί πλέον να ικανοποιήσει τις απαιτήσεις του υψηλού πληθυσμού (>10⁷ cfu/g), οι ψευδομονάδες αρχίζουν να μεταβολίζουν αμινοξέα (cysteine, cystine και methionine) και πρωτεΐνες με αποτέλεσμα το σχηματισμό αμμωνίας, αμινών (cadaverine, putrescine, spermidine, spermine, histamine, and tyramine) και σουλφιδίων (hydrogen sulfide, methylsulfide and dimethylsulfide) και οδηγούν σε δυσάρεστες οσμές και τελικά στη αλλοίωση του κρέατος (Gill and Newton, 1977).

Οι προαιρετικά αναερόβιοι οργανισμοί που ανήκουν στη οικογένεια *Enterobacteriaceae* μεταβολίζουν κατά προτίμηση τη γλυκόζη, και στη συνέχεια τα αμινοξέα. Ωστόσο, ο μικρός ρυθμός ανάπτυξης των εντεροβακτηρίων σε χαμηλές θερμοκρασίες αποτρέπει συνήθως την επικράτηση τους στο κρέας που αποθηκεύεται υπό ψύξη (Gill and Newton, 1977). Το Gram-θετικό, προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο *B. thermosphacta* αποτελεί επίσης ένα δευτερεύον μέλος της μικροχλωρίδας που προκαλεί αλλοιώσεις του κρέατος σε αερόβιες συνθήκες. Έχει διαπιστωθεί ότι *B. thermosphacta* επικρατεί κυρίως στο πρόβειο και χοίρειο κρέας, ειδικά σε επιφάνειες με υψηλό ποσοστό λίπους και υπό συνθήκες συντήρησης σε θερμοκρασία 5°C (Egan and Roberts, 1987, Dainty and Mackey, 1992). Άλλες ομάδες βακτηρίων που εμπλέκονται στην αερόβια αλλοίωση του κρέατος είναι οι *Acinetobacter* spp., *Psychrobacter* spp. και *Moraxella* spp. Τα παραπάνω αυστηρά αερόβια βακτήρια αποτελούν την κυρίαρχη μικροχλωρίδα σε κρέας υψηλού pH (>5,8), ή κατά την αποθήκευση σε συνθήκες περιβάλλοντος (Gill and Newton, 1982). Αντίθετα από τις ψευδομονάδες, τα περισσότερα από αυτά τα αυστηρά αερόβια βακτήρια δεν μεταβολίζουν εξόζες και καταναλώνουν άμεσα τα αμινοξέα (Gill, 1983).

2.4.1.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί στο κρέας

Υπό την προϋπόθεση ότι η επεξεργασία του κρέατος γίνεται με βάση τους κανόνες ορθής βιομηχανικής και υγιεινής πρακτικής, η επιμόλυνση του από παθογόνους μικροοργανισμούς θα πρέπει να κυμαίνεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα σε σχέση με τη μικροχλωρίδα που προκαλεί αλλοιώσεις του. Τα σημαντικότερα παθογόνα που συνδέονται με το κρέας περιλαμβάνουν *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, verotoxigenic *E.coli*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* και *Aeromonas hydrophila*. Τα παθογόνα *Salmonella sp.*, *E.coli*, και *Campylobacter* είναι εντερικής προέλευσης και η κύρια πηγή μόλυνσης θεωρείται η πρώτη ύλη. Αντίθετα στην περίπτωση της *Listeria monocytogenes*, το περιβάλλον των εγκαταστάσεων αντιπροσωπεύει την κύρια πηγή επιμόλυνσης. Οι τροφιμογενείς λοιμώξεις που προκαλούνται από το παραπάνω παθογόνο σχετίζονται κυρίως με τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα ενώ η επιμόλυνση λαμβάνει χώρα μετά την επεξεργασία. Η παρουσία και τα επίπεδα των παθογόνων μικροοργανισμών στα σφάγια και τα προϊόντα κρέατος εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες συμπεριλαμβανομένης της προέλευσης του ζώου, των διαδικασιών υγιεινής που υιοθετούνται κατά τη διάρκεια του χειρισμού και της επεξεργασίας του προϊόντος, την εφαρμογή των επεμβάσεων απολύμανσης (decontamination) και των συνθηκών αποθήκευσης και διανομής. Με βάση τα στοιχεία που συλλέχθηκαν από τον FSIS, 14,6% των μόσχων και 27,2% των αγελάδων και των ταύρων είναι μολυσμένα με ένα έως 3 διαφορετικά παθογόνα βακτήρια. Τα στοιχεία αυτά δείχνουν επίσης ότι η παρουσία των παθογόνων στα σφάγια χοιρινού κρέατος είναι υψηλότερη δεδομένου ότι 52,4% των χοίρων είναι μολυσμένα με ένα έως πέντε διαφορετικά παθογόνα βακτήρια. Ανάλογα με τους παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω η συγκέντρωση των παθογόνων στα σφάγια κρέατος μπορεί να ποικίλει από 1 έως >30(MPN)/cm² (Παπαδοπούλου, 2013)

2.4.2 Πηγές μικροβιακής μόλυνσης

Όπως έχει αναφερθεί, το κρέας μέχρι τη σφαγή είναι σχεδόν στείρο. Κατά τη σφαγή και τη μετέπειτα επεξεργασία του ένα σφάγιο είναι δυνατόν να επιμολυνθεί με μικροοργανισμούς και έχουν αναγνωριστεί διάφορες πηγές μικροβιακής επιμόλυνσης από την ώρα της σφαγής μέχρι και την επεξεργασία και διανομή του κρέατος. Έτσι, είναι δυνατόν να υπάρξει επιμόλυνση μέσω έμμεσης επαφής από τον αέρα του χώρου επεξεργασίας (den Aantrekker et al., 2003, Gustavsson and Borch, 1993, Rahkio an Korkeala, 1997), με μεταφορά των μικροοργανισμών οι οποίοι βρίσκονται στις εξωτερικές επιφάνειες του σφαγίου (δέρμα, τρίχωμα, πόδια) αλλά και μικροοργανισμών οι οποίοι απαντώνται στο γαστρεντερικό σωλήνα ή στους λεμφαδένες του ζώου (Antic et al., 2010, Samelis, 2006), μέσω του εξοπλισμού και των εργαλείων κοπής και επεξεργασίας του σφαγίου αλλά και με την επαφή του προσωπικού που χειρίζεται τα σφάγια (den Aantrekker et al., 2003, Gill, 1998, Gounadaki et al., 2008, Fernandes, 2009, Kennedy et al., 2005, Nychas et al., 2007, Perez-Roderiges et al., 2010).

Ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών κυρίως αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Vibrio*) έχει βρεθεί να αποικεί στο τρίχωμα και το δέρμα των ζώων ή έχει απομονωθεί από δείγματα που προέρχονται από επιφάνειες των σφαγείων (Gill et al., 1998, Nychas et al., 2008). Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Antic et al. (2010)

μελέτησαν τη μεταφορά από το δέρμα των ζώων απευθείας στο κρέας και αναφέρουν ότι η οικογένεια *Enterobacteriaceae* καθώς και το βακτήριο *E. coli* ήταν τα πιο συχνά απαντώμενα στο τρίχωμα των ζώων.

2.4.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αλλοίωση και τη διάρκεια ζωής του κρέατος

Η επιβίωση και η αύξηση των αλλοιογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα επηρεάζεται από μία ποικιλία περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως είναι η θερμοκρασία, το ατμοσφαιρικό οξυγόνο (ατμόσφαιρα της συσκευασίας), το pH, η δραστηριότητα του νερού, τα συστατικά του κρέατος και η ανταγωνιστική μικροχλωρίδα. Οι παράγοντες αυτοί παίζουν ρόλο στη διατήρηση της ποιότητας του κρέατος για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα. Στην παρούσα μελέτη ο κυριότερος παράγοντας που εξετάστηκε είναι η θερμοκρασία και αναλύεται εκτενέστερα παρακάτω.

2.4.3.1 Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την αλλοίωση και την ασφάλεια του κρέατος (Lambert et al., 1991, McDonald and Sun, 1999). Μικροβιακή αύξηση έχει παρατηρηθεί από -5 έως 90°C σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης, εφόσον το νερό που είναι απαραίτητο για την αύξηση των μικροοργανισμών είναι διαθέσιμο (Adams and Moss, 1995).

Για τη μικροβιολογία τροφίμων έχουν σημασία κυρίως οι μεσόφιλοι και οι ψυχρότροφοι μικροοργανισμοί. Ο ρυθμός αύξησης των ψυχρότροφων μικροοργανισμών επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και γίνεται χαμηλότερος καθώς η θερμοκρασία μειώνεται. Η συντήρηση ευπαθών προϊόντων σε θερμοκρασίες ψύξης μπορούν να αλλάξουν το ρυθμό και τη φύση της αλλοίωσης. Με αυτόν τον τρόπο, είναι δυνατόν να υπάρξουν ποιοτικές αλλαγές στα χαρακτηριστικά της αντίδρασης, καθώς οι χαμηλές θερμοκρασίες ακούν επιλεκτική δράση, εμποδίζοντας τους μεσόφιλους μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν και οδηγούν στην κυριαρχία των ψυχρότροφων μικροοργανισμών. Όσον αφορά τους ψυχρότροφους μικροοργανισμούς, παρ' όλο που έχουν τη δυνατότητα να αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης, η διαδικασία συμβαίνει με αργούς ρυθμούς, με αποτέλεσμα την καθυστέρηση της έναρξης της αλλοίωσης (Argyri 2010a, Ercolini et al., 2006).

Ακολουθώντας τις απαιτήσεις των καταναλωτών όσον αφορά το φρέσκο κρέας, οι οποίες αυξήθηκαν τις τελευταίες δεκαετίες, η ανάγκη για συνεχές συστηματικό έλεγχο και καταγραφή της θερμοκρασίας του νωπού κρέατος σε όλη τη διαδρομή του στην ψυκτική αλυσίδα από την παραγωγή του μέχρι την κατανάλωση έγινε επιτακτική. Οι τρόποι μείωσης της θερμοκρασίας ξεκινούν κατά τη σφαγή του ζώου. Σε πρώτη φάση πρέπει να φτάσει η θερμοκρασία του σφαγίου στους 7°C, όπως ορίζει ο Κανονισμός της Ε.Ε., ενώ κατά τη διαδικασία αυτή είναι δυνατόν να παρατηρηθεί αύξηση μικροοργανισμών (παθογόνων και αλλοιωγόνων). Στη συνέχεια, όποια περαιτέρω διαδικασία, όπως π.χ. τεμαχισμός, θα αυξήσει τη θερμοκρασία των τεμαχίων κρέατος, οπότε απαιτείται επιπλέον ψύξη. Ακολουθεί η

διανομή του κρέατος σε υπεραγορές, μονάδες λιανικής πώλησης και τέλος στον καταναλωτή, κατά τη διάρκεια της οποίας το κρέας αποθηκεύεται σε φορτηγά, αποθήκες, ψυγεία υπεραγορών και τέλος στο οικιακό ψυγείο. Όλα τα παραπάνω αποτελούν κομβικά σημεία για την ασφάλεια, την ποιότητα και την εμπορική διάρκεια ζωής του κρέατος. Φαίνεται πως οι αλλαγές στη θερμοκρασία έχουν επιπτώσεις στο προϊόν. Η έκταση του σοκ που παθαίνουν οι μικροοργανισμοί λόγω της μείωσης της θερμοκρασίας σε βαθμούς ψύξης εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως το είδος των μικροοργανισμών, η φάση αύξησης των κυττάρων, η διαφορά θερμοκρασίας και ο ρυθμός ψύξης (Παπαδοπούλου, 2013).

2.5 Μεταβολές στην ποιότητα του κρέατος κατά τη συντήρηση

Η συμβολή των ενζύμων στην αλλοίωση του κρέατος είναι αμελητέα σε σύγκριση με τη δράση της μικροβιακής χλωρίδας (Tsigarida and Nychas, 2001). Η μεταθανάτια γλυκόλυση, η οποία προκαλείται από τα ένζυμα που βρίσκονται στο κρέας, παύει μετά το θάνατο του ζώου, καθώς το pH από 7 φτάνει την τιμή 5.4-5.5, οπότε, η αλλοίωση του κρέατος οφείλεται στη μικροβιακή δραστηριότητα και συσσώρευση των μεταβολικών τους προϊόντων, παρά στη δραστηριότητα ενζύμων.

Το κρέας εξαιτίας της υψηλής ενεργότητας νερού και των άφθονων θρεπτικών συστατικών του, αποτελεί ένα εξαιρετικό μέσο για την υποστήριξη της αύξησης των μικροοργανισμών, δεδομένου ότι οι αλλαγές που γίνονται κατά την αλλοίωση του κρέατος λαμβάνουν χώρα στην υδατική φάση του κρέατος.

Στην υδατική φάση του κρέατος απαντώνται ουσίες όπως γλυκόζη, γαλακτικό οξύ, αμινοξέα, νουκλεοτίδια, ουρία και υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες, οι οποίες καταβολίζονται από όλα σχεδόν τα βακτήρια του οικοσυστήματος του κρέατος. Παρόλο που οι μικροοργανισμοί του κρέατος είναι κατεξοχήν πρωτεολυτικοί, αναπτύσσονται αρχικά χρησιμοποιώντας ως θρεπτικά συστατικά τους υδατάνθρακες καθώς και μη πρωτεϊνικό άζωτο (Nychas et al., 2007). Η συγκέντρωση της γλυκόζης, του γαλακτικού οξέος, διαφόρων αμινοξέων και των νουκλεοτιδίων, της ουρίας και των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών, μπορεί να επηρεάσει το είδος (πρωτεολυτικό/ σακχαρολυτικό) και το ρυθμό της αλλοίωσης. Επιπλέον, οι ουσίες αυτές είναι πρόδρομες ενώσεις των μικροβιακών μεταβολιτών που γίνονται αντιληπτές ως αλλοίωση. Εκτεταμένη πρωτεόλυση συμβαίνει στα προχωρημένα στάδια της αλλοίωσης και αφού το κρέας έχει απορριφθεί από οργανοληπτικής σκοπιάς (Παπαδοπούλου, 2013).

Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκαν δείγματα που ήταν συσκευασμένα υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα περιορισμού οξυγόνου και γι' αυτό το λόγο παρακάτω αναλύονται εκτενέστερα οι χημικές μεταβολές στην αλλοίωση του κρέατος στις συνθήκες αυτές.

2.5.1 Μεταβολές στην ποιότητα του κρέατος σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP)

Η συσκευασία σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (Modified Atmosphere Packaging, MAP) είναι αναγνωρισμένη ως μία από τις πλέον αποτελεσματικές εφαρμογές για την επέκταση της διάρκειας ζωής του φρέσκου κρέατος και των προϊόντων του και χρησιμοποιείται ευρέως από τη βιομηχανία κρέατος. Η παρουσία του διοξειδίου του άνθρακα στην υπερκείμενη αέρια Φάση (head space) των συσκευασμένων κρεάτων οδηγεί σε αναστολή της μικροβιακής αύξησης και στη μετατόπιση της κυρίαρχης μικροχλωρίδας σε βακτηριακές ομάδες με χαμηλότερο δυναμικό αλλοίωσης (Koutsoumanis et al., 2008). Καθώς το οξυγόνο μειώνεται, η δράση των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, όπως οι ψευδομονάδες, καταστέλλεται.

Η αλλοίωση των τροφίμων σε συσκευασίες με συνθήκες περιορισμού του οξυγόνου ή σε συσκευασίες με ατμόσφαιρα εμπλουτισμένη με διοξείδιο του άνθρακα οφείλεται κυρίως στα γαλακτικά βακτήρια και στον *B. Thermosphacta*. Αυτά τα βακτήρια μεταβολίζουν τη γλυκόζη για την παραγωγή οργανικών οξέων και η αλλοίωση του κρέατος χαρακτηρίζεται συνήθως από μία όξινη οσμή τυριού. Οι όξινες οσμές τυριού που βρέθηκαν σε βόειο κρέας το οποίο είχε αποθηκευτεί σε ατμόσφαιρα εμπλουτισμένη με διοξείδιο του άνθρακα παρήχθησαν από τον *B. Thermosphacta* και τα γαλακτικά βακτήρια, τα οποία μπορούν να παράγουν διακετυλένιο, ακετοΐνη και αλκοόλες (Παπαδοπούλου, 2013).

Οι χημικές αλλαγές που συμβαίνουν σε συνθήκες MAP, όπως η αύξησης της συγκέντρωσης σε D-γαλακτικό και οξικό οξύ, μπορούν να προσφέρουν ένα αξιόπιστο εργαλείο για την παρακολούθηση της ποιότητας των τροφίμων. Καθοριστικούς παράγοντες αποτελούν οι ομοζυμωτικοί ή ετεροζυμωτικοί τύποι του μεταβολισμού των γαλακτικών βακτηρίων. Διαφορετικά γαλακτικά βακτήρια παράγουν L ή D μορφές γαλακτικού οξέος ανάλογα με την παρουσία της γαλακτικής αφυδρογονάσης D-nLDH και/ή L-nLDH. Η αύξηση του οξικού οξέος σε βόειο και χοιρινό κρέας που αποθηκεύεται υπό διαφορετικές συνθήκες κενού ή MAP μπορεί να οφείλεται στη στροφή από τον ομοζυμωτικό μεταβολισμό σε ετεροζυμωτικό μεταβολισμό των γαλακτικών βακτηρίων. Τέλος, οι αλκοόλες, ιδιαίτερα η αιθανόλη και η προπανόλη, φαίνεται να είναι οι πιο πολλά υποσχόμενες ενώσεις ως δείκτες αλλοίωσης στο κρέας και τα προϊόντα του κρέατος που συντηρούνται υπό κενό ή σε συνθήκες MAP.

Τα μέλη της οικογένειας *Enterobacteriaceae* μεταβολίζουν τα αμινοξέα παράγοντας αμμωνία, πτητικά σουλφίδια, όπως υδρόθειο, και δύσοσμες αμίνες εξαιτίας της αποικοδόμησης αμινοξέων. Η παραγωγή τυραμίνης, πουτρεσκίνης και καδαβερίνης έχει επίσης αποδοθεί σε γαλακτοβακτήρια σε κρέας που συντηρείται σε συνθήκες MAP (Dainty et al., 1985)

2.6 Το χρώμα του κρέατος και οι μεταβολές του κατά τη διάρκεια της συντήρησης

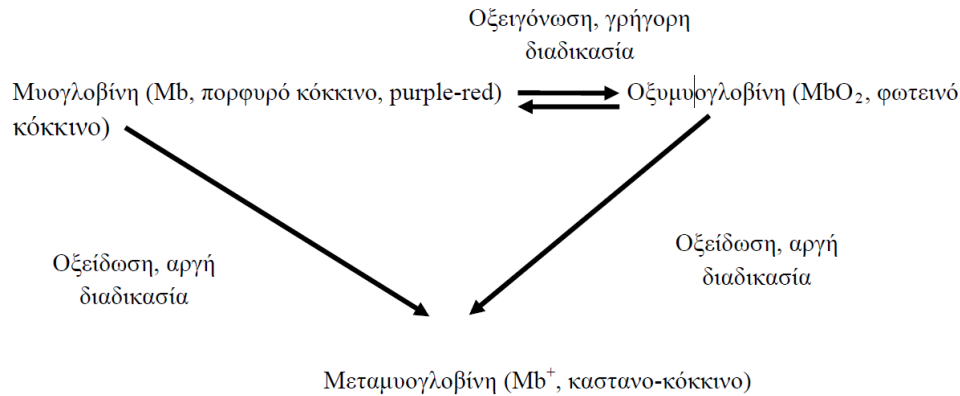
Το χρώμα του κρέατος παίζει σημαντικό ρόλο στην προτίμηση του καταναλωτή, καθώς είναι το μοναδικό αντικειμενικό στοιχείο που μπορεί να αξιολογήσει κατά την αγορά του προϊόντος. Η κυριότερη χρωστική του κρέατος είναι η μυογλοβίνη (Mb). Η μυογλοβίνη έχει χρώμα πορφυρό κόκκινο (purple-red) και σε αυτή οφείλεται το χρώμα του κρέατος αμέσως μετά τη σφαγή του ζώου. Οι μεταβολές στο χρώμα που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της συντήρησης του κρέατος οφείλονται στις μετατροπές της μυογλοβίνης σε οξυμυογλοβίνη (MbO_2) και μεταμυογλοβίνη (Mb^+), μετατροπές οι οποίες εξαρτώνται από τη συγκέντρωση του οξυγόνου στο περιβάλλον του κρέατος. Η οξυμυογλοβίνη οφείλεται για το φωτεινό κόκκινο ελκυστικό χρώμα του κρέατος και σχηματίζεται από την οξυγόνωση της μυογλοβίνης, δηλαδή την πρόσδεση ενός μορίου οξυγόνου στο μόριο της μυογλοβίνης. Αντίθετα, η μεταμυογλοβίνη οφείλεται για το καστανο-κόκκινο χρώμα του κρέατος και ο σχηματισμός της αποδίδεται στην οξειδωση της μυογλοβίνης, δηλαδή την αλλαγή του σθένους του αιμικού σιδήρου από την ανηγμένη (+2) στην οξειδωμένη του μορφή (+3).

Στο φρέσκο κρέας, οι αντιδράσεις αυτές βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία και οι μεταβολές του χρώματος εξαρτώνται από την αναλογία των τριών αυτών μορφών στην

επιφάνεια του κρέατος. Όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου στο περιβάλλον του κρέατος είναι υψηλή, η μυογλοβίνη οξειγονώνεται προς τη φωτεινή κόκκινη οξυμυογλοβίνη. Αντίθετα, χαμηλή σχετική πίεση του οξυγόνου ευνοεί την οξειδωση της μυογλοβίνης και το σχηματισμό της καφέ-κόκκινης μεταμυογλοβίνης. Σε φρέσκο κρέας, όπου το οξυγόνο βρίσκεται σε περίσσεια, η διείσδυση του στο εσωτερικό του κρέατος είναι ελάχιστη και, έτσι, οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια του κρέατος. Με την πάροδο, όμως, των ημερών συντήρησης, η συνεχής κατανάλωση του οξυγόνου από τη μικροβιακή χλωρίδα οδηγεί στη μείωση της σχετικής πίεσης και στη διείσδυση του αερίου αυτού στο εσωτερικό του κρέατος. Στο όριο της περιοχής διείσδυσης του οξυγόνου (όπου η σχετική πίεση του οξυγόνου είναι χαμηλή, περίπου 4 mm Hg), οι συνθήκες ευνοούν το σχηματισμό της μεταμυογλοβίνης. Στην περιοχή πάνω από το όριο διείσδυσης οξυγόνου, επικρατεί η μορφή της πορφυρής μυογλοβίνης.

Ο σχηματισμός της οξυμυογλοβίνης είναι γρήγορος και λαμβάνει χώρα περίπου σε μισή ώρα στους 5°C. Ωστόσο, ο σχηματισμός της μεταμυογλοβίνης είναι αργός και αρχικά εμφανίζεται στο όριο της διείσδυσης του οξυγόνου, ως μια λεπτή καφετί στρώση, η οποία σταδιακά εκτείνεται προς την επιφάνεια, με αποτέλεσμα το κρέας βαθμιαία να σκουραίνει με το πέρασ των ημερών συντήρησης. Ο ρυθμός διάχυσης του οξυγόνου μειώνεται με τη μείωση της θερμοκρασίας, με αποτέλεσμα στις μικρότερες θερμοκρασίες ο ρυθμός σχηματισμού της μεταμυογλοβίνης να είναι χαμηλότερος και η επιφάνεια του κρέατος να διατηρεί το φωτεινό-κόκκινο χρώμα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Γαβριήλ, 2009).

Κεφάλαιο 2: Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος



Σχήμα 2.1: Αλλαγές στο μόριο της μυογλοβίνης και στο χρώμα του κρέατος

2.7 Ψύξη και Συντήρηση του κρέατος

Ψύξη του κρέατος

Με τη χρήση του ψύχους για τη συντήρηση του κρέατος είναι δυνατόν να διατηρηθούν σε άριστη κατάσταση οι ιδιότητες που συνεισφέρουν στην ποιότητα του κρέατος. Ειδικότερα, με τις χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης επιτυγχάνονται 1) επιβράδυνση ή ανακοπή ανάπτυξης μικροβίων, 2) αποφυγή της αποικοδόμησης των πρωτεϊνών δια των ενζύμων του κρέατος (πρωτεόλυση) και 3) επιβράδυνση της οξείδωσης του κρέατος και ιδιαίτερα του λίπους.

Τα σφάγια πρέπει να ψύχονται όσο το δυνατόν ταχύτερα έτσι ώστε να παρεμποδίζεται η μικροβιακή αλλοίωση αυτών. Άλλωστε σύμφωνα με τους Κανονισμούς της Ε.Ε. το κρέας πρέπει να έχει μέγιστη θερμοκρασία βαθιά στους μύες 7°C, σε 24 ώρες μετά τη σφαγή.

Παρόλα αυτά, η ταχεία ψύξη του κρέατος είναι ανεπιθύμητη, λόγω των φαινομένων της επιφανειακής αφυδάτωσης και της ψυχρής συστολής – βράχυνσης. Λόγω της υπερβολικής απώλειας υγρασίας από την επιφάνεια δημιουργείται μια στενή, μη ελκυστική για τον καταναλωτή, σκουρόχρωμη επιφάνεια, αφού λαμβάνει χώρα οξείδωση της μυοσφαιρίνης σε μεταμυοσφαιρίνη. Αυτή η αντίδραση έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή του χρώματος του κρέατος αλλά και την ποιοτική υποβάθμιση αυτού.

Ένα άλλο μειονέκτημα της ταχείας ψύξης των θερμών σφαγίων είναι η πιθανότητα αύξησης της σκληρότητας του κρέατος. Το φαινόμενο αυτό καλείται συστολή ή βράχυνση του κρέατος (cold shortening) και λαμβάνει χώρα όταν η θερμοκρασία των μυών μειωθεί κάτω από τους 10-15°C, ενώ δεν έχει αρχίσει ακόμα το στάδιο της νεκρικής ακαμψίας (Locker and Hagyard, 1963, Cook and Langsworth, 1966). Το φαινόμενο της ψυχρής συστολής εμφανίζεται εντονότερο, όσο μειώνεται η θερμοκρασία του σφαγίου πριν την επίτευξη της νεκρικής ακαμψίας.

Συντήρηση του κρέατος

1) Συντήρηση του κρέατος υπό αερόβιες συνθήκες

Το κρέας και τα προϊόντα κρέατος που αποθηκεύονται υπό αερόβιες συνθήκες σε χαμηλή θερμοκρασία αλλοιώνονται κυρίως από αυστηρά αερόβια, gram-αρνητικά βακτήρια, τα οποία, στις συνθήκες αυτές, παρουσιάζουν υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης. Οι ψευδομονάδες και συγκεκριμένα οι *Ps. fragi*, *Ps. fluorescens* και *Ps. lundensis* κυριαρχούν συνήθως (>50%) στο κρέας που αποθηκεύεται σε υψηλές θερμοκρασίες (Koutsoumanis et al., 2004). Οι ψευδομονάδες μεταβολίζουν κυρίως τη γλυκόζη και παράγουν προϊόντα μεταβολισμού, τα οποία δεν επηρεάζουν σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρέατος. Όταν, εντούτοις, ο ρυθμός διάχυσης της γλυκόζης από τον ιστό στην επιφάνεια του κρέατος δεν μπορεί να ικανοποιήσει τις απαιτήσεις του υψηλού πληθυσμού (>10⁷ cfu/g), οι ψευδομονάδες μεταβολίζουν αμινοξέα και πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ουσιών (αμμωνία, αμίνες, σουλφίδια), οι οποίες οδηγούν σε δυσάρεστες οσμές και τελικά την αλλοίωση του κρέατος (Gill and Newton, 1977).

Το Gram-θετικό, προαιρετικά αναερόβιο, βακτήριο *B. thermosphacta* προκαλεί επίσης αλλοιώσεις στο κρέας σε αερόβιες συνθήκες. Έχει διαπιστωθεί ότι τα ψυχρότροφα εντεροβακτήρια *B. Thermosphacta* επικρατούν κυρίως στο πρόβειο και το χοιρινό κρέας, ειδικά σε επιφάνειες με υψηλό ποσοστό λίπους και υπό συνθήκες μεγαλύτερες των 5°C (Egan and Roberts, 1987, Dainty and Mackey, 1992). Αντίθετα από τις ψευδομονάδες, τα βακτήρια αυτά δεν μεταβολίζουν εξόζες και καταναλώνουν άμεσα τα αμινοξέα (Gill, 1983).

2) Συντήρηση του κρέατος υπό κενό

Οι κύριοι μικροοργανισμοί του κρέατος που προκαλούν αλλοιώσεις όταν αυτό συντηρείται υπό κενό και σε θερμοκρασία ψύξης είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Τα βακτήρια αυτά μεταβολίζουν τη γλυκόζη και παράγουν οξέα, όπως γαλακτικό και οξικό (Hitchener et al., 1982, Garcia-Lopez et al., 1998). Τα κυρίαρχα οξυγαλακτικά βακτήρια που απομονώθηκαν από αλλοιωμένο κρέας υπό κενό ήταν τα *Carnobacterium*, *spp Lactobacillus spp* και *Leuconostoc spp* σύμφωνα με τους Shaw και Hardind (1984) και Borch και Molin (1988) και μάλιστα διαπιστώθηκαν σε συγκεντρώσεις 10⁷ cfu/cm². Η αλλοίωση στην περίπτωση αυτή χαρακτηρίζεται από όξινη οσμή και γεύση (Dainty and Mackey, 1992).

Σε ατμόσφαιρα κενού μπορεί επίσης να παρατηρηθεί περιορισμένη ανάπτυξη των *B. Thermosphacta*, *Pseudomonas spp*. και *Enterobacteriaceae* σε επίπεδα 10³-10⁶ cfu/cm².

Τέλος, εκτός από τους παραπάνω μικροοργανισμούς, ορισμένα ψυχρότροφα και ψυχρόφιλα είδη *Clostridium* έχουν επίσης χαρακτηριστεί ως υπεύθυνα για την αλλοίωση του συσκευασμένου υπό κενό κρέατος κατά τη συντήρηση του μεταξύ -1,5 και 2°C.

3) Συντήρηση κρέατος σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες (MAP)

Στην τεχνολογία της συσκευασίας υπό τροποποιημένες ατμόσφαιρες (MAP) χρησιμοποιούνται διάφορες συγκεντρώσεις CO₂, συνήθως 10 έως 40% για την παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης. Το CO₂ χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με O₂ ή/και N₂ σε επίπεδα 60 έως 90%.

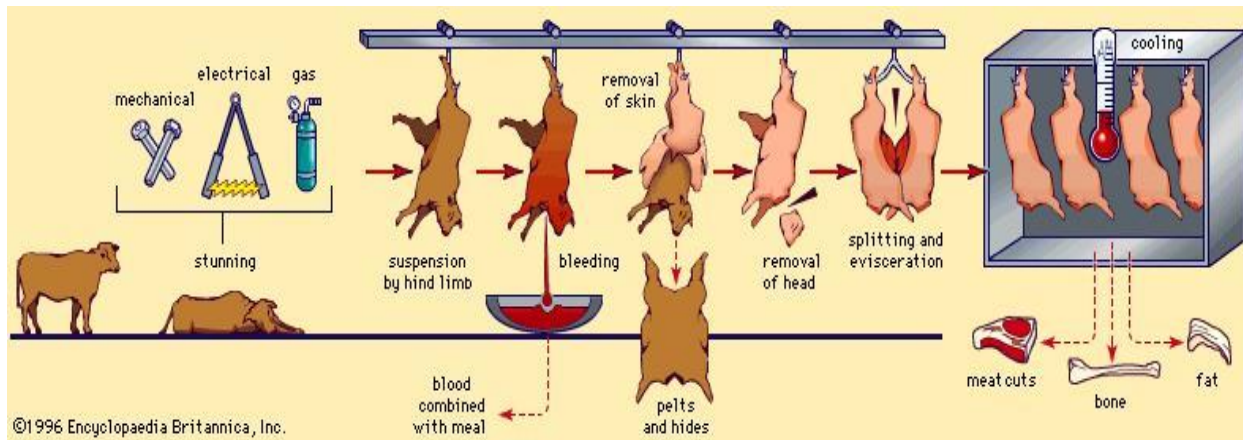
Οι βασικότεροι μικροοργανισμοί που προκαλούν αλλοιώσεις σε αυτή την κατηγορία είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια και ο *B. Thermosphacta* (Newton, et al., 1977, Erichsen and Molin, 1981, Hanna et al., 1981, Taylor et al., 1990, Stanbridge and Davies, 1998). Μελέτες αποδεικνύουν ότι συγκέντρωση 100% CO₂ μπορεί να επεκτείνει τη διάρκεια ζωής του προϊόντος από 3 μήνες σε θερμοκρασία συντήρησης μεταξύ 0 και 1°C σε σύγκριση με τη συσκευασία υπό αερόβιες συνθήκες (Dainty and Mackey, 1992). Ωστόσο, σε υψηλότερες θερμοκρασίες η διάρκεια ζωής μειώνεται σημαντικά. Στην παρούσα διπλωματική, μελετήθηκαν δείγματα κιμά συσκευασμένα υπό τροποποιημένες συνθήκες 80%O₂, 12%CO₂ και 8%N₂.

2.8 Ψυκτική αλυσίδα φρέσκου βόειου κιμά

Όπως έχει αναλυθεί παραπάνω, το κρέας είναι ένα από τα πλέον ευαλλοίωτα τρόφιμα. Κρίνεται λοιπόν απαραίτητη η σωστή διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας αλλά και η βελτίωσή της με όποιον τρόπο είναι εφικτό.

Στο πρώτο στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας, στη Μονάδα Παραγωγής (Production Zone), λαμβάνουν χώρα η εκτροφή του ζώου, η σφαγή του και η ωρίμανση του στη συνέχεια. Όλες οι διαδικασίες αυτές πραγματοποιούνται όπως ορίζονται από τον αντίστοιχο Κανονισμό της Ε.Ε. Στο επόμενη εικόνα παρουσιάζονται αναλυτικά όλα τα στάδια από τα οποία περνάει το ζώο κατά τη διάρκεια του πρώτου σταδίου της ψυκτικής αλυσίδας. Η εκτροφή, σφαγή και ωρίμανση του ζώου μπορεί να συμβεί είτε στο εξωτερικό, είτε στο εσωτερικό μιας χώρας. Η χώρα προέλευσης των δειγμάτων που μελετήθηκαν στην παρούσα διπλωματική ήταν η Γαλλία και το Βέλγιο, δηλαδή η εκτροφή, σφαγή και ωρίμανση του βόειου κρέατος έγινε σε αυτές τις χώρες. Στη συνέχεια, τα σφάγια μεταφέρονται υπό ψύξη στη Μονάδα Μεταποίησης του κρέατος. Τα εξεταζόμενα δείγματα μεταφέρθηκαν υπό ψύξη στην Ελλάδα στους διάφορους παραγωγούς.

Κεφάλαιο 2: Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος



Εικόνα 2.1: Αναλυτική απεικόνιση των σταδίων που λαμβάνουν χώρα στο πρώτο στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας, στη Μονάδα Παραγωγής

Στο δεύτερο στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας, στη Μονάδα Μεταποίησης του κρέατος (Processing Zone) λαμβάνουν χώρα ο τεμαχισμός του κρέατος σε κιμά και η τυποποίησή του (συσκευασία) και πάλι όπως ορίζεται από τον Κανονισμό της Ε.Ε.. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν δείγματα που προέρχονταν από τέσσερις διαφορετικούς παραγωγούς, δηλαδή από τέσσερις διαφορετικές Μονάδες Μεταποίησης. Στη συνέχεια, τα συσκευασμένα πλέον δείγματα φρέσκου βόειου κιμά μεταφέρονται υπό ψύξη στην Κεντρική Αποθήκη Διανομής.

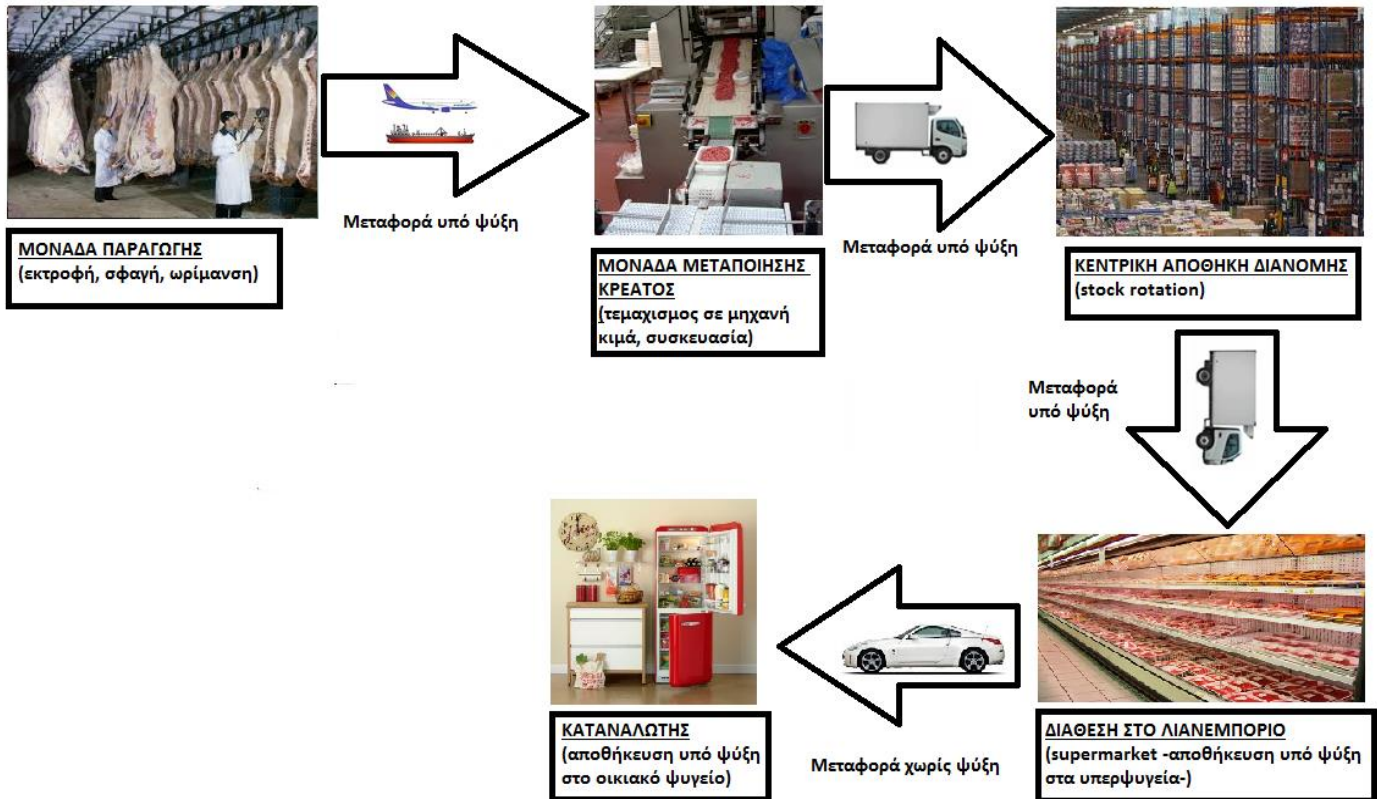
Στο τρίτο στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας, στην Κεντρική Αποθήκη Διανομής (Warehousing and Distribution) τα δείγματα αποθηκεύονται και κατατάσσονται έτσι ώστε να διατεθούν αργότερα στο λιανεμπόριο. Το σύστημα με το οποίο λειτουργεί η επιχείρηση στο στάδιο αυτό είναι το FIFO, δηλαδή τα προϊόντα που λαμβάνονται πρώτα και/ή έχουν τη συντομότερη ημερομηνία λήξης αποστέλλονται και εκτίθενται στους καταναλωτές πρώτα (stock rotation). Έπειτα, τα συσκευασμένα δείγματα φρέσκου βόειου κιμά μεταφέρονται υπό ψύξη και διατίθενται στο λιανεμπόριο σε διάφορα σημεία της Ελλάδος.

Στο τέταρτο στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας, δηλαδή κατά τη Διάθεση στο Λιανεμπόριο (σούπερ μάρκετ) τα προϊόντα αποθηκεύονται υπό ψύξη στα υπερψυγεία των σούπερ μάρκετ και διατίθενται στους καταναλωτές. Αφού γίνει η αγορά του συσκευασμένου προϊόντος από τους καταναλωτές, στη συνέχεια, μεταφέρονται χωρίς ψύξη στην οικία των καταναλωτών.

Στο πέμπτο και τελευταίο στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας, ο καταναλωτής αποθηκεύει το προϊόν στο οικιακό του ψυγείο, με απώτερο σκοπό την μετέπειτα κατανάλωσή του. Στη παρούσα μελέτη, τα δείγματα αποθηκεύθηκαν στους θαλάμους αποθήκευσης SANYO του εργαστηρίου Επιστήμης και Τεχνολογία Τροφίμων του Ε.Μ.Π.

Το διάγραμμα ροής της ψυκτικής αλυσίδας απεικονίζεται στην Εικόνα 2.2.

Κεφάλαιο 2: Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος



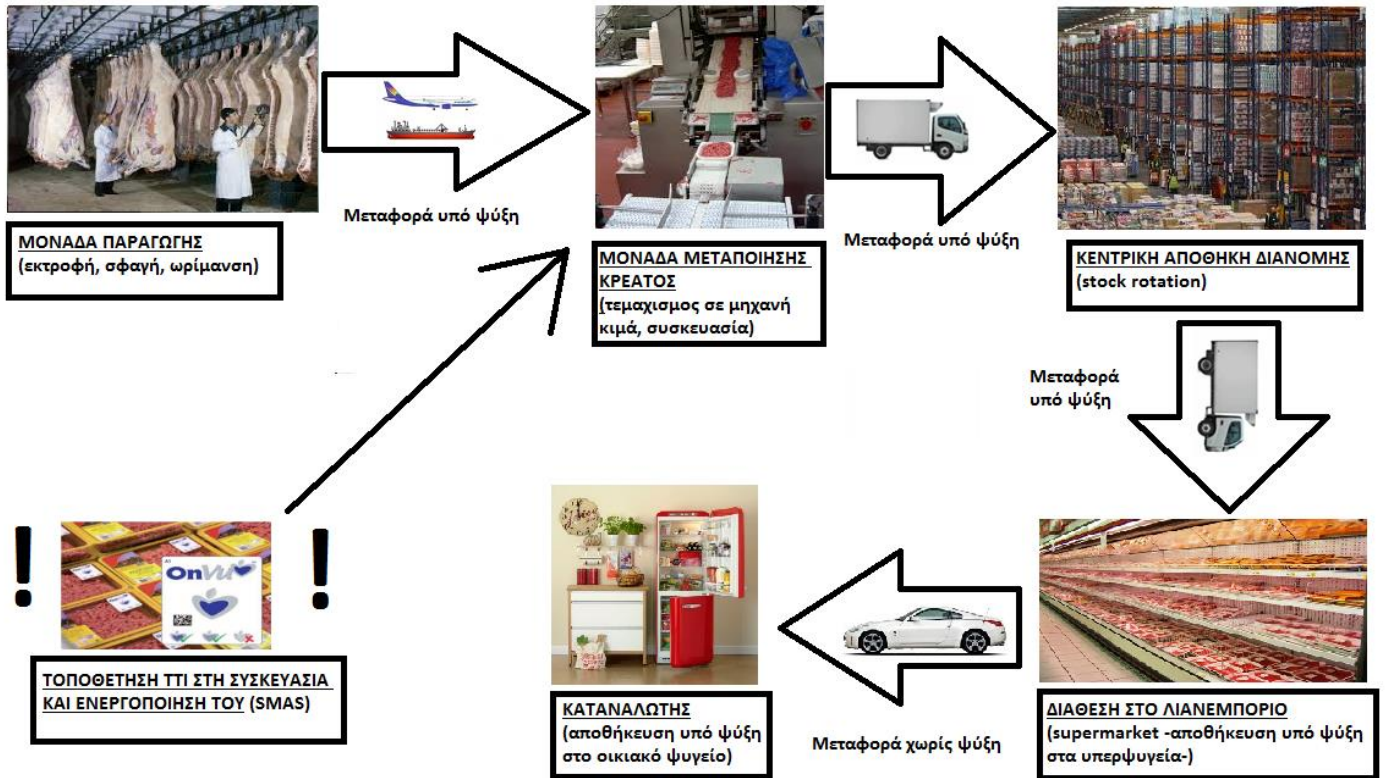
Εικόνα 2.2: Ψυκτική αλυσίδα προϊόντων φρέσκου βόειου κρέατος

Στην περίπτωση που οι συνθήκες που επικρατούν σε κάθε στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας είναι καλές, τότε τα προϊόντα βόειου κιμά έχουν χρόνο ζωής από την ημέρα συσκευασίας του περίπου 5 με 6 ημέρες. Αν όμως, υπάρξει για οποιοδήποτε λόγο και σε οποιοδήποτε στάδιο υποβάθμιση της ψυκτικής αλυσίδας, τότε υποβαθμίζεται η ποιότητα του τροφίμου και ο πραγματικός χρόνος ζωής του προϊόντος είναι μικρότερος από εκείνον που αναγράφεται στην ημερομηνία ανάλωσης. Αντίστοιχα, εάν οι συνθήκες που επικρατούν σε όλα τα στάδια της ψυκτικής αλυσίδας είναι οι βέλτιστες δυνατές τότε υπάρχει μεγάλη πιθανότητα ο διάρκεια ζωής του τροφίμου να είναι μεγαλύτερη από την αναγραφόμενη στη συσκευασία.

Στην πρώτη περίπτωση, υπάρχει περίπτωση ο καταναλωτής να αγοράσει ένα προϊόν το οποίο είναι σημαντικά υποβαθμισμένο και πιθανόν ακατάλληλο για κατανάλωση και στην δεύτερη περίπτωση, υπάρχει περίπτωση να πεταχτεί ένα απολύτως ασφαλές τρόφιμο. Και τα δύο σενάρια είναι εξίσου ανεπιθύμητα.. Πρακτική λύση θα αποτελούσε, όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.6, η χρήση χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΤΙ), με την βοήθεια των οποίων θα υπήρχαν άμεσες πληροφορίες για το χρονο-θερμοκρασιακό ιστορικό του τροφίμου.

Η τοποθέτηση στη συσκευασία και ενεργοποίηση των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών θα γίνεται στο δεύτερο στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας, δηλαδή στη Μονάδα Μεταποίησης του κρέατος, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.3. Οι χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες αναλύονται στο επόμενο κεφάλαιο.

Κεφάλαιο 2: Χαρακτηριστικά και ποιότητα κρέατος



Εικόνα 2.3: Ψυκτική αλυσίδα προϊόντων φρέσκου βόειου κρέατος με χρήση χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

3.1 Εισαγωγή

Η σύγχρονη προσέγγιση των υπό ανάπτυξη συστημάτων διασφάλισης ποιότητας, τόσο από πλευράς των παραγωγών όσο και από πλευράς καταναλωτών, εστιάζεται στην πρόληψη μέσω της καταγραφής και ελέγχου των κρίσιμων παραμέτρων των τροφίμων σε όλο τον κύκλο της ζωής τους από την παραγωγή ως την τελική χρήση τους (Koutsoumanis *et al.*, 2005). Με τη θερμοκρασία να αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα που καθορίζει το ρυθμό υποβάθμισης ενός τροφίμου, και άρα την τελική ποιότητα του προϊόντος, ένα αποτελεσματικό σύστημα διασφάλισης της ποιότητας και της ασφάλειας, όπως αυτό ορίζεται από τις αρχές της Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής (Good Manufacturing Practices) και Ορθής Υγιεινής Πρακτικής (Good Hygiene Practices), καθιστά ως κεντρικό στόχο την καταγραφή και τον έλεγχο της κρίσιμης αυτής παραμέτρου σε όλη την αλυσίδα (Taoukis και Labuza, 2003, Taoukis 2001).

Το ιδανικό σύστημα ελέγχου της θερμοκρασίας θα πρέπει να είναι αποτελεσματικό και φθηνό, ενώ θα πρέπει να «συνοδεύει» με κάποιο τρόπο το προϊόν σε όλη του την πορεία κατά μήκος της ψυκτικής αλυσίδας, δηλαδή από την στιγμή της παραγωγής του μέχρι την κατανάλωσή του. Ακόμα, είναι απαραίτητη η συστηματική μελέτη και μοντελοποίηση της εξάρτησης της διάρκειας ζωής από τη θερμοκρασία. Οι **χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ** αποτελούν μια πρακτική και αποτελεσματική λύση στο πρόβλημα. Μάλιστα, με βάση αξιόπιστα μαθηματικά μοντέλα της διάρκειας ζωής ενός τροφίμου και τις κινητικές απόκριση των ΤΠΙ καθίσταται δυνατή η παρακολούθηση, καταγραφή και μετάφραση της επίδρασης της θερμοκρασίας ενός προϊόντος από την παραγωγή μέχρι την κατανάλωσή του.

Η κατάλληλη χρήση των ΤΠΙ μπορεί να συμβάλει στον αποτελεσματικό ποιοτικό έλεγχο της ψυκτικής αλυσίδας εντοπίζοντας τα προβληματικά σημεία που υπάρχουν, και διορθώνοντας ταυτόχρονα τις αδυναμίες όπου αυτό κρίνεται απαραίτητο. Βοηθούν επίσης στον προγραμματισμό της διαχείρισης του συστήματος αποθήκευσης και διανομής των προϊόντων, αποδεσμεύοντας προς τα σημεία λιανικής πώλησης, πρώτα τις μονάδες των προϊόντων που βρίσκονται προς το τέλος της διάρκειας ζωής, μειώνοντας τις απώλειες από το κόστος των απορριπτόμενων λόγω αλλοίωσης τροφίμων. Τέλος, μπορούν να λειτουργήσουν συμπληρωματικά ή να αντικαταστήσουν την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης, ως μια νέου τύπου “δυναμική” ημερομηνία λήξης, παρέχοντας πληροφορίες για την εναπομένουσα διάρκεια ζωής των προϊόντων και διασφαλίζοντας ότι ο καταναλωτής θα αγοράσει προϊόντα συγκεκριμένης ποιότητας (Taoukis και Labuza, 1989a,b, 2003).

Στηριζόμενοι σε αξιόπιστα μοντέλα για την εκτίμηση της διάρκειας ζωής των προϊόντων τροφίμων, και των κινητικών των αποκρίσεων του ΤΤΙ, είναι δυνατή η παρακολούθηση, η καταγραφή και η μετάφραση της θερμοκρασιακής επίδρασης, από το στάδιο της παραγωγής ως τη στιγμή που το προϊόν θα φτάσει στο τραπέζι του καταναλωτή (Ταουκίς και Labuza, 2003). Η αποτελεσματικότητα και η αξιοπιστία ενός ΤΤΙ εξαρτάται από τα κινητικά χαρακτηριστικά της απόκρισής του και πόσο καλά η θερμοκρασιακή εξάρτηση του ρυθμού εμφάνισης ή μεταβολής της απόκρισης αυτής προσεγγίζει την επίδραση της θερμοκρασίας στην αντίδραση της ποιοτικής υποβάθμισης του τροφίμου (χημικής, φυσικής ή φυσικοχημικής φύσης).

3.2 Ορισμός, αρχή λειτουργίας και κατηγοριοποίηση των ΤΤΙ

3.2.1 Ορισμός και αρχή λειτουργίας των ΤΤΙ

Ένας **χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης ή ολοκληρωτής ΤΤΙ (Time – Temperature Indicator or Integrator)** ορίζεται ως μια απλή, χαμηλού κόστους συσκευή, η οποία μπορεί να δείξει εύκολα μια μετρήσιμη μεταβολή εξαρτώμενη από το χρόνο και τη θερμοκρασία και η οποία αντικατοπτρίζει το πλήρες ή μερικό θερμοκρασιακό προφίλ του τροφίμου, στο οποίο είναι προσαρμοσμένη (Ταουκίς and Labuza, 1989a).

Η αρχή λειτουργίας των ΤΤΙ στηρίζεται σε κάποια μηχανική, χημική, ηλεκτροχημική, ενζυμική ή μικροβιολογική μη αντιστρεπτή μεταβολή η οποία εκφράζεται ως μια ορατή απόκριση, με τη μορφή κάποιας μηχανικής παραμόρφωσης, ή μετακίνηση κάποιας οπτικής ένδειξης, ή εμφάνισης - αλλαγής χρώματος. Ο ρυθμός της μεταβαλλόμενης απόκρισης επηρεάζεται από τη θερμοκρασία σημειώνοντας μεγαλύτερες τιμές για τις υψηλότερες θερμοκρασίες. Η ορατή απόκριση υποδεικνύει τη συνολική έκθεση του ΤΤΙ στις συνθήκες συντήρησης.

3.2.2. Κατηγοριοποίηση των ΤΤΙ

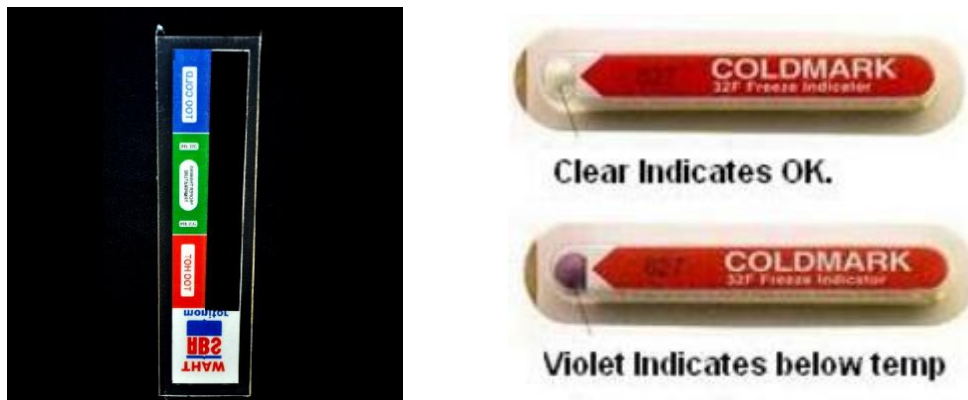
Η έκταση στην οποία ανταποκρίνεται η απόκριση του ΤΤΙ στο πραγματικό χρονο-θερμοκρασιακό ιστορικό εξαρτάται από τον τύπο του δείκτη και τις φυσικοχημικές αρχές στις οποίες στηρίζεται η λειτουργία του. Συνεπώς, οι χρονο - θερμοκρασιακοί δείκτες διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με τη λειτουργικότητά τους, δηλαδή τις πληροφορίες που καταγράφουν και παρέχουν, ή βάσει της αρχής λειτουργίας τους. (Βαϊκούση, 2009)

3.2.2.1 Κατηγοριοποίηση με βάση τη λειτουργικότητά των ΤΤΙ

Η επικρατέστερη από τις ταξινομήσεις που έχουν γίνει κατά καιρούς είναι αυτή που προτάθηκε από τους Ταουκίς and Labuza (2003) και παρουσιάζεται παρακάτω:

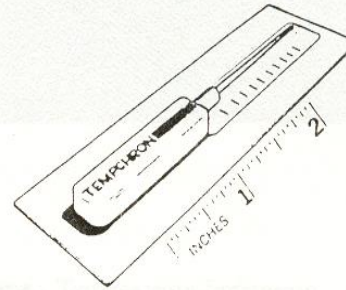
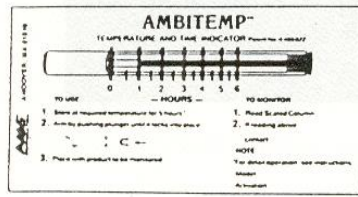
- **Δείκτες Κρίσιμης Θερμοκρασίας (Critical Temperature Indicators, CTI):** Οι δείκτες αυτοί δίνουν απόκριση όταν η θερμοκρασία είναι πάνω ή κάτω από μία συγκεκριμένη θερμοκρασία αναφοράς. Περιλαμβάνουν ένα στοιχείο του χρόνου (της τάξεως των

λεπτών ή λίγων ωρών) αλλά δε δείχνουν το ιστορικό έκθεσης πάνω ή κάτω από τη θερμοκρασία αναφοράς. Οι δείκτες αυτοί απλώς μας πληροφορούν ότι το τρόφιμο εκτέθηκε σε ακατάλληλη θερμοκρασία για χρονικό διάστημα τέτοιο, που υποβάθμισε την ποιότητά του ή την ασφάλειά του. Ακόμα, μπορούν να προειδοποιήσουν σε περιπτώσεις όπου διάφορες είτε φυσικοχημικές, είτε βιολογικές αντιδράσεις εμφανίζουν κάποια ασυνεχή αλλαγή στο ρυθμό τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων περιπτώσεων είναι η μη αντιστρεπτή αλλοίωση της υφής, που λαμβάνει χώρα όταν πραγματοποιείται αλλαγή φάσης όπως για παράδειγμα κατά την απόψυξη ή την κατάψυξη. Τέλος, ιδιαίτερα χρήσιμοι είναι αυτοί οι δείκτες σε περίπτωση, όπου πάνω από μία θερμοκρασία (κρίσιμη θερμοκρασία) πραγματοποιείται μετουσίωση κάποιας πρωτεΐνης ή εμφανίζεται κάποιος επικίνδυνος παθογόνος μικροοργανισμός (Εικόνα 3.1). Οι δείκτες Monitor™ Thraw και Monitor™ Freeze, οι οποίοι έχουν κατασκευαστεί από την Packaging Division/3M™ με έδρα τη Μινεσότα, αποτελούν παραδείγματα δεικτών κρίσιμης θερμοκρασίας.



Εικόνα 3.1: Παραδείγματα Δεικτών Κρίσιμης Θερμοκρασίας (CTI)

- **Ολοκληρωτές Κρίσιμης Θερμοκρασίας/Χρόνου (Critical Temperature/Time Integrators, CTTI):** Η απόκριση των συγκεκριμένων δεικτών αντικατοπτρίζει τη συνολική (αθροιστική) έκθεση πέρα από τα όρια μίας κρίσιμης θερμοκρασίας αναφοράς. Η απόκριση αυτή είναι δυνατό να μεταφραστεί σε ισοδύναμο χρόνο έκθεσης στην κρίσιμη θερμοκρασία. Χρησιμοποιούν ως ένδειξη προβλημάτων στην αλυσίδα διακίνησης προϊόντων καθώς και σε περιπτώσεις όπου πέρα από την κρίσιμη θερμοκρασία τίθενται σε εφαρμογή αντιδράσεις επιζήμιες για την ποιότητα ή την ασφάλεια κάποιων τροφίμων. Τέτοιες αντιδράσεις μπορεί να είναι η μικροβιακή ανάπτυξη ή η δραστικότητα των ενζύμων, που παρεμποδίζονται κάτω από τα όρια της κρίσιμης θερμοκρασίας. Είναι επίσης δυνατή η συνδυαστική χρήση CTTI, που μπορούν έτσι να δώσουν μια διακριτή προσέγγιση του χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ. Παράδειγμα αποτελούν οι δείκτες Ambitemp και Tempchron του Andover Labs (Εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2: Οι δείκτες Ambitemp και Tempchron του Andover Labs

- **Χρονο-θερμοκρασιακοί Ολοκληρωτές ή Δείκτες (Time Temperature Indicators or Integrators):** Οι δείκτες T.T.I. (Time Temperature Integrators) ή T.T.M. (Time Temperature Monitors) δίνουν μία συνεχή απόκριση, που εξαρτάται από το θερμοκρασιακό ιστορικό του προϊόντος. Ολοκληρώνουν, σε μία μόνο μέτρηση, το συνολικό χρονο-θερμοκρασιακό ιστορικό του τροφίμου και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ώστε να δείξουν μία μέση θερμοκρασία διακίνησης του τροφίμου. Οι δείκτες αυτοί είναι δυνατό να συσχετισθούν με συνεχείς εξαρτώμενες από τη θερμοκρασία αντιδράσεις υποβάθμισης της ποιότητας των τροφίμων.

3.2.2.2 Κατηγοριοποίηση με βάση την αρχή λειτουργίας των ΤΤΙ

Με βάση την αρχή λειτουργίας τους οι δείκτες κατηγοριοποιούνται σε:

- Μηχανικούς Δείκτες
- Χημικούς Δείκτες
- Βιοχημικούς Δείκτες
- **Φωτοχημικούς Δείκτες**
- **Ενζυμικούς Δείκτες**
- Μικροβιολογικούς Δείκτες
- Πολυμερικούς Δείκτες
- Ηλεκτροχημικούς Δείκτες
- Δείκτες Διάχυσης

3.3 Χαρακτηριστικά ενός ιδανικού ΤΤΙ

Η αποτελεσματικότητα ενός ΤΤΙ προϋποθέτει ότι ο δείκτης είναι ικανός να δείχνει μία συνεχή αλλαγή, ο ρυθμός της οποίας αυξάνεται με τη θερμοκρασία και ο οποίος δεν αντιστρέφεται όταν η θερμοκρασία μειώνεται (Ταουκίς, 2001, Ταουκίς και Labuza, 2003). Μεγάλος είναι επίσης και ο αριθμός των επιθυμητών φυσικών ιδιοτήτων για έναν επιτυχημένο δείκτη. Αναλυτικότερα, ένας ιδανικός ΤΤΙ πρέπει να έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά (Ταουκίς, 2001, Ταουκίς και Labuza, 2003):

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΤΙ

1. Να εμφανίζει μια συνεχή, χρονο-θερμοκρασιακά εξαρτώμενη αλλαγή.
2. Η αλλαγή να εκφράζεται ως μία απόκριση εύκολα μετρήσιμη και μη αντιστρεπτή.
3. Η αλλαγή αυτή να μιμείται ή να μπορεί να συσχετιστεί με το βαθμό ποιοτικής αλλοίωσης του τροφίμου και την εναπομένουσα διάρκεια ζωής του.
4. Να είναι αξιόπιστος και να δίνει σταθερές αποκρίσεις όταν εκτίθεται στις ίδιες θερμοκρασιακές συνθήκες.
5. Να έχει χαμηλό κόστος.
6. Να είναι ευέλικτος, έτσι ώστε οι διαφορετικές μορφές του να μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορα θερμοκρασιακά διαστήματα (π.χ. ψύξη, κατάψυξη, θερμοκρασία δωματίου) με χρήσιμες περιόδους απόκρισης από μερικές μέρες μέχρι και περισσότερο από ένα χρόνο.
7. Να είναι μικρός, εύκολα προσαρμόσιμος ως τμήμα της συσκευασίας του τροφίμου και συμβατός με μια διεργασία συσκευασίας υψηλής ταχύτητας.
8. Να έχει μεγάλη διάρκεια ζωής πριν την ενεργοποίηση και να ενεργοποιείται εύκολα.
9. Να μην επηρεάζεται από τις υπόλοιπες περιβαλλοντικές συνθήκες πέραν της θερμοκρασίας, όπως το φως, ρυπαντές του αέρα και σχετική υγρασία (RH).
10. Να είναι ανθεκτικός σε φυσιολογικές μηχανικές καταπονήσεις χωρίς να επηρεάζεται η απόκρισή του.
11. Να είναι μη τοξικός και στην απίθανη περίπτωση επαφής του με το τρόφιμο να μην περικλείει κινδύνους.
12. Να είναι σε θέση να μεταφέρει με απλό και ξεκάθαρο τρόπο το μήνυμα στον καταναλωτή ή σε οποιοδήποτε άλλον ενδιαφερόμενο.
13. Η απόκρισή του να είναι οπτικά κατανοητή και να μπορεί να μετρηθεί εύκολα από ηλεκτρονικές συσκευές έτσι ώστε οι πληροφορίες να λαμβάνονται, να αποθηκεύονται και να μεταδίδονται εύκολα και γρήγορα.

Όπως είναι κατανοητό, είναι πολύ δύσκολο κάποιος ΤΤΙ να ικανοποιεί σε απόλυτο βαθμό όλες τις προδιαγραφές που αναφέρθηκαν παραπάνω. Ωστόσο, οι ΤΤΙ που έχουν αναπτυχθεί μέχρι στιγμής και που χρησιμοποιούνται σε διάφορες εφαρμογές ή επιστημονικές μελέτες πληρούν αρκετά από τα χαρακτηριστικά αυτά και η χρησιμοποίησή τους κρίθηκε επιτυχής (Ταουκίς, 2001).

3.4 Ιστορική πορεία των ΤΤΙ

Η εκκίνηση των προσπαθειών για τη δημιουργία ενός αποτελεσματικού και χαμηλού κόστους δείκτη σηματοδοτήθηκε όταν έγινε προφανής η μεγάλη σημασία που έχουν οι θερμοκρασιακές μεταβολές στη τελική ποιότητα των τροφίμων. Αρχικά, το ενδιαφέρον εστιάστηκε στα κατεψυγμένα τρόφιμα. Η πρώτη εφαρμογή "συσκευής" που να δείχνει πιθανή κακομεταχείριση τροφίμου, χρονολογείται ήδη από το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο. Συγκεκριμένα, ομάδες εφοδιαστών του στρατού τοποθετούσαν ένα κομμάτι πάγου σε κάθε

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

συσκευασία κατεψυγμένου τροφίμου. Πιθανή εξαφάνιση του πάγου μεταφραζόταν ως κακή μεταχείριση του τροφίμου (Schoen and Byrne, 1972). Ο πρώτος “πατενταρισμένος” δείκτης δημιουργήθηκε από τον Midgley το 1933 και από τότε έχουν εκδοθεί πάνω από εκατό διαφορετικές πατέντες (αμερικάνικες και διεθνείς) οι οποίες σχετίζονται με τους χρονο-θερμοκρασιακούς δείκτες. Ο Byrne το 1976 έκανε μια γενική επισκόπηση των αρχικών δεικτών και το 1989 ο Ταουκίς έκανε μια λεπτομερή παρουσίαση των ΤΠΙ. Το 1991 ο Ταουκίς παρέθεσε σε πίνακα πατέντες ΤΠΙ, τα οποία είχαν πρωτοεμφανιστεί από το 1976, εκσυγχρονίζοντας με αυτό τον τρόπο μια ήδη δημοσιευμένη λίστα. Στον Πίνακα 3.1 παρουσιάζονται αξιόλογες πατέντες ΤΠΙ, οι οποίες έχουν ταξινομηθεί με βάση τον τύπο και την αρχή λειτουργίας του ΤΠΙ.

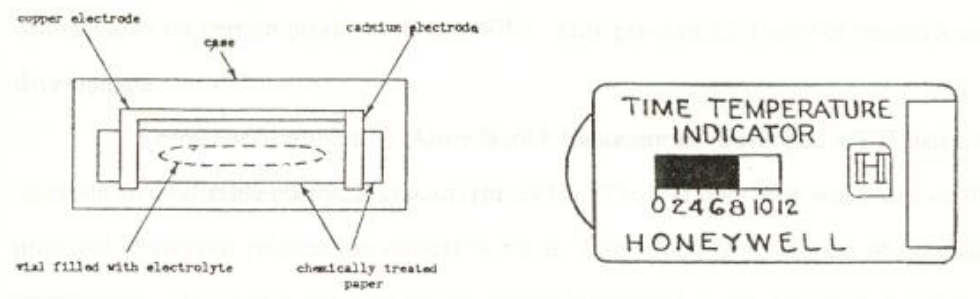
Πίνακας 3.1: Διάφορα συστήματα ΤΠΙ ταξινομημένα με βάση τον τύπο και τον τρόπο απόκρισης.

Χρονολογία	Εφευρέτης	Αρχή λειτουργίας
1991	Jalinski, T.J.	Χημικός (ΤΠΙ)
1991	Jalinski, T.J.	Χημικός (ΤΠΙ)
1991	Thierry, A.	Χημικός (CTI)
1991	Swartzel, K.R.	Φυσικοχημικός (ΤΠΙ)
1992	Jalinski, T.J.	Χημικός (CTI)
1993	Veitch, R.J.	Φυσικοχημικός (ΤΠΙ)
1993	Loustaunau, A.	Φυσικός (CTI)
1994	Loustaunau, A.	Φυσικός (CTI)
1994	Veitch, R.J.	Φυσικοχημικός (CTI)
1995	Prusik, T.	Φυσικοχημικός (ΤΠΙ)
1996	Cannelongo, J.F.	Φυσικός (CTI)
1996	Veitch, R.J.	Φυσικός (CTI)
1997	Arens R. et al.	Φυσικοχημικός (ΤΠΙ)
1997	Schneider, N.	Φυσικός (CTI)
1999	Simons, M.J.	Φυσικοχημικός (CTI)
2000	Schaten, B.B.	Φυσικός (CTI)
2000	Leak & Rönnow	Ενζυμικός (ΤΠΙ)
2000	Prusik, T.	Φυσικός (CTΠΙ)

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΤΙ

2000	Ram, A.T.	Χημικός (ΤΤΙ)
2000	Bray, A.V.	Φυσικός (ΤΤΙ)
2001	Simons, M.J.	Φυσικοχημικός (ΤΤΙ)
2001	Qiu, J.	Φυσικοχημικός(ΤΤΙ)
2002	Qiu, J.	Φυσικοχημικός (ΤΤΙ)
2003	Haarer D.	Φυσικοχημικός (ΤΤΙ)
2005	Bauer & Knorr	Pressure ΤΤΙ (ΡΤΤΙ)
2006	Ciba & Fresh Point Coorporation	Φωτοχημικός (ΟnVu ΤΤΙ)
2008	Sun	Amylase type ΤΤΙ

Ο πρώτος εμπορικά διαθέσιμος χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης ΤΤΙ δημιουργήθηκε από την Honeywell Corp. (Mineapolis, MN) (Renier and Morin, 1962). Αναλύθηκε από το USDA στο Εργαστήριο Ερευνών Δυτικής Περιφέρειας και κρίθηκε αξιόπιστος (Guadagni DG, 1963). Παρ' όλα αυτά το συγκεκριμένο ΤΤΙ (Εικόνα 3.3) δε διατέθηκε ευρέως στην αγορά πιθανότατα λόγω του υψηλού κόστους του αλλά και του μεγάλου όγκου του.



Εικόνα 3.3: Αναλυτική και γενική εικόνα του Honeywell ΤΤΙ

Στο συγκεκριμένο ΤΤΙ, με άσκηση υψηλής πίεσης στο φιαλίδιο του ηλεκτρολύτη – που είναι ιδιαίτερα εύθραυστο – απελευθεωνόταν διάλυμα, το οποίο απορροφούσε ένα ειδικά επεξεργασμένο στυπόχαρτο. Με αυτό τον τρόπο λάμβανε χώρα η ενεργοποίηση του δείκτη και ουσιαστικά δημιουργούταν ένα ηλεκτρολυτικό κελί. Στην πρώτη άκρη του χάλκινου ηλεκτροδίου εμφανιζόταν ένα κόκκινο σημάδι, το οποίο συνέπιπτε με την ένδειξη "0" της κλίμακας. Η κίνηση της κόκκινης αυτής ένδειξης κατά μήκος της κλίμακας γινόταν κατά τρόπο (ρυθμό) εξαρτώμενο από τη θερμοκρασία. Ουσιαστικά, λάμβαναν χώρα οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις.

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

Οι ημιαντιδράσεις που πραγματοποιούνταν ήταν οι εξής:



Τα παραγόμενα υδροξύλια (OH⁻) της καθόδου μετέβαλλαν το χρώμα του ειδικά επεξεργασμένου στυπόχαρτου από κόκκινο σε κίτρινο.

Στις αρχές της δεκαετίας του '70, η κυβέρνηση των Η.Π.Α. έκρινε επιτακτική τη χρήση δεικτών σε ορισμένα προϊόντα (OTA 1979), γεγονός που οδήγησε στην εντατικοποίηση των ερευνητικών δραστηριοτήτων γύρω από τον τομέα των δεικτών. Η ερευνητική ομάδα στα εργαστήρια του στρατού στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (U.S. Army Natick Laboratories) κατασκεύασε ένα δείκτη ΤΠΙ, η λειτουργία του οποίου βασιζόταν στην αλλαγή χρώματος ενός κατά την οξείδωση χημικού συστήματος (Hu, 1972). Συγκεκριμένα στο δείκτη αυτό, οξυγόνο διείσδυε μέσα από πλαστική μεμβράνη με ρυθμό εξαρτώμενο από τη θερμοκρασία και το χρόνο. Το εσωτερικό της πλαστικής μεμβράνης περιείχε το αντιδρών σύστημα. Έτσι με την εισβολή του οξυγόνου στο εσωτερικό της μεμβράνης λάμβανε χώρα αντίδραση οξείδωσης, η έκταση της οποίας εξαρτόταν από την ποσότητα του οξυγόνου που διαπερνούσε τη μεμβράνη. Συνεπώς, ουσιαστικά η πορεία της οξείδωσης ελεγχόταν από τη θερμοκρασία και το χρόνο. Αρχικά το διάλυμα είχε βαθύ κόκκινο χρώμα, το οποίο σταδιακά λόγω της εξέλιξης της αντίδρασης γινόταν άχρωμο. Σημειώνεται ότι η περίοδος απόκρισης του συστήματος αλλά και η εξάρτηση από τη θερμοκρασία υπολογίστηκαν για μία πληθώρα πολυμερικών μεμβρανών. Από τη μελέτη διαφορετικών μεμβρανών προέκυψε ότι το πολυαιθυλένιο ήταν το πλέον κατάλληλο για τα μισά στρατιωτικά σιτηρέσια με γνωστή διάρκεια ζωής και το νάιλον-6 για τα άλλα μισά. Η χρήση του δείκτη αυτού θεωρήθηκε απαραίτητη από τον Killoran το 1976, αφού δοκιμάστηκε για δύο χρόνια. Μάλιστα, το ΤΠΙ είχε παραχθεί μαζικά από την Artech Corp. (Falls Church, VA).

Έως το 1976 έξι εταιρείες κατασκεύαζαν θερμοκρασιακούς δείκτες τουλάχιστον σε στάδιο πρωτοτύπων. Οι δείκτες Artech, Check Spot Co (Vancouver, WA) (US patent 2,971,852) και Tempil (S. Plainfield, NJ) χαρακτηρίστηκαν ως CTI δείκτες ενώ οι δείκτες I-Point (Malmö, Sweden), Bio-Medical Sciences (Fairfield, NJ) (US patents 3,946,611 και 4,042,336) και οι 3M Co. (St. Paul, MN) χαρακτηρίστηκαν ως ΤΠΙ δείκτες. Ο δείκτης Tempil μπορούσε να λειτουργήσει ως CTTI δείκτης. Η έκθεση του δείκτη αυτού πάνω από την κρίσιμη θερμοκρασία προκαλούσε μεταβολή σε κόκκινο χρώμα και επακόλουθη μετακίνηση. Ο δείκτης I-Point ήταν ένας ενζυμικός δείκτης και ο 3M ένας χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης διάχυσης.

Έως το τέλος της δεκαετίας του '70, παρ' όλη την ανάπτυξη δεικτών από διάφορες εταιρείες, πολύ μικρή εμπορική εφαρμογή των ΤΠΙ είχε πραγματοποιηθεί. Μάλιστα, η ερευνητική δραστηριότητα γύρω από τους δείκτες γνώρισε κάμψη στα τέλη της δεκαετίας αυτής, παρατηρούμενη από τη μείωση των δημοσιεύσεων με θέμα τους δείκτες ΤΠΙ και τη μείωση των νέων μοντέλων δεικτών. Ωστόσο, η έρευνα για τη βελτίωση των χαρακτηριστικών και των ιδιοτήτων των δεικτών συνεχίστηκε με επακόλουθο στις αρχές της δεκαετίας του '80

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΤΙ

τέσσερις τύποι δεικτών να είναι εμπορικά διαθέσιμοι συμπεριλαμβανομένων του I-Point και του 3M-ΤΤΙ.







Εικόνα 3.4: Εμπορικά διαθέσιμοι δείκτες στα τέλη του 1980

3.5 Σύγχρονα συστήματα ΤΤΙ

Ένας μεγάλος αριθμός από εμπορικούς πρότυπους χρονο-θερμοκρασιακούς δείκτες έχει αναπτυχθεί. Η συνήθης λειτουργία αυτών όπως καταγράφεται στη βιβλιογραφία βασίζεται σε αρχές μοριακής διάχυσης, αντιδράσεις πολυμερισμού, αντίδραση μεταφοράς ριζών, ενζυμικές μεταβολές και μικροβιακές μεταβολές (Kerry *et al.*, 2006, Taoukis και Labuza 2003, Taoukis 2001). Στον επόμενο Πίνακα παρουσιάζονται οι πιο συνηθισμένοι τύποι ΤΤΙ και οι βασικές πληροφορίες για τον καθένα.

Πίνακας 3.2: Οι πιο συνηθισμένοι τύποι ΤΠΙ και οι βασικές πληροφορίες για τον καθένα

Τύπος ΤΠΙ	Παράδειγμα ΤΠΙ	Αρχή λειτουργίας	Απόκριση
Μοριακής διάχυσης		Διάχυση ενός ιξωδοελαστικού υλικού σε μια φωτο-αντανάκλαστική πορώδη μήτρα <u>Ενεργοποίηση:</u> Αφαίρεση του φιλμ μεταξύ του πολυμερούς και της μήτρας	Σταδιακή μεταβολή της διαπερατότητας του φωτός μέσα από την πορώδη μήτρα
Πολυμερισμού		Αντίδραση πολυμερισμού, που λαμβάνει χώρα σε στερεή φάση	Μεταβολή του χρώματος (αποχρωματισμός εικόνας)
Χημικοί-Φυσικοί		Κάποια φυσικοχημική αντίδραση <u>Ενεργοποίηση:</u> Τοποθέτηση της ταινίας ενεργοποίησης πάνω στον δείκτη	Μεταβολή του χρώματος ή αποχρωματισμός εικόνας
Φωτοχημικοί		Αντίδραση μεταφοράς ριζών <u>Ενεργοποίηση:</u> Έκθεση του δείκτη σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV)	Μεταβολή του χρώματος από σκούρο μπλε σε ανοιχτό γκρι
Μικροβιολογικοί		Μείωση του pH ως αποτέλεσμα της ανάπτυξης γαλακτικών βακτηρίων	Μεταβολή του χρώματος (από πράσινο σε φούξια) ή αποχρωματισμός εικόνας
Ενζυμικοί		Μείωση του pH ως αποτέλεσμα ελεγχόμενης ενζυμικής υδρόλυσης <u>Ενεργοποίηση:</u> Ρήξη του φράγματος μεταξύ ενζύμου – υποστρώματος και ανάμιξη των δύο	Μεταβολή του χρώματος από πράσινο σε κίτρινο ή κόκκινο

Στη συνέχεια αναλύονται οι παραπάνω τύποι ΤΠΙ και δίνονται κάποια παραδείγματα δεικτών που κυκλοφορούν αυτή τη στιγμή στο εμπόριο.

3.5.1 Δείκτες μοριακής διάχυσης

Η εταιρία 3M Co, ανέπτυξε το δείκτη 3M Monitor και το δείκτη Freshness Check, με αρχή λειτουργίας τη μοριακή διάχυση. Μια από τις πιο σημαντικές εφαρμογές αυτού του δείκτη ήταν η χρήση του από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), ώστε να παρακολουθήσει τις κατεψυγμένες παρτίδες των εμβολίων (refrigerated vaccine shipments).

Στον πρώτο δείκτη συμβαίνει μοριακή διάχυση ενός χρωματισμένου εστέρα πάνω σε ένα πορώδες φυτίλι. Η μετατόπιση της διαχεόμενης ουσίας γίνεται ορατή μέσω ανοιγμάτων κατά μήκος του φυτιλιού ή μετριέται σε κατάλληλη κλίμακα όταν όλο το μήκος του φυτιλιού είναι ορατό. Η διάχυση αρχίζει την εξέλιξή της όταν η θερμοκρασία συντήρησης του προϊόντος ξεπεράσει τη θερμοκρασία τήξης του εστέρα, οπότε μεταβάλλοντας τον τύπο και τη συγκέντρωση του εστέρα είναι δυνατή η επίτευξη διαφορετικών σημείων τήξεως. Ο δείκτης αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε ως ένας CΤΠΙ, όταν η κρίσιμη θερμοκρασία είναι ίδια με το σημείο τήξεως του εστέρα, είτε ως ένας ΤΠΙ αν το σημείο τήξεως είναι χαμηλότερο από το θερμοκρασιακό εύρος στο οποίο συνήθως συντηρείται το τρόφιμο.

Όμοια, στο δείκτη Freshness Check, ένα ιξωδοελαστικό υλικό μεταναστεύει μέσω διάχυσης σε κάποια πορώδη μήτρα που ανακλά το φως προκαλώντας σταδιακά μια ορατή και θερμοκρασιακά εξαρτώμενη αύξηση της διαπερατότητας του πορώδους υλικού στο φως. Ο ρυθμός μεταβολής της απόκρισης και η θερμοκρασιακή εξάρτηση ελέγχεται από τη σύνθεση του πορώδους υλικού, τη συγκέντρωση του πολυμερούς που διαχέεται και τη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης



Εικόνα 3.5: Δείκτης διάχυσης 3M Monitor Mark

3.5.2 Πολυμερικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες

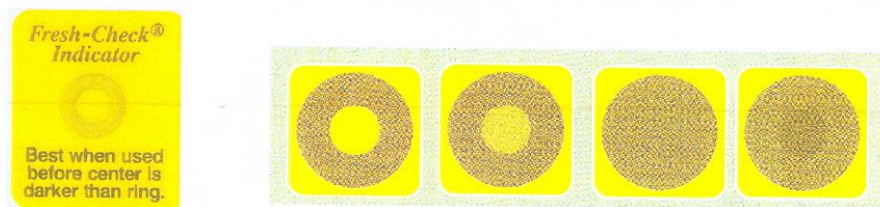
Οι δείκτες της εταιρίας Lifelines Inc., (Lifelines Technology Inc., Morris Palins, NJ, USA) Lifelines Fresh-Check και Freshness Monitor®, βασίζουν τη λειτουργία τους σε αντιδράσεις πολυμερισμού. Η συγκεκριμένη αντίδραση που εξαρτάται από τη θερμοκρασία συμβαίνει σε δις-υποκατεστημένους κρυστάλλους διακετυλενίου οι οποίοι πολυμερίζονται σε ένα πολυμερές σκούρου χρώματος. Κατά τον πολυμερισμό, διατηρείται η κρυσταλλική δομή του μονομερούς, ενώ οι κρύσταλλοι του πολυμερούς παραμένουν ενωμένοι σε μια αλυσίδα διατηρώντας τη μονοδιάστατη φύση τους σε ότι αφορά τις οπτικές τους ιδιότητες. Ως

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

απόκριση του ΤΠΙ, λαμβάνεται η μεταβολή του χρώματος που μετριέται με τη μείωση της διάθλασης του φωτός.

Ο δείκτης Freshness Monitor, αποτελείται από ένα ορθογώνιο κομμάτι συνενωμένων φύλλων χαρτιού το μπροστινό μέρος του οποίου περιλαμβάνει μια ταινία που φέρει λεπτή επικάλυψη από το άχρωμο μονομερές του διακετυλενίου και δύο barcodes, ένα για το προϊόν και ένα για την αναγνώριση του μοντέλου του δείκτη. Η διάθλαση του Freshness Monitor μπορεί να μετρηθεί με σάρωση μέσω μιας οπτικής συσκευής που λειτουργεί με laser, και το αποτέλεσμα της σάρωσης αποθηκεύεται σε μια φορητή συσκευή, προμήθεια της εταιρίας που παράγει το ΤΠΙ.

Ο δεύτερος τύπος δείκτη, Fresh-Check®, που έχει σχεδιαστεί κατάλληλα για τους καταναλωτές είναι στρόγγυλος και το χρώμα του ενεργού κέντρου συγκρίνεται με το χρώμα αναφοράς ενός περιβάλλοντος δακτυλίου. Τα συνενωμένα φύλλα φέρουν κίτρινο ή κόκκινο χρώμα με αποτέλεσμα η μεταβολή της απόκρισης του δείκτη να εμφανίζεται ως μεταβολή από το διαφανές στο μαύρο. Η απόκριση του Fresh-Check μπορεί να αξιολογηθεί σε σύγκριση με το δακτύλιο αναφοράς, κατά τη μέτρηση με ένα φορητό χρωματόμετρο ή ένα οπτικό πυκνόμετρο. Πριν τη χρήση τους, οι δείκτες που ενεργοποιούνται τη στιγμή της παραγωγής, πρέπει να αποθηκεύονται σε βαθιά κατάψυξη, όπου οι αλλαγές συμβαίνουν με πολύ αργό ρυθμό (Taoukis, 2001, Taoukis and Labuza, 2003).

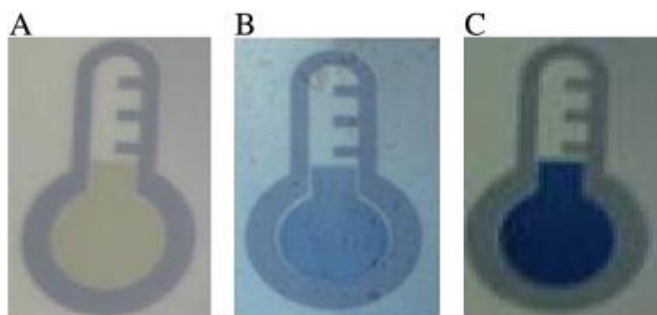


Εικόνα 3.6: Δείκτης Fresh-Check

3.5.3 Χημικοί – Φυσικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες

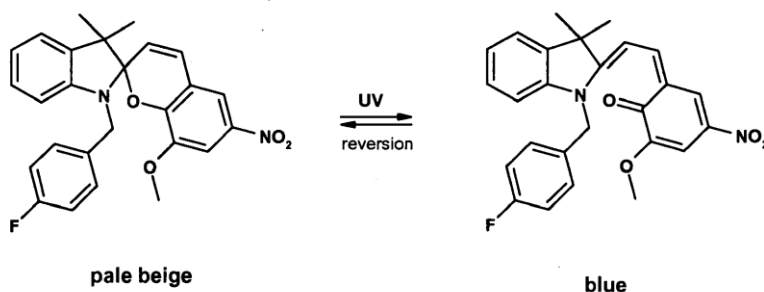
- Φωτοχημικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες

Ο OnVu είναι ένας φωτοχημικός ΤΠΙ που δημιουργήθηκε από ερευνητές της ελβετικής εταιρίας **Ciba** σε συνεργασία με ερευνητική ομάδα της εταιρίας **Freshpoint** (D. Haarer, Y. Eichen αριθμός πατέντας WO 99/39197). Ο δείκτης αυτός ενεργοποιείται ύστερα από έκθεσή του σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV) για χρονικό διάστημα μερικών δευτερολέπτων (Εικόνα 3.7)



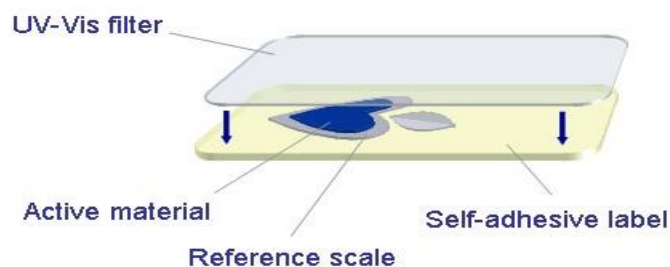
Εικόνα 3.7: Φωτοχημικός δείκτης OnVu, όπου (C) ο δείκτης αμέσως μετά την ενεργοποίησή του με UV, (B) λίγο πριν λήξει και (A) μετά τη λήξη του.

Φωτοευαίσθητες ενώσεις, όπως βενζυλοπυριδίνες, που βρίσκονται στο πολυμερικό κρύσταλλο του ΤΠΙ, διεγείρονται και από μπεζ χρώμα, αποκτούν έντονο μπλε χρωματισμό με την έκθεση του δείκτη σε χαμηλά μήκη φωτός (UV), ως αποτέλεσμα της αντίδρασης μεταφοράς ριζών (Εικόνα 3.8). Το εσωτερικό του μήλου έχει έντονο μπλε χρωματισμό αμέσως μετά την ενεργοποίηση, το οποίο σταδιακά φθίνει με χρονο-θερμοκρασιακά εξαρτώμενο ρυθμό έως ότου γίνει σχεδόν λευκό κατά το πέρας της φωτοχημικής αντίδρασης.



Εικόνα 3.8: Αντίδραση μεταφοράς ριζών έπειτα από έκθεση σε UV

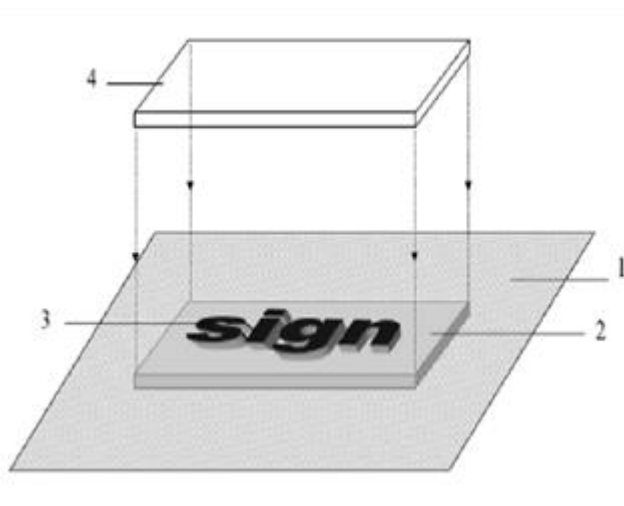
Μετά την ενεργοποίηση ο φωτοχημικός δείκτης OnVu δεν πρέπει να επηρεάζεται από την υπεριώδη ακτινοβολία του περιβάλλοντος στην οποία εκτίθεται, καθώς μπορεί να ξανά-ενεργοποιηθεί, αλλά μόνο από την θερμοκρασία δείχνοντας το χρονο-θερμοκρασιακό ιστορικό στο οποίο έχει εκτεθεί. Γι' αυτό το λόγο τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται ο φωτοχημικός δείκτης OnVu με ειδικό UV-Vis φίλτρο (Εικόνα 3.9).



Εικόνα 3.9: Φωτοχημικός δείκτης OnVu με φίλτρο

- **Χημικός – Χρωματομετρικός χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης**

Το 2008 αναπτύχθηκε ένα νέο, πρωτοποριακό χρωματομετρικό ΤΠΙ, η αρχή λειτουργίας του οποίου στηρίζεται σε μελάνι το οποίο εξαφανίζεται μετά από την πάροδο μιας συγκεκριμένης χρονικής περιόδου (Galagan and Su, 2008). Ο συγκεκριμένος χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης έχει μια πολυστρωματική δομή. Το σχήμα 3.10 απεικονίζει τα στρώματα της κατασκευής του ΤΠΙ, τα οποία περιλαμβάνουν ένα πολυμερικό υπόβαθρο για την εκτύπωση, την εκτυπωμένη ένδειξη καθώς και μια διαφανή πολυμερική επίστρωση πάνω από την ένδειξη. Η ένδειξη

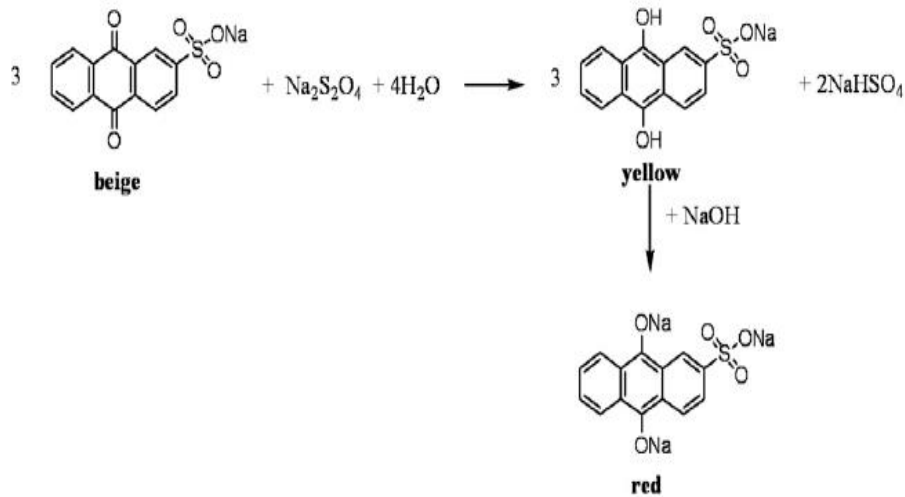


“φρέσκο” μπορεί να εκτυπωθεί σε οποιοδήποτε εύκαμπτο ή άκαμπτο υπόστρωμα.

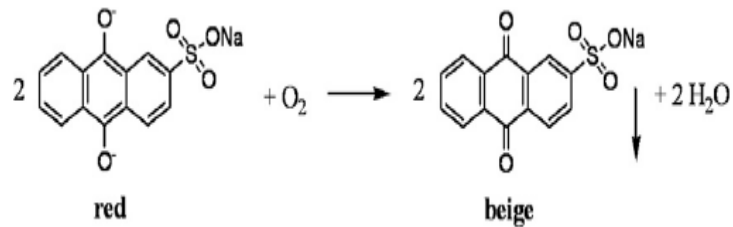
Εικόνα 3.10: Η κατασκευή του χρονο-θερμοκρασιακού δείκτη. (1-υπόστρωμα, 2-υπόβαθρο για εκτύπωση, 3-εκτυπωμένη ένδειξη, 4- διαφανής πολυμερική επίστρωση)

Ο δείκτης περιέχει ένα παράγωγο ανθρακοκινόνης μπεζ χρώματος – sodium anthraquinone β-sulfonate-, το οποίο δύναται να αναχθεί σε έγχρωμα μόρια κόκκινου χρώματος. Στη συνέχεια τα μόρια που έχουν αναχθεί αντιδρούν με οξυγόνο με αποτέλεσμα να χάνουν το έντονο χρώμα τους και να επιστρέφουν στο αρχικό τους. Ο χρόνος οξείδωσης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να υπολογιστούν και να προβλεφθούν. Οι αντιδράσεις αναγωγής και οξείδωσης του συγκεκριμένου δείκτη παρουσιάζονται στις Εικόνες 3.11 και 3.12 αντίστοιχα.

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ



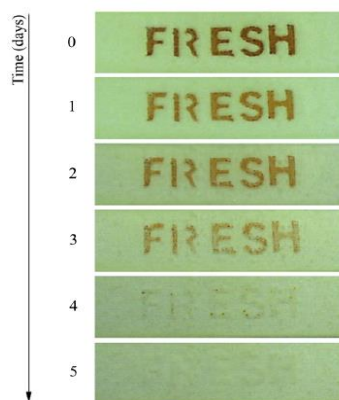
Εικόνα 3.11: Αντίδραση αναγωγής του παραγώγου της ανθρακοκινόνης με όξινοθειώδες νάτριο και υδροξείδιο του νατρίου



Εικόνα 3.12: Αντίδραση οξειδωσης του μελανιού

Ο χρόνος αποχρωματισμού του δείκτη εξαρτάται τόσο από το ρυθμό διάχυσης του οξυγόνου κατά μήκος της πολυακρυλικής προστατευτικής επιστρώσης όσο και από την θερμοκρασία. Κάθε ακρυλική επιστρώση παρουσιάζει διαφορετική διαπερατότητα οξυγόνου, η οποία είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του πολυακρυλικού υλικού.

Στην Εικόνα 3.13 φαίνεται ο αποχρωματισμός του συγκεκριμένου ΤΠΙ με την πάροδο του χρόνου. Η θερμοκρασία αναφοράς είναι 25°C.



Εικόνα 3.13: Αποχρωματισμός του ΤΠΙ στους 25°C

- **Δείκτες τεχνολογίας CoolVu**

Η εταιρία Freshpoint έχει δημιουργήσει το 2012 τους δείκτες CoolVu. Πρόκειται για δείκτες των οποίων η επιφάνεια, αποτελούμενη από ένα λεπτό στρώμα αλουμινίου, διαλύεται (χάραξη) με την πάροδο του χρόνου και της θερμοκρασίας αποκαλύπτοντας μία έντονη κίτρινη επιφάνεια. Οι δείκτες CoolVu αποτελούνται από δύο αυτόνομες ετικέτες. Η πρώτη αποτελείται από μία τυπωμένη ετικέτα αλουμινίου, ενώ η δεύτερη είναι μια διαφανής μεμβράνη που φέρει το χαρακτηριστικό στο συγκολλητικό της στρώμα.



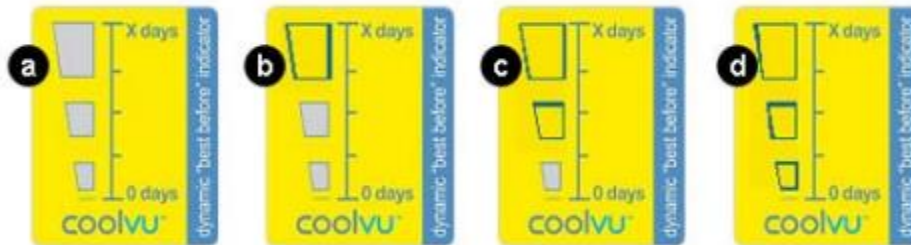
Εικόνα 3.14: Διαδικασία ενεργοποίησης του δείκτη CoolVu

Η ενεργοποίηση της ετικέτας επιτυγχάνεται τοποθετώντας τη συγκολλητική ετικέτα στην επιφάνεια του λεπτού στρώματος αλουμινίου. Στη πρώτη φάση που ακολουθεί εκείνη της ενεργοποίησης, το στρώμα του αλουμινίου γίνεται λεπτότερο συναρτήσει της θερμοκρασίας και του χρόνου. Διατηρεί όμως την αρχική του όψη που μοιάζει με εκείνη ενός καθρέπτη. Σε πιο προχωρημένο στάδιο της διαδικασίας το ενεργό σημείο μετατρέπεται από μεταλλικό καθρέπτη σε μαύρο. Προς το τέλος της ζωής του δείκτη, το ενεργό σημείο αποκτά σταδιακά το χρώμα που βρίσκεται τυπωμένο στο πίσω μέρος του (έντονο κίτρινο) και στο τέλος της ζωής του, το πλήρες χρώμα του φόντου αποκαλύπτεται πλήρως.



Εικόνα 3.15: Εξέλιξη του δείκτη CoolVu από την ενεργοποίηση έως και την λήξη του

Ακόμη μία άλλη προσέγγιση για να καταστεί περισσότερο ορατή η εξέλιξη χρόνου-θερμοκρασίας είναι η εκτύπωση της ετικέτας με τέτοιο τρόπο ώστε το δραστικό σημείο χωρίζεται σε τρεις τομείς, ο καθένας από τους οποίους να μεταβάλλεται με διαφορετικό ρυθμό.

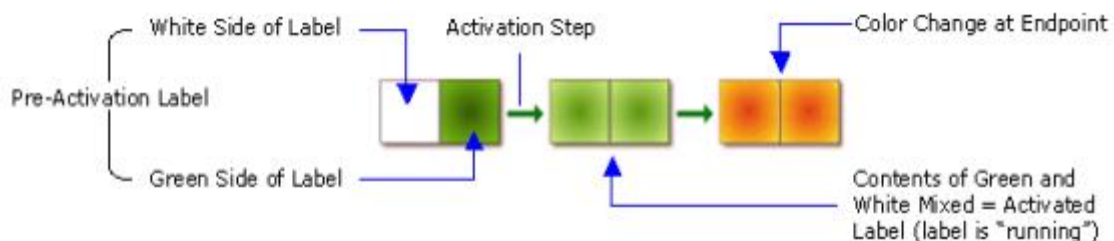


Εικόνα 3.16: Η εξέλιξη του δείκτη CoolVu χωρισμένο σε τρεις τομείς από την ενεργοποίηση έως και τη λήξη του

3.5.4 Ενζυμικοί δείκτες

Παράδειγμα ενζυμικού δείκτη είναι ο δείκτης Vitsab Time Temperature Indicator, και είναι διάδοχος του I-Point Time Temperature Monitor (Vitsab A.B., Malmö, Sweden). Η αρχή λειτουργίας του οφείλεται στην πτώση του pH, που είναι αποτέλεσμα της ελεγχόμενης ενζυμικής υδρόλυσης ενός υποστρώματος λιπιδίου (US patents 4,043,871 και 4,284,719). Πριν λάβει χώρα η ενεργοποίηση του δείκτη το ένζυμο και το υπόστρωμα βρίσκονται σε δύο ανεξάρτητους χώρους (θαλάμους), κατάλληλα διαχωρισμένους με ένα διάφραγμα. Ο ένας περιέχει υδατικό διάλυμα ενός λιπολυτικού ενζύμου, όπως είναι η παγκρεατική λιπάση, ενώ ο άλλος χώρος περιέχει υπόστρωμα λιπιδίου (εστέρας-γλυκερόλης) προσροφημένο σε κονιοποιημένο φορέα από πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC).

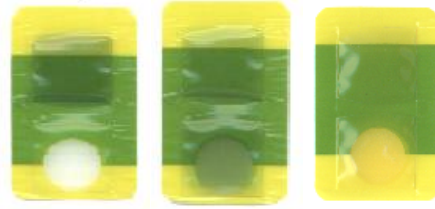
Η ενεργοποίηση του δείκτη πραγματοποιείται με εφαρμογή μηχανικής πίεσης στο φράγμα των δύο χώρων. Με τη ρήξη του φράγματος προκύπτει ανάμειξη του ενζύμου με το υπόστρωμα και έτσι ξεκινά η αντίδραση της υδρόλυσης (Εικόνα 3.17).



Εικόνα 3.17: Απεικόνιση χρωμάτων ενζυμικού ΤΠΙ πριν, μετά την ενεργοποίηση και στη λήξη του.

Η υδρόλυση του υποστρώματος προκαλεί απελευθέρωση οξέος και συνεπώς σταδιακή πτώση του pH, που με τη σειρά της προκαλεί χρωματική αλλαγή στο δείκτη του pH από σκούρο πράσινο σε φωτεινό κίτρινο ή κόκκινο. Ανάλογα με την επιδιωκόμενη διάρκεια ζωής του δείκτη και τα θερμοκρασιακά εύρη μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικοί συνδυασμοί τύπου και συγκέντρωσης ενζύμου-υποστρώματος. Τα αρχικά και τελικά χρώματα αναφοράς εκτυπώνονται γύρω από το παράθυρο της αντίδρασης, έτσι ώστε να είναι πιο εύκολη η οπτική αναγνώριση και εκτίμηση της χρωματικής αλλαγής. Επίσης, η

συνεχής χρωματική αλλαγή μπορεί να μετρηθεί με τα κατάλληλα όργανα (Taoukis and Labuza, 1989). Τα ενζυμικά ΤΠΙ εμφανίζουν μεγάλη διάρκεια ζωής εάν διατηρηθούν υπό κατάψυξη. Στην Εικόνα 3.18 απεικονίζονται αυτού του είδους οι χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες.



Εικόνα 3.18: Ενζυμικό ΤΠΙ τύπου Β (πράσινο → κίτρινο)

Η εταιρεία **VITSAB** (VITSAB A.B., Malmö, Sweden) έχει κατασκευάσει πληθώρα ενζυμικών ΤΠΙ από τη δεκαετία του '80 έως σήμερα. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των ΤΠΙ της συγκεκριμένης εταιρείας είναι η ευρεία κλίμακα των ενεργειών ενεργοποίησης E_a , η οποία κυμαίνεται από 12 – 27 kcal/mole. Η μεγάλη αυτή ακτίνα εμβέλειας οφείλεται στο γεγονός ότι σαν υποστρώμα για την ενζυμική αντίδραση μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλά και διαφορετικά λιπίδια καθένα από τα οποία δίνει και μια διαφορετική ενέργεια ενεργοποίησης.

Οι δείκτες της Vitsab μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τα εξής κριτήρια:

- **Είδος ενζύμου και υποστρώματος.**
- **Συγκέντρωση και αναλογία ενζύμου – υποστρώματος.**
- **Διακριτικά στάδια χρωματικής αλλαγής.**

Έτσι για καθένα από τα παραπάνω κριτήρια προκύπτουν διαφορετικοί τύποι και ονομασίες δεικτών.

Ταξινόμηση με βάση το είδος του ενζύμου και του υποστρώματος

Αναλόγως του τύπου του υποστρώματος προκύπτουν διαφορετικοί τύποι ΤΠΙ με διαφορετικά χαρακτηριστικά απόκρισης και θερμοκρασιακή ευαισθησία (VITSAB A.B., Malmö, Sweden 2006), όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3.3.

Πίνακας 3.3: Διαφορετικοί τύποι Vitsab ΤΠΙ αναλόγως του τύπου του υποστρώματος.

Τύπος	Ένζυμο	Υπόστρωμα
L	παγκρεατική λιπάση	τριλαουρίνη
P	παγκρεατική λιπάση	τριπαλμιτίνη
B	παγκρεατική λιπάση	τριβουτυρίνη
C	παγκρεατική λιπάση	τρικαπροΐνη

M	παγκρεατική λιπάση	μυριστικός μεθυλεστέρας
LP	παγκρεατική λιπάση	συνδυασμός τριλαουρίνης, τριπαλμιτίνης
LM	παγκρεατική λιπάση	συνδυασμός τριλαουρίνης, μυριστικού μεθυλεστέρα

Ταξινόμηση με βάση τη συγκέντρωση και την αναλογία ενζύμου – υποστρώματος

Οι αναλογίες ενζύμου – υποστρώματος προσδιορίζουν διαφορετικές διάρκειες ζωής και σε διαφορετικά θερμοκρασιακά φάσματα. Μερικά παραδείγματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.4.

Πίνακας 3.4: Διαφορετικοί τύποι Vitsab ΤΠΙ με βάση διαφορετικές αναλογίες ενζύμου-υποστρώματος.

Τύπος	Θερμοκρασία	Χρονική διάρκεια
M4-30	4°C	30 ημέρες
M4-5	4°C	5 ημέρες
L5-24	5°C	24 ημέρες
L5-8	5°C	8 ημέρες
LM10-2	10°C	2 ημέρες

Ταξινόμηση με βάση τα στάδια της χρωματικής αλλαγής

Ανάλογα με τα διακριτά στάδια χρωματικής αλλαγής τα ενζυμικά ΤΠΙ της VITSAB διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

- 1. Δίχρωμοι (Bicolor) ΤΠΙ:** Στα ΤΠΙ αυτά κατά την ενεργοποίηση το “παράθυρο ελέγχου” φέρει βαθύ πράσινο χρωματισμό, ο οποίος καταλήγει σε κίτρινο στο τέλος της αντίδρασης.
- 2. Τρίχρωμοι (Tricolor) ΤΠΙ:** Στα ΤΠΙ αυτά κατά την ενεργοποίηση το “παράθυρο ελέγχου” φέρει βαθύ πράσινο χρωματισμό, ο οποίος στη μέση της αντίδρασης γίνεται κίτρινος και στο τέλος της αντίδρασης κόκκινος (VITSAB A.B., Malmö, Sweden 2005), όπως φαίνεται στην επόμενη Εικόνα :

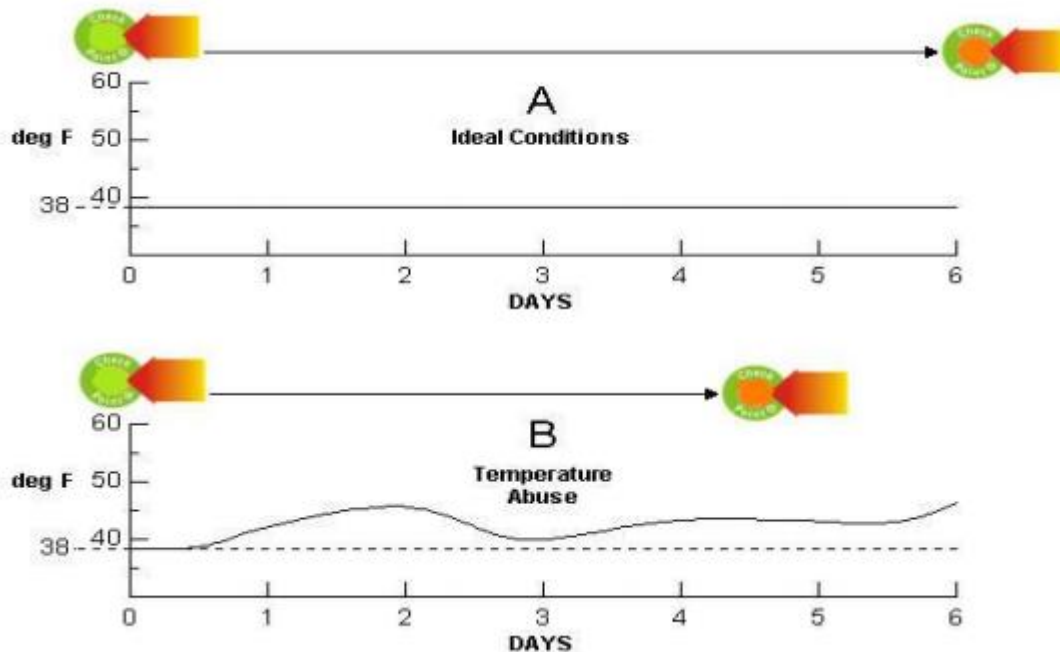
Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ



Εικόνα 3.19: Tricolor ΤΠΙ. VITSAB (πράσινο→κίτρινο→κόκκινο)

Οι τρίχρωμοι ΤΠΙ εξυπηρετούν διαφορετικούς σκοπούς από αυτούς των δίχρωμων ΤΠΙ. Συγκεκριμένα, παρέχουν τη δυνατότητα ένδειξης της ενδιάμεσης κατάστασης του τροφίμου (κίτρινος χρωματισμός του δείκτη) και όχι μόνο των ακραίων καταστάσεων του φρέσκου (πράσινος χρωματισμός του δείκτη) και μη φρέσκου (κόκκινος χρωματισμός του δείκτη).

















Αντίθετα οι δίχρωμοι ΤΠΙ παρέχουν ενδείξεις για τις ακραίες καταστάσεις του φρέσκου (πράσινος χρωματισμός) και του μη φρέσκου (κίτρινος χρωματισμός) και επομένως βρίσκουν εφαρμογή σε περιπτώσεις όπου είναι αναγκαία μόνο η γνώση του αποδεκτού και του μη αποδεκτού και όχι του επιπέδου φρεσκότητας. Επίσης, οι δύο τύποι δεικτών απευθύνονται σε διαφορετικές ομάδες ατόμων. Στο καταναλωτικό κοινό περισσότερο κατανοητοί είναι οι τρίχρωμοι δείκτες, αφού είναι ευκολότερη η παρακολούθηση των σταδίων χρωματικής μεταβολής, ενώ οι δίχρωμοι δείκτες είναι λιγότερο κατανοητοί εκτός και εάν συνοδεύονται από χρωματική κλίμακα. Παρόλα αυτά οι δίχρωμοι ΤΠΙ μπορούν να χρησιμοποιηθούν ευρέως από τη βιομηχανία, αλλά και από άλλους εμπλεκόμενους φορείς στην αλυσίδα τροφίμων.



Εικόνα 3.20: Χρόνος λήξης ενός ενζυμικού ΤΠΙ σε ιδανικές και σε μη ιδανικές θερμοκρασιακές συνθήκες

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται η χρωματική κλίμακα και η αντίστοιχη τιμή pH για τα ενζυμικά ΤΠΙ της **VITSAB**.

tricolor TTIs								
bicolor TTIs								
pH	8.9	8.5	8.0	7.5	7.0	6.8	6.5	6.0

Εικόνα 3.21: Χρωματική κλίμακα και τα αντίστοιχα pH για τα ΤΠΙ της VITSAB

Ένας νέος τύπος ενζυμικού ΤΠΙ που αναπτύχθηκε στηρίχτηκε στην ενζυμική υδρόλυση του αμύλου από μια α -αμυλάση (Yan *et al.*, 2007).

3.5.5 Μικροβιολογικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες

Ένα μικροβιολογικό ΤΠΙ είναι το (eO) ΤΠΙ (CRYOLOG, Gentilly, France) της εταιρείας Cryolog, που κυκλοφόρησε μέσα στο 2006. Ο μικροβιακός ΤΠΙ στηρίζεται στη μεταβολική δραστηριότητα ενός γαλακτικού βακτηρίου που κατά την ανάπτυξή του στο κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα, παράγει γαλακτικό οξύ και προκαλεί την πτώση του pH του υποστρώματος, η οποία μεταφράζεται σε αλλαγή του χρώματος ενός χημικού δείκτη που επίσης έχει προστεθεί στο σύστημα, από κόκκινο σε (Εικόνα 3.22).



Εικόνα 3.22: Ο δείκτης eO της εταιρείας Cryolog

Το “λουλούδι” που εικονίζεται στο ΤΠΙ είναι πράσινο κατά την ενεργοποίηση ενώ όταν το τρόφιμο φτάσει σε επίπεδο αλλοίωσης που το καθιστά ακατάλληλο για κατανάλωση το λουλούδι γίνεται κόκκινο.

Επίσης, ένα άλλο μικροβιολογικό ΤΠΙ είναι το Traceo της εταιρείας Cryolog (Εικόνα 3.23).



Εικόνα 3.23: Δείκτης Traceo

Ουσιαστικά, στην αρχή ο γραμμωτός κώδικας είναι ευδιάκριτος και ευανάγνωστος αλλά στην πορεία ο δείκτης παύει να είναι διαφανής (λαμβάνει χώρα μικροβιακή αντίδραση) και καθιστά μη ορατό τον κώδικα.

3.6 Κινητική απόκριση των ΤΤΙ

Η μετρήσιμη απόκριση ενός δείκτη εκδηλώνεται ως αποτέλεσμα ενός βιολογικού, φυσικού, χημικού, φυσικοχημικού ή φωτοχημικού φαινομένου. Ο ρυθμός εξέλιξης του φαινομένου αυτού εξαρτάται τόσο από τη θερμοκρασία, όσο και από το χρόνο. Για την ορθή κρίση, αξιολόγηση, χρήση και εφαρμογή της απόκρισης των δεικτών είναι απαραίτητο να έχουν προηγηθεί τα εξής:

- Ακριβής καθορισμός των χαρακτηριστικών απόκρισης του ΤΤΙ.
- Περιγραφή της κινητικής του με μαθηματικό τρόπο.

Έτσι, γίνεται χρήση μιας κινητικής προσέγγισης, με στόχο τη δημιουργία ενός μαθηματικού μοντέλου το οποίο θα χαρακτηρίζει τη συμπεριφορά του ΤΤΙ, παρόμοιας με την κινητική της ποιοτικής υποβάθμισης των τροφίμων.

Εάν τεθεί ως X η μετρήσιμη μεταβολή του δείκτη, τότε είναι απαραίτητο να αναζητηθεί μια συνάρτηση $F(X)$ της μορφής:

$$F(X)=k \cdot t \quad (3.1)$$

όπου:

$F(X)$: η συνάρτηση απόκρισης του ΤΤΙ

k : η σταθερά του ρυθμού, που εξαρτάται από τη θερμοκρασία

Εφόσον το φαινόμενο, στο οποίο οφείλεται η απόκριση του ΤΤΙ (π.χ. χημικές αντιδράσεις, βιολογικές αντιδράσεις, ιξώδης ροή, διάχυση) ακολουθεί μια θερμοκρασιακή εξάρτηση τύπου Arrhenius, τότε και η σταθερά k θα εμφανίζει την ίδια θερμοκρασιακή εξάρτηση και συνεπώς θα ισχύει η παρακάτω σχέση:

$$k=k_1 \cdot e^{\left(-\frac{E_A}{R \cdot T}\right)} \quad (3.2)$$

όπου k_I , E_{AI} : οι κινητικές παράμετροι του συστήματος

Για ένα δείκτη ΤΠΙ, ο οποίος εκτίθεται στην ίδια θερμοκρασιακή κατανομή στην οποία εκτίθεται το τρόφιμο $T(t)$, η συνάρτηση απόκρισής του σε χρόνο t μπορεί να περιγραφεί από την παρακάτω εξίσωση:

$$F(X)_t = \int_0^t k dt = k_I \cdot \int_0^t e^{\left(\frac{E_{AI}}{R \cdot T(t)}\right)} dt \quad (3.3)$$

Η $F(X)_t$ συναρτήσει της δραστηκής θερμοκρασίας θα δίνεται από τη σχέση:

$$F(X)_t = k_I \cdot e^{\left(\frac{E_{AI}}{R \cdot T_{\text{eff}}}\right)} \quad (3.4)$$

3.7 Αντιστοίχιση απόκρισης ΤΠΙ με την ποιότητα των τροφίμων

Η κατανόηση της ισχυρής επίδρασης που έχει η θερμοκρασία διατήρησης στην ποιοτική υποβάθμιση των τροφίμων αποτέλεσε το έναυσμα για την ανάπτυξη των ΤΠΙ. Ο συσχετισμός όμως της απόκρισης των δεικτών με μια τιμή που να αποτελεί έκφραση της ποιότητας των τροφίμων δεν είναι άμεσος.

Αρχική προσέγγιση αυτού του συσχετισμού επιτεύχθηκε μέσω της θεώρησης μιας συνολικής καμπύλης θερμοκρασιακής εξάρτησης (ή μιας ζώνης μεταξύ δύο καμπυλών) της διάρκειας ζωής (προσέγγιση σημείου λήξης) μιας γενικής τάξης τροφίμων – π.χ. κατεψυγμένα τρόφιμα – και η κατασκευή ενός δείκτη με όμοια καμπύλη θερμοκρασιακής εξάρτησης, όσον αφορά τον απαιτούμενο χρόνο για κάποιο συγκεκριμένο σημείο της κλίμακας (Renier and Morin, 1962).

Παρ' όλα αυτά γρήγορα διαπιστώθηκε ότι μια γενίκευση σαν αυτή δεν ήταν καθόλου αξιόπιστη, αφού ακόμα και τρόφιμα του ίδιου τύπου παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές στην συμπεριφορά της ποιοτικής υποβάθμισης και τη θερμοκρασιακή εξάρτηση – π.χ. τα κατεψυγμένα τρόφιμα είχαν ένα διάστημα τιμών Q_{10} από 2 μέχρι 17 (Bengtsson et al., 1972).

Συνεπώς, κρίθηκε ότι η θερμοκρασιακή εξάρτηση της συμπεριφοράς των ΤΠΙ πρέπει να ταιριάζει με αυτή του συγκεκριμένου τροφίμου το οποίο εξετάζεται (Haykawa and Wong, 1974; Krammer and Farquhar, 1976). Η συγκεκριμένη προσέγγιση απαιτούσε την ύπαρξη μεγάλου αριθμού ΤΠΙ και αυτό ήταν πρακτικά αδύνατο. Εξάλλου, μια άλλη σημαντική παράλειψη ήταν το γεγονός ότι οι καμπύλες συσχετισμού της απόκρισης με τη θερμοκρασία για τα ΤΠΙ και της ποιοτικής υποβάθμισης με τη θερμοκρασία για τα τρόφιμα θα έπρεπε να έχουν την ίδια μορφή (π.χ. γραμμική). Η πολυπλοκότητα αντιστοίχισης της απόκρισης των δεικτών με την ποιότητα των προϊόντων, είχε ως αποτέλεσμα την πραγματοποίηση πληθώρας πειραματικών μελετών (Rodriquez and Zaritzki, 1983; Mistry and Kosikowski, 1983;

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

Dolan et al., 1985; Tinker et al., 1985). Στόχος των μελετών αυτών ήταν η συσχέτιση ανάμεσα σε συγκεκριμένα ΤΠΙ και συγκεκριμένα τρόφιμα.

Οι παραπάνω μελέτες στηρίζονταν στην αποθήκευση των τροφίμων σε διαφορετικές θερμοκρασίες και με τους δείκτες προσαρμοσμένους σε αυτά και στη δημιουργία διαγραμμάτων της απόκρισης των ΤΠΙ και των τιμών των επιλεγμένων παραμέτρων ποιότητας των τροφίμων ως προς το χρόνο. Κατόπιν πραγματοποιούνταν στατιστική επεξεργασία του συσχετισμού της απόκρισης των ΤΠΙ με τις ποιοτικές παραμέτρους των τροφίμων. Σημειώνεται, ότι σε όλες τις μελέτες πραγματοποιήθηκαν και οργανοληπτικές αναλύσεις των ποιοτικών παραμέτρων των εξεταζόμενων τροφίμων.

Όμως, παρά τις χρήσιμες πληροφορίες που προσφέρουν οι μελέτες αυτές, εμφανίζουν και τα παρακάτω μειονεκτήματα:

- Κάποιες έρευνες δεν χρησιμοποιούσαν τις κατάλληλες θερμοκρασίες αποθήκευσης ούτε τα κατάλληλα ΤΠΙ για τα συγκεκριμένα θερμοκρασιακά διαστήματα και χρόνους αποθήκευσης.
- Από τη στιγμή που δεν κατασκευάζονταν μοντέλα που να δείχνουν τη χρονο-θερμοκρασιακή εξάρτηση της απόκρισης των ΤΠΙ, η εφαρμογή τους περιοριζόταν στα συγκεκριμένα μόνο τρόφιμα και για τις συγκεκριμένες συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν. Το γεγονός αυτό αποτέλεσε το μεγαλύτερο και σημαντικότερο μειονέκτημα ακόμα και των καλύτερων μελετών.

Με βάση τα παραπάνω καθίσταται προφανές ότι για την κατασκευή ενός ικανοποιητικού ΤΠΙ είναι απαραίτητη η ανάπτυξη μιας προσέγγισης που να επιτρέπει το συσχετισμό της απόκρισης ενός συγκεκριμένου τύπου ΤΠΙ με τη μεταβολή της ποιότητας και την εναπομένουσα διάρκεια ζωής ενός τροφίμου, το οποίο έχει υποστεί οποιαδήποτε σταθερή ή μεταβλητή θερμοκρασιακή έκθεση. Επίσης, απαιτείται εμπειριστατωμένη μελέτη του ΤΠΙ για την ανάπτυξη κινητικών μοντέλων που να επιτρέπουν την ενσωμάτωση του ΤΠΙ στην προηγούμενη προσέγγιση. Τέλος, σύμφωνα με αυτά τα κινητικά μοντέλα, πρέπει να εξετάζεται η αξιοπιστία των ΤΠΙ για την πρόβλεψη της ποιοτικής υποβάθμισης των τροφίμων κάτω από μεταβλητές θερμοκρασιακές συνθήκες.

Από τις κινητικές εξισώσεις, οι οποίες περιγράφουν την ποιοτική υποβάθμιση των τροφίμων και την απόκριση ενός ΤΠΙ εκτεθειμένου στις ίδιες θερμοκρασιακές συνθήκες, μπορεί να αναπτυχθεί ένα τέτοιο σχεδιάγραμμα που να επιτρέπει την εκτίμηση της τιμής του παράγοντα ποιότητας A , οποιαδήποτε χρονική στιγμή, από τη μετρούμενη αλλαγή X του δείκτη στη συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

Το σχεδιάγραμμα θα βασίζεται στη γνώση των κινητικών χαρακτηριστικών της ποιοτικής υποβάθμισης: $f(A)$, k_A , E_A , του τροφίμου και των κινητικών χαρακτηριστικών απόκρισης του ΤΠΙ: $F(X)$, K_I , E_{AI} . Η εισαγόμενη πληροφορία θα είναι η μετρούμενη απόκριση X του ΤΠΙ στο χρόνο t .

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

Ο υπολογισμός της τιμής του παράγοντα ποιότητας A_t από το X_t επιτυγχάνεται μέσα από τα ακόλουθα βήματα:

1. Υπολογισμός της τιμής της συνάρτησης απόκρισης $F(X)_t$ του ΤΠΙ από τη μετρούμενη τιμή X_t .

$$F(X)_t = F(X_t) \quad (I)$$

2. Εκτίμηση της δραστικής θερμοκρασίας, η οποία περιγράφει την κατανομή της θερμοκρασίας. Η εκτίμηση της δραστικής θερμοκρασίας επιτυγχάνεται με την παρακάτω σχέση που προκύπτει από την σχέση του Arrhenius.

$$T_{\text{eff}} = - \frac{E_{AI}}{R \cdot \ln \left[\frac{F(X)_t}{k_I \cdot t} \right]} \quad (II)$$

3. Από την T_{eff} , που αντιπροσωπεύει τη θερμοκρασιακή έκθεση του τροφίμου έχοντας ταυτόχρονα και τη γνώση των παραμέτρων της ποιοτικής υποβάθμισης του τροφίμου, υπολογίζεται η συνάρτηση ποιότητάς του, $f(A)_t$, χρησιμοποιώντας την παρακάτω εξίσωση.

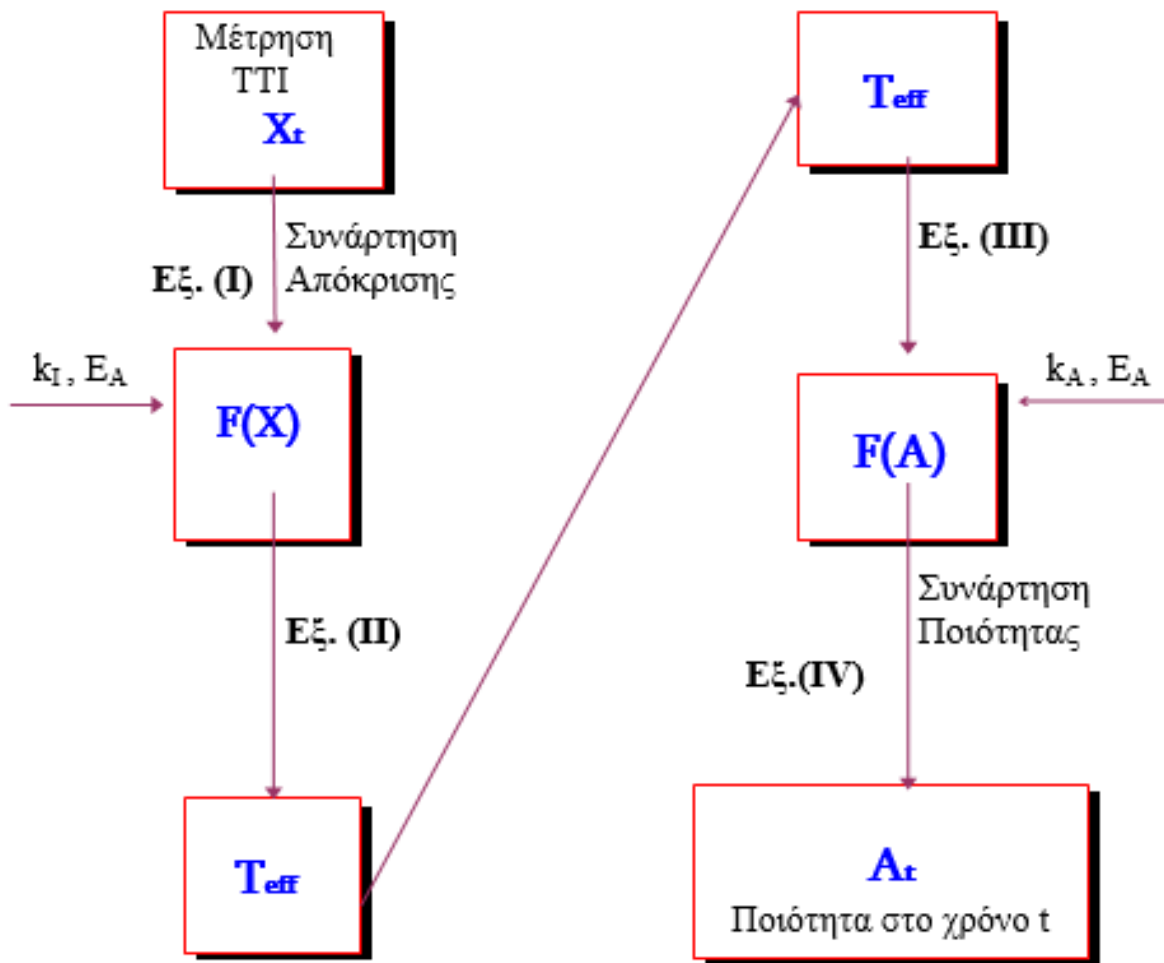
$$f(A)_t = k_A \cdot e^{\left(- \frac{E_A}{R \cdot T_{\text{eff}}} \right)} \cdot t \quad (III)$$

4. Με βάση την τιμή της συνάρτησης ποιότητας $f(A)_t$ υπολογίζεται η τιμή του δείκτη ποιότητας A_t ο οποίος δείχνει το βαθμό της ποιοτικής υποβάθμισης του τροφίμου. Ο δείκτης ποιότητας επιτρέπει ακόμα την εκτίμηση της εναπομένουσας διάρκειας ζωής σε οποιαδήποτε μέση θερμοκρασία.

$$A_t = f^{-1}(f(A)_t) \quad (IV)$$

Το μαθηματικό μοντέλο που περιγράφηκε παραπάνω παρουσιάζεται στο επόμενο σχήμα με τη μορφή λογικού διαγράμματος (Taoukis and Labuza, 1989).

ΛΟΓΙΚΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΩΝ ΤΠΙ



Σχήμα 3.1: Απεικόνιση της συστηματικής προσέγγισης για την εφαρμογή των ΤΠΙ στον έλεγχο ποιότητας των τροφίμων

Εάν είναι γνωστή η συνάρτηση ποιότητας A_t , είναι δυνατό να υπολογιστεί η εναπομένουσα διάρκεια ζωής του τροφίμου (SL_R). Στο μοντέλο που περιγράφηκε παραπάνω, έχει γίνει η πολύ σημαντική υπόθεση, ότι $T_{eff(τροφ.)} = T_{eff(ΤΠΙ)}$, για δεδομένη κατανομή της θερμοκρασίας. Αυτή η παραδοχή ισχύει όταν $E_{A(τροφ.)} = E_{A(ΤΠΙ)}$. Δηλαδή, οι δραστικές θερμοκρασίες του τροφίμου και του ΤΠΙ είναι ίσες όταν και οι ενέργειες ενεργοποίησης είναι ίσες. Φυσικά, όταν η θερμοκρασία είναι σταθερή προφανώς θα ισχύει ότι $T_{eff(τροφ.)} = T_{eff(ΤΠΙ)}$. Έχει διαπιστωθεί ότι σε περίπτωση που η διαφορά των $E_{A(τροφ.)}$ και $E_{A(ΤΠΙ)}$ είναι μικρότερη από 40kJ/mol, τότε τα δύο T_{eff} θα διαφέρουν κατά 0,4-1,8°C, και το σφάλμα στην εκτίμηση της ποιότητας θα είναι λιγότερο από 15%, το οποίο σε αρκετές περιπτώσεις είναι αποδεκτό (Taoukis and Labuza, 1989a). Συνήθως, είναι δύσκολο να βρεθεί ένα ΤΠΙ που να έχει ακριβώς ίδια ενέργεια ενεργοποίησης με αυτή του τροφίμου. Γενικά, όσο μικρότερη είναι η διαφορά των E_A τόσο μεγαλύτερη είναι η ακρίβεια ένδειξης του ΤΠΙ για την πραγματική διάρκεια ζωής.

Η προηγούμενη κινητική προσέγγιση συσχέτισμού της απόκρισης των ΤΠΙ με την ποιότητα των εξεταζόμενων τροφίμων, έχει εφαρμογή κατά κύριο λόγο στα ευαλλοίωτα ψυγμένα τρόφιμα (Taoukis et al., 1998; Taoukis and Labuza, 1999; Taoukis et al., 1999a; Taoukis et al., 1999b).

Η ίδια προσέγγιση είναι δυνατό να εφαρμοστεί και στα κατεψυγμένα τρόφιμα υπό ορισμένες προϋποθέσεις που αφορούν την καταλληλότητα της εξίσωσης Arrhenius σε όλο το εύρος των θερμοκρασιών και την παραδοχή ότι τα τρόφιμα δεν υπόκεινται σε απόψυξη κατά την αποθήκευσή τους (Giannakourou and Taoukis, 2002, 2003a, 2003b).

3.8 Σφάλματα στην εκτίμηση της δραστικής θερμοκρασίας T_{eff} .

Η πραγματική $T_{eff(τροφ.)}$ και η εκτιμώμενη $T_{eff(ΤΠΙ)}$ είναι δυνατόν να διαφέρουν για διαφορετικές θερμοκρασιακές κατανομές. Υπάρχουν τρεις βασικοί λόγοι σφάλματος για την εκτιμώμενη $T_{eff(ΤΠΙ)}$:

1) Η διακύμανση των μετρήσεων της απόκρισης μεταξύ ίδιων δεικτών στις ίδιες συνθήκες χρόνου και θερμοκρασίας

Η αντιμετώπιση αυτής της πηγής σφάλματος είναι η βελτιστοποίηση της κατασκευής των ΤΠΙ έτσι ώστε η απόκριση κάθε ΤΠΙ να μπορεί να είναι αναπαραγωγίσιμη. Σε κινητικές μελέτες των ΤΠΙ ένας τρόπος ελαχιστοποίησης αυτού του σφάλματος θα ήταν να χρησιμοποιείται ένας μεγάλος αριθμός δειγμάτων, του ίδιου ΤΠΙ, σε κάθε πειραματική διαδικασία.

2) Η στατιστική αβεβαιότητα για τις παραμέτρους της εξίσωσης Arrhenius

Στην κινητική μελέτη των ΤΠΙ χρησιμοποιείται η σχέση Arrhenius-έχοντας κάνει την παραδοχή ότι η ενζυμική αντίδραση περιγράφεται από αυτήν. Με γραμμική προσαρμογή υπολογίζονται οι παράμετροι E_A και k_0 , όμως αυτή η προσαρμογή συνοδεύεται με κάποιο σφάλμα. Αυτή η πηγή σφάλματος μπορεί να γίνει πολύ μικρή με τη χρήση τουλάχιστον 5 θερμοκρασιών και εκφράζεται με τον υπολογισμό των διαστημάτων εμπιστοσύνης.

3) Η διαφορά στην E_A μεταξύ του τροφίμου και του ΤΠΙ

Πρόκειται για συστηματικό και όχι στατιστικό σφάλμα. Γενικά ισχύει ότι όσο περισσότερο η E_A του ΤΠΙ προσεγγίζει αυτή του τροφίμου, τόσο μικρότερο το σφάλμα στον υπολογισμό της T_{eff} .

3.9 Μελέτες αντιστοίχισης χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών σε συγκεκριμένα τρόφιμα

Εξαιτίας αυτής της πολυπλοκότητας αντιστοίχισης της απόκρισης των δεικτών με την ποιότητα των προϊόντων, πραγματοποιήθηκαν πολλές πειραματικές μελέτες, όπου στόχο είχαν την συσχέτιση ανάμεσα σε συγκεκριμένα ΤΠΙ και συγκεκριμένα τρόφιμα. Στον Πίνακα 3.5 αναφέρονται οι μελέτες αυτές.

Πίνακας 3.5: Μελέτες συσχέτισμού τροφίμων ΤΠΙ

Τρόφιμο	Μελέτη
Κατεψυγμένο βοδινό κρέας	Rodriquez and Zaritzki, 1983
Παστεριωμένο πλήρες γάλα	Mistry and Kosikowski, 1983; Grisius et al., 1987; Chen and Zall, 1987a
Παγωτό	Dolan et al., 1985
Κατεψυγμένο χάμπουργκερ	Singh and Wells, 1985
Κατεψυγμένα φιλέτα βακαλάου	Tinker et al., 1985
Ψυγμένες (έτοιμες να καταναλωθούν) σαλάτες	Cambell, 1986
Γάλα UHT	Zall et al., 1986
Κατεψυγμένος χυμός από πορτοκάλι	Chen and Zall, 1987b
Παστεριωμένη κρέμα	Chen and Zall, 1987a
Cottage cheese	Chen and Zall, 1987a; Shellhammer and Singh, 1991
Κατεψυγμένες φράουλες	Wells and Singh, 1988
Κατεψυγμένο μαρούλι και ντομάτες	Wells and Singh, 1988
Κατεψυγμένο χοιρινό κρέας	Yoon et al., 1994
Παστό / καπνιστό ψάρι (τοξίνη clostridium botulinum)	Ronnow et al., 1998 (FDA)

Κατεψυγμένος φρέσκος σολομός	Ronnow et al., 1999
Ψυγμένα ψάρια	Taoukis et al., 1999a, 1999b
Θερμικά επεξεργασμένο γάλα	Wendle et al., 2003
Ρώσικη σαλάτα και μελιτζανοσαλάτα	Giannakourou and Taoukis, 2003
Κατεψυγμένα λαχανικά	Giannakourou and Taoukis, 2003
Συσκευασμένο κοτόπουλο σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα	M. Smolander et al., 2003
Ψυγμένα ψάρια	Giannakourou et al., 2004
Φρέσκα ψάρια (καλκάνι, <i>psetta maxima</i>)	Alfaro et al., 2005
Μανιτάρια	Els Bobelyn et al., 2006
Κατεψυγμένος τόνος συσκευασμένος υπό κενό	Tsironi et al., 2008
Κιμάς συσκευασμένος σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα	Vaikousi et al., 2009
Συσκευασμένος βόειος κιμάς σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και συσκευασμένο ψημένο φιλέτο κοτόπουλο	Ellouze et al., 2010
Φιλέτα τσιπούρας συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα	Tsironi et al., 2011
Φιλέτο μοσχαριού	Jin Young Han et al., 2012
Χοιρινός κιμάς Κορέας	Kim et al., 2013
Ψυγμένα φιλέτα κοτόπουλου	Brizio et al., 2014
Κατεψυγμένα θαλασσινά (Γλάυκοκαρχαρίας και Θράψαλο Ν.Ζηλανδίας)	Giannoglou et al., 2014

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

Οι παραπάνω μελέτες στηρίζονταν στην αποθήκευση των τροφίμων σε διαφορετικές θερμοκρασίες με τους δείκτες προσαρμοσμένους σε αυτά. Στη συνέχεια δημιουργήθηκαν τα διαγράμματα της απόκρισης των ΤΠΙ και των τιμών των επιλεγμένων παραμέτρων ποιότητας των τροφίμων ως προς το χρόνο. Τέλος, πραγματοποιούταν στατιστική επεξεργασία του συσχετισμού της απόκρισης των ΤΠΙ με τις ποιοτικές παραμέτρους των τροφίμων. Σημειώνεται, ότι σε όλες τις μελέτες πραγματοποιήθηκαν και οργανοληπτικές αναλύσεις των ποιοτικών παραμέτρων των εξεταζόμενων τροφίμων.

Παράλληλα σημειώνεται ότι στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Ε.Μ.Π. έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν διπλωματικές εργασίες με αντικείμενο την εφαρμογή χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών στην διαχείριση της αλυσίδας ψυγμένων και κατεψυγμένων προϊόντων. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η εφαρμογή των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών

Μελέτη	Συγγραφέας	Έτος
Εφαρμογή ΤΠΙ στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας φιλέτων ψαριού συσκευασμένων σε MAP	Σταματίου	2008
Εφαρμογή ΤΠΙ στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας προϊόντων κρέατος	Μεταξά	2009
Εφαρμογή ΤΠΙ στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας φιλέτων τιλάπιας	Πλατάκου	2010
Εφαρμογή ΤΠΙ στη διαχείριση της αλυσίδας κατεψυγμένων θαλασσιν	Τσατσαράγκου	2010
Εφαρμογή ΤΠΙ στη διαχείριση της αλυσίδας ψυγμένων χελιών και κατεψυγμένου γλαυκοκαρχαρία	Λουκιανού	2011
Εφαρμογή ΤΠΙ στη διαχείριση της αλυσίδας κατεψυγμένου γλαυκοκαρχαρία και θραψάλου	Τούλη	2013

3.10 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των ΤΠΙ

Στην ενότητα αυτή αναλύονται τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών.

3.10.1 Πλεονεκτήματα των ΤΠΙ

Οι ΤΠΙ είναι μικροί, φθηνοί (Το κόστος τους έχει εκτιμηθεί στο εύρος των 0.02 – 0.20 \$ ανά μονάδα δείκτη (Ταουκίς και Labuza, 2003)), ανθεκτικοί στους κραδασμούς και υψηλής ακρίβειας. Η απόκρισή τους είναι συνεχής, μη αναστρέψιμη και οπτικά εύκολα κατανοητή. Στη συνέχεια δίνονται σε δύο ενότητες, γενικά πλεονεκτήματα που προσφέρουν οι ΤΠΙ, καθώς και πιο συγκεκριμένα όσον αφορά τις λειτουργίες της ψυκτικής αλυσίδας.

3.10.1.1 Γενικά πλεονεκτήματα

- 1) Συμμόρφωση με τα πρότυπα και τους κανονισμούς. Τα καινούρια πρότυπα στη βιομηχανία τροφίμων, όπως οι Κανονισμοί του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου Αριθ. 852/2002, 853/2004 και 172/2002, για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής αλλά και τα πρότυπα για την ενεργή και έξυπνη συσκευασία (Byrne, 2003) αποτελούν ένα σημαντικό μέλημα των εταιρειών.

Οι καινούριες ρυθμίσεις αυξάνουν όλο και περισσότερο την ευθύνη των εταιρειών απέναντι στον έλεγχο της ψυκτικής αλυσίδας, ενώ παράλληλα τους ενθαρρύνουν να αναπτύξουν μέτρα, τα οποία μειώνουν πιθανούς κινδύνους. Έτσι, η χρήση των ΤΠΙ δείχνει πολύ χρήσιμη, αφού αποτελούν επικουρική απόδειξη της διαφύλαξης της φρεσκότητας του τροφίμου κατά τη διάρκεια όλων των σταδίων της ψυκτικής αλυσίδας.

- 2) Βελτίωση της φήμης και της ανταγωνιστικότητας των εταιρειών (brand value). Η έλλειψη του ελέγχου της διακύμανσης της θερμοκρασίας των τροφίμων, τα οποία πωλούνται στους καταναλωτές, μπορεί να οδηγήσει σε μη ασφαλή προϊόντα και κατ'επέκταση να αποτελέσει δυσφήμιση για την εταιρεία. Αντίθετα, η καταγραφή του χρόνου και της θερμοκρασίας σε κάθε στάδιο της ψυκτικής αλυσίδας μπορεί να συνεισφέρει τόσο στην δημόσια εικόνα της εταιρείας όσο και να αυξήσει τις πωλήσεις της. Για παράδειγμα, η αεροπορική εταιρεία British Airways έχει δημιουργήσει ένα Smart Label σύστημα ελέγχου για τα γεύματα, τα οποία καταναλώνονται κατά τη διάρκεια της πτήσης. Ο έλεγχος της φρεσκότητας δίνει επίσης στον υπεύθυνους παραγωγής τη δυνατότητα να βεβαιώσουν τους καταναλωτές ότι έχουν διατηρηθεί όλα τα χαρακτηριστικά του προϊόντος, όπως η ποιότητα, η γεύση, το χρώμα, το άρωμα κ.α.

Πολλές εταιρείες επιβεβαιώνουν ότι η χρήση των ΤΠΙ αύξησε τόσο την εικόνα της ποιότητας των προϊόντων τους όσο και τις πωλήσεις τους. Για παράδειγμα, μια έρευνα αναφέρει ότι πάνω από το 32% των αγοραστών αποφεύγουν να ψωνίζουν σε συγκεκριμένο σουπερμάρκετ από τη στιγμή που δεν είναι ικανοποιημένοι με την φρεσκότητα των προϊόντων του (Seusitech, 2006), ενώ στις Η.Π.Α. βρέθηκε ότι το 74% των καταναλωτών επιλέγει το μαγαζί από το οποίο θα ψωνίσει με βασικό κριτήριο τη φρεσκότητα του κρέατος (Labuza, 1998).

3.10.1.2 Πλεονεκτήματα για τις εταιρείες και τους παραγωγούς

- 1) Απλοποίηση των διαδικασιών ελέγχου της φρεσκότητας. Η ανάλυση επικινδυνότητας στα κρίσιμα σημεία (HACCP) αποτελεί ένα αποτελεσματικό μέσο ελέγχου της ψυκτικής αλυσίδας, καθώς διασφαλίζει την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων. Εντούτοις, η εφαρμογή της HACCP είναι χρονοβόρα, ειδικά εάν δεν χρησιμοποιείται ο κατάλληλος εξοπλισμός. Όμως, με τους ΤΠΙ δίνεται η δυνατότητα στον χειριστή να ελέγξει «με μια ματιά» εάν τα προϊόντα υπέστησαν κάποια υποβάθμιση.

- 2) Μείωση των δαπανών που προκύπτουν κατά τις διαδικασίες επιθεώρησης της ποιότητας των προϊόντων.

3.10.1.3 Πλεονεκτήματα που αφορούν στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας

Πέραν των γενικών πλεονεκτημάτων, οι πληροφορίες που δίνουν οι ΤΠΙ μπορούν να βοηθήσουν στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας. Τα πλεονεκτήματα αυτά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- 1) Πλεονεκτήματα που απορρέουν από την άμεση πληροφορία που δίνουν οι ΤΠΙ για την φρεσκότητα του προϊόντος
- 2) Πλεονεκτήματα που απορρέουν από την πληροφορία που δίνουν οι ΤΠΙ για τον εναπομείναντα χρόνο ζωής του προϊόντος

Πλεονεκτήματα που απορρέουν από την άμεση πληροφορία που δίνουν οι ΤΠΙ για την φρεσκότητα του προϊόντος

Οι δυνατότητες που έχει κανείς με το έχει πληροφορίες για τη μέχρι τώρα φρεσκότητα ενός προϊόντος μπορεί να συνοψιστεί σε 2 σημεία:

- Η δυνατότητα να πάρει μια ακριβής, απλή (εύκολη στο να τη δει και να την επεξηγήσει) οπτική πληροφορία για το εάν το προϊόν είναι φρέσκο ή όχι
- Η παράταση του ορίου ζωής του προϊόντος

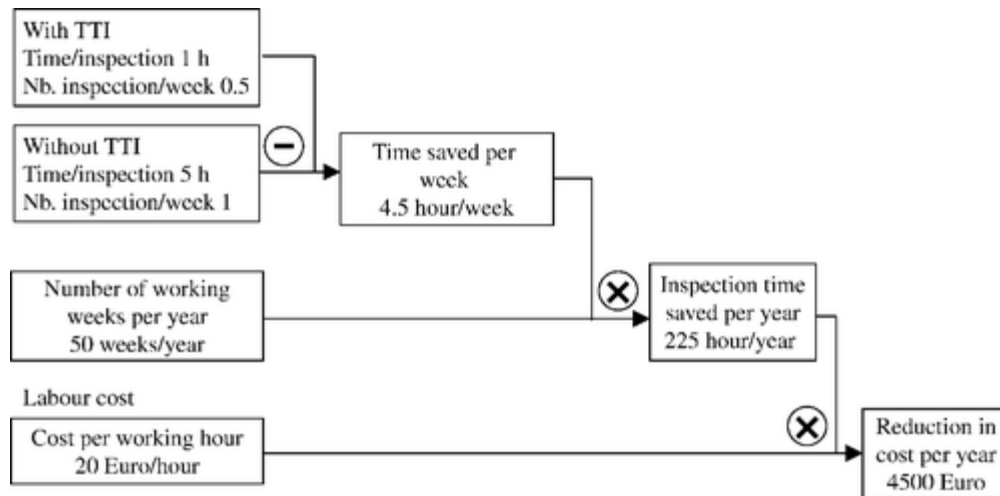
Παρακάτω αναλύονται τα πιθανά πλεονεκτήματα που θα απέρρεαν από αυτά τα δύο σημεία.

- 1) Απλοποίηση των διαδικασιών ελέγχου της φρεσκότητας του προϊόντος. Σε κάθε κρίσιμο σημείο της ψυκτικής αλυσίδας διεξάγονται έλεγχοι ποιότητας ανά τακτά χρονικά διαστήματα με σκοπό να ελεγχθεί είτε η θερμοκρασία του προϊόντος, η οποία μπορεί να παραμένει στο επιθυμητό επίπεδο, είτε η φρεσκότητα αυτού. Η ανάλυση επικινδυνότητας στα κρίσιμα σημεία ελέγχου (HACCP) αποτελεί ένα αποτελεσματικό μέσο καθώς διασφαλίζει την ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων (Maier, 2005). Ωστόσο, η εφαρμογή των διαδικασιών HACCP ίσως να είναι χρονοβόρα εάν δεν χρησιμοποιείται ο κατάλληλος εξοπλισμός και τα κατάλληλα εργαλεία. Συνεπώς, οι δείκτες ΤΠΙ μπορούν να χρησιμοποιηθούν και να υποστηρίξουν αυτές τις διαδικασίες, διότι δίνουν τη δυνατότητα στον χειριστή να ελέγξει με μια ματιά τη φρεσκότητα του προϊόντος, ενώ επίσης, μειώνουν την καθυστέρηση που προκαλούν οι έλεγχοι ποιότητας.
- 2) Μείωση των δαπανών που προκύπτουν κατά τις διαδικασίες επιθεώρησης της ποιότητας των προϊόντων. Οι εταιρείες υποβάλλονται σε τακτικές υγειονομικές επιθεωρήσεις από τις Αρχές, με σκοπό να βρεθούν προϊόντα που έχουν λήξει. Με τη χρήση των ΤΠΙ μειώνεται η καθυστέρηση, η οποία προκύπτει λόγω της διεκπεραίωσης αυτών των επιθεωρήσεων, ενώ επιπρόσθετα, ίσως έτσι (δηλαδή με τη χρήση των ΤΠΙ)

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

και να αποφασίσουν οι Αρχές να μειώσουν τη συχνότητα αυτών των ελέγχων. Ακόμη, με τη χρήση των ΤΠΙ εκτιμάται ότι θα μειωθούν και οι δασμοί που επιβάλλουν οι ασφαλιστικές εταιρείες.

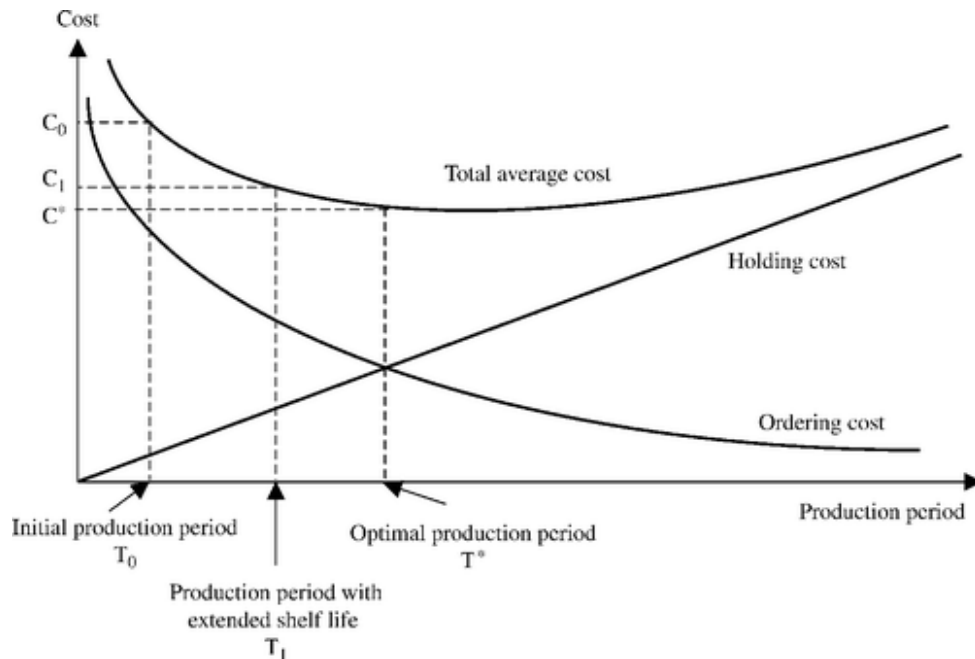
τα ασφαλιστρα βρίσκονται σε αντιστοιχία με τους κινδύνους, οπότε εφόσον οι ΤΠΙ καθιστούν το τρόφιμο ασφαλές, μειώνεται ο κίνδυνος το προϊόν να είναι μη αποδεκτό. Στο Σχήμα 3.2 φαίνεται η ετήσια ελάττωση των δαπανών των επιθεωρήσεων, η οποία οφείλεται στη χρήση των ΤΠΙ.



Σχήμα 3.2: Αξιολόγηση της ετήσιας ελάττωσης των δαπανών των επιθεωρήσεων (Sahin et al., 2007)

- 3) Μείωση των δαπανών που σχετίζονται με διαδικασίες επιστροφής των εμπορευμάτων. Οι δαπάνες οι οποίες σχετίζονται με τις διαδικασίες επιστροφής των εμπορευμάτων μπορεί να είναι εξαιρετικά υψηλές για τις εταιρείες έχοντας ως αποτέλεσμα όχι μόνο οικονομικές απώλειες (έξοδα διακίνησης και μεταφοράς, διαχειριστικά έξοδα) αλλά και λιγότερο αισθητές δαπάνες, όπως αρνητική φήμη, ενδεχόμενες δίκες υπαιτιότητας και ζημιά στη μάρκα του προϊόντος.

Παρατηρείται λοιπόν γενικότερα, μείωση των δαπανών μιας επιχείρησης μετά από χρήση των ΤΠΙ. Αυτό παρουσιάζεται και σχηματικά στο παρακάτω Σχήμα.



Σχήμα 3.3: Μέση κόστη μια εταιρεία με και χωρίς τη χρήση ΤΠΙ (Sahin et al., 2007)

- 4) Αύξηση της ευσυνειδησίας των χειριστών. Ένα καθοριστικό σημείο για τη διασφάλιση των κατάλληλων συνθηκών κατά τη διάρκεια της ψυκτικής αλυσίδας αφορά την αύξηση της συνείδησης των χειριστών. Σύμφωνα με τον πρόεδρο της Lifelines Technology Inc. Company (η μεγαλύτερη εταιρεία στον τομέα ανάπτυξης ΤΠΙ), η εφαρμογή των ΤΠΙ αυξάνει την πιθανότητα σωστής μεταχείρισης από μέρους των κατασκευαστών, των διανομέων, των εμπόρων και των καταναλωτών. Οι χειριστές θα συμπεριφέρονται με μεγαλύτερη ευσυνειδησία καθώς οι θερμοκρασιακές διακυμάνσεις θα είναι οπτικά ευδιάκριτες.
- 5) Λιγότερες αντιδικίες μεταξύ των υπευθύνων της ψυκτικής αλυσίδας. Η χρήση των ΤΠΙ μπορεί να συνεισφέρει στην μείωση των διαπληκτισμών μεταξύ των υπευθύνων της ψυκτικής αλυσίδας, οι οποίοι αποδίδουν την ευθύνη μεταξύ τους για τις ακατάλληλες συνθήκες συντήρησης των προϊόντων.
- 6) Πρόληψη της απάτης που σχετίζεται με χρήση ψεύτικων ετικετών ημερομηνιών λήξης. Έχουν παρατηρηθεί στη βιομηχανία πολλές περιπτώσεις όπου χρησιμοποιήθηκαν ψεύτικες ημερομηνίες λήξης προϊόντων. Για παράδειγμα, πριν μερικά χρόνια ο Αμερικάνικος Οργανισμός Ψυγμένων Τροφίμων επέβαλε πρόστιμο στην εταιρεία Sainsbury ύψους 14.000\$ επειδή πωλούσαν τρόφιμα των οποίων η ημερομηνία λήξης είχε περάσει. Εντοπίστηκε ότι η αρχική ετικέτα ημερομηνίας λήξης μερικών εμπορευματοποιημένων προϊόντων της Sainsbury, όπως καβούρια και χάμπουργκερ, ήταν κρυμμένη από μια νέα ετικέτα, η οποία είχε μεγαλύτερη ημερομηνία λήξης (Refrigerated Foods Association, 1998). Έτσι, η χρήση των ΤΠΙ θα συμβάλει στη μείωση

της πιθανότητας να συμβούν τέτοια γεγονότα, παρέχοντας μεγαλύτερη διαφάνεια όσον αφορά το θερμοκρασιακό προφίλ των προϊόντων μέσα στην ψυκτική αλυσίδα.

- 7) Λήψης της σωστής απόφασης σε περίπτωση βλάβης στη λειτουργία του εξοπλισμού. Σε περιπτώσεις όπου επέρχεται βλάβη στη λειτουργία του εξοπλισμού είναι δύσκολο για τους χειριστές να διαπιστώσουν με ακρίβεια εάν τα προϊόντα διατήρησαν τη φρεσκότητά τους. Για το λόγο αυτό, σε αυτές τις περιπτώσεις, συχνά, όλο το περιεχόμενο απορρίπτεται. Για παράδειγμα, ο Sybase (2006) αναφέρει συρρίκνωση των προϊόντων 10-15%, το 2% της οποίας οφειλόταν σε βλάβες στον εξοπλισμό στις αποθήκες ενός εμπόρου λιανικής πώλησης. Με τη χρήση των ΤΠΙ, τα οποία επισυνάπτονται στη συσκευασία, ακόμα και εάν προέλθει βλάβη στη λειτουργία του εξοπλισμού, είναι δυνατή η λήψη της απόφασης για την ποσότητα των προϊόντων που πρέπει να απορριφθούν. Τα υπόλοιπα προϊόντα όμως, θα πρέπει να καταναλωθούν άμεσα γιατί η εξασφάλιση της ποιότητας αφορά μόνο σε ένα μικρό χρονικό διάστημα. Η λήψη της συγκεκριμένης απόφασης αφορά έναν περιορισμένο αριθμό τομέων, όπως εκείνον στον οποίο τα προϊόντα πρόκειται να καταναλωθούν άμεσα, και όχι για παράδειγμα στον τομέα της λιανικής πώλησης όπου τα προϊόντα μπορεί να καθυστερήσουν να πωληθούν.
- 8) Μείωση του κόστους που σχετίζεται με προϊόντα τα οποία πρέπει να απορριφθούν. Οι ένοπλες δυνάμεις των ΗΠΑ 23 χρόνια πριν απέρριψαν ένα απόθεμα φαρμάκων αξίας 1 δις. \$ επειδή είχαν λήξει. Εντούτοις, έπειτα από τη διεξαγωγή ενός τεστ ελέγχου για το εάν θα έπρεπε να είχαν απορριφθεί, διαπιστώθηκε ότι το 90% των φαρμάκων ήταν ασφαλή και αποτελεσματικά επειδή είχαν αποθηκευτεί σωστά (Butler, 2006). Με σωστή αποθήκευση σε χαμηλή θερμοκρασία τα τρόφιμα μπορούν γενικά να καταναλωθούν και μετά την ημερομηνία ανάλωσής τους. Σημαντικό εργαλείο σε αυτήν την απόφαση αποτελούν οι χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες, οι οποίοι λειτουργούν επικουρικά της ημερομηνίας ανάλωσης και δρουν ως «δυναμική» ημερομηνία λήξης.
- 9) Μείωση των απωλειών που οφείλονται σε φθορά, καταστροφή, αλλοίωση, κλοπή (shrinkage). Τα προϊόντα που δεν πωλούνται την ημερομηνία της λήξης τους συχνά απορρίπτονται σε εγκαταστάσεις (π.χ. εργοστάσιο, κατάστημα, στο σπίτι του καταναλωτή, κ.α.). για παράδειγμα, σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από την Prudential Assurance Company, με βάσει συνεντεύξεις που έγιναν το 2004 σε πάνω από 1000 ενήλικες στο Ηνωμένο Βασίλειο, ο μέσος καταναλωτής πετάει τρόφιμα αξίας 424\$ ετησίως (Butler, 2006). Μεταξύ των προϊόντων που πετιούνται είναι το γάλα, το γιαούρτι, το μαρούλι, το ψωμί και τα φρούτα επειδή οι καταναλωτές δεν τα έφαγαν πριν λήξουν ή ξεπέρασαν την ημερομηνία λήξης τους. Μια άλλη μελέτη αναφέρει ότι εντός των καταστημάτων της ευρωπαϊκής λιανικής πώλησης, ο ρυθμός απόρριψης των αποθεμάτων λόγω του πέρατος της ημερομηνίας λήξης τους είναι 3% (Dallery and Sahin, 2005). Ως εκ τούτου, γίνεται σαφές ότι επιμηκύνοντας την ημερομηνία λήξης, θα μειωνόταν ο ρυθμός απόρριψης των αποθεμάτων λόγω αλλοίωσης.
- 10) Επέκταση της γεωγραφικής κάλυψης των επιχειρήσεων. Η επιμηκυμένη ημερομηνία λήξης μπορεί να συνεισφέρει στην επέκταση των εμπορικών περιοχών απορροών των

εταιρειών, δίνοντάς τους τη δυνατότητα να φτάσουν μέχρι πρότινος απρόσιτες περιοχές.

Πλεονεκτήματα που απορρέουν από την πληροφορία που δίνουν οι ΤΠΙ για τον εναπομείναντα χρόνο ζωής του προϊόντος

Ως εναπομείναντας χρόνος ζωής ορίζεται απλά η ημερομηνία λήξης του τροφίμου πλην τη σημερινή ημερομηνία, δηλαδή ο χρόνος που έχει ένα τρόφιμο ακόμα.

- 1) Σωστή εκτίμηση του εναπομείναντα χρόνου ζωής των τροφίμων. Στην περίπτωση όπου δεν γίνεται χρήση των ΤΠΙ, ο έλεγχος αποδοχής του νέου εμπορεύματος πραγματοποιείται κυρίως μέσω της ημερομηνίας λήξης, που αναγράφεται πάνω στα προϊόντα. Όμως, με τη χρήση των ΤΠΙ είναι δυνατή η επαλήθευση της μέσω της χρωματικής ένδειξης του δείκτη.
- 2) Καλύτερη διαχείριση των αποθεμάτων. Στην περίπτωση της χρήση των ΤΠΙ θα μπορούσε να αντικατασταθεί η πολιτική του πρωτο-εισερχόμενου/ πρωτο-εξερχόμενου προϊόντος (FIFO), με εκείνη της LSFO, δηλαδή εκείνης κατά την οποία εξέρχεται πρώτο το προϊόν με τη συντομότερη εναπομένουσα διάρκεια ζωής. Το πλεονέκτημα αυτής της πολιτικής είναι η μείωση της σπατάλης των τροφίμων. Σε μια ανάλυση υπόθεσης ενός προϊόντος ψυγμένης σαλάτας (Taoukis et al., 1998) έγινε εμφανής η υπεροχή της πολιτικής LSFO με τη χρήση ενός δείκτη ΤΠΙ. Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη, ενώ ο αρχικός ρυθμός συρρίκνωσης των ψυγμένων σαλατών ήταν 15-20%, στη συνέχεια μέσω του συνδυασμού της χρήσης ΤΠΙ και της πολιτικής LSFO παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του ρυθμού συρρίκνωσης. Στο κεφάλαιο 3.13.1 γίνεται εκτενέστερη αναφορά της πολιτικής αυτής.
- 3) Μεγαλύτερη ευελιξία στην τιμή των προϊόντων. Ανάλογα με την πραγματική εναπομένουσα διάρκεια ζωής των προϊόντων, θα ήταν δυνατή η διαβάθμιση των τιμών των προϊόντων προς πώληση από μέρους των εταιρειών. Επίσης, θα μπορούσαν τα καταστήματα να ακολουθήσουν μια παρόμοια τακτική. Με αυτόν τον τρόπο, θα μπορούσε να αυξηθεί η ποσότητα των προϊόντων τα οποία πωλούνται, καθώς και να μειωθούν οι οικονομικές απώλειες των καταστημάτων εξαιτίας της συρρίκνωσης των προϊόντων τους.
- 4) Βελτίωση της εξυπηρέτησης των τελικών καταναλωτών. Η χρήση των ΤΠΙ θα μπορούσε επίσης να έχει και μία αξιοσημείωτη επίδραση στην ανάληψη της ευθύνης μεταξύ των καταστημάτων και των τελικών καταναλωτών. Τα καταστήματα θα έχουν επίγνωση της φρεσκότητας των προϊόντων τους και ο καταναλωτής θα είναι σίγουρος για την ασφάλεια των προϊόντων τα οποία αγοράζει. (Sahin et al., 2007)

3.10.2 Μειονεκτήματα – Περιορισμοί για την εφαρμογή των ΤΠΙ και επιφυλακτικότητα από τους τελικούς χρήστες

- 1) Δεν υποδεικνύουν άμεσα την μικροβιακή αλλοίωση του τροφίμου. Αν και οι ΤΠΙ μπορούν να καταγράψουν τη μεταβολή της θερμοκρασίας καθ' όλη τη διάρκεια της ψυκτικής αλυσίδας, αδυνατούν να καταγράψουν το πλήρες θερμοκρασιακό ιστορικό και έτσι δεν αναμένεται να «εξηγήσουν» με απόλυτη ακρίβεια την προκύπτουσα ποιότητα του προϊόντος. Δίνεται ένα παράδειγμα για να γίνει αυτό πιο κατανοητό. Έστω ότι ένα τρόφιμο αποθηκεύεται σε ένα ψυγείο στους 4°C και λόγω κακής διαχείρισης η θερμοκρασία ανεβαίνει στους 12°C στην μία περίπτωση για 12 συνεχόμενες ώρες και στην δεύτερη περίπτωση πάλι για 12 ώρες, όμως όχι συνεχόμενες, αλλά διαμοιρασμένες σε 6 δίωρα διαστήματα. Το χρονικό διάστημα για το οποίο η θερμοκρασία του τρόφιμο αυξήθηκε στους 12°C είναι και στις δύο περιπτώσεις το ίδιο και έτσι, επακόλουθα, και στις δύο περιπτώσεις η απόκριση του ΤΠΙ θα είναι η ίδια. Εντούτοις, για την ποιότητα του συσκευασμένου τροφίμου, η κάθε περίπτωση μπορεί να έχει διαφορετικά αποτελέσματα, ειδικά καθώς το προϊόν χρειάζεται χρόνο για να θερμανθεί. Με 12 ώρες συνεχόμενης έκθεσης στους 12°C, το προϊόν θα βρίσκεται πράγματι στους 12°C για κάποιο διάστημα του χρόνου. Όταν όμως, εκτίθεται στους 12°C για 6 δίωρα διαστήματα, το πόσο τελικά θα θερμανθεί το προϊόν εξαρτάται από το χρονικό διάστημα που θα μεσολαβήσει μεταξύ αυτών των θερμών περιόδων (6 δίωρα). Ως συνέπεια, οι δύο πανομοιότυπες αποκρίσεις αυτού του παραδείγματος, μπορούν να σχετίζονται με δύο εντελώς διαφορετικές ποιότητες στο τελικό προϊόν.
- 2) Η σειρά των θερμοκρασιών που επιβάλλονται σε ένα τρόφιμο δεν θα διαφοροποιήσει την απόκριση του ΤΠΙ. Ωστόσο, για την ποιότητα του τροφίμου, η σειρά των ακόλουθων θερμοκρασιών, στις οποίες εκτέθηκε το προϊόν, μπορεί να προκαλέσει διαφορά. Για παράδειγμα, τα κλιμακτηρικά φρούτα που βρίσκονται πριν τη φάση της κλιμακτηρίου τους γενικά ανταποκρίνονται λιγότερο έντονα στη θερμοκρασία από ότι όταν βρίσκονται στη φάση της κλιμακτηρίου. Αφού λοιπόν η επίδραση της θερμοκρασίας στη φυσιολογία του φρούτου εξαρτάται από το στάδιο της φυσιολογίας του φρούτου, δύο συγκρίσιμα θερμοκρασιακά προφίλ –δηλαδή ίδιας απόκρισης στο ΤΠΙ- (από την άποψη του συνολικού αθροίσματος θερμοκρασίας) μπορεί να έχουν διαφορετικές επιδράσεις στο τρόφιμο, όσον αφορά την ποιότητα του τροφίμου, καθώς αυτή εξαρτάται από τη χρονική στιγμή που θα ασκηθεί στο τρόφιμο η θερμοκρασία που σχετίζεται με τη φυσιολογική ανάπτυξη του φρούτου (θερμοκρασία που συμβάλει στην κλιμακτήριο). (Ahvenainen Raija, 2003)
- 3) Οι ΤΠΙ μετρούν την θερμοκρασία του εξωτερικού περιβάλλοντος της συσκευασίας του τροφίμου και όχι του προϊόντος. Επειδή τα ΤΠΙ συχνά τοποθετούνται στο εξωτερικό τμήμα συσκευασιών, είναι εύλογο να προκύψει το ερώτημα αν η ετικέτα ελέγχει τη θερμοκρασία του αέρα γύρω από τη συσκευασία και όχι τη θερμοκρασία του προϊόντος. Εναλλακτικά, ο δείκτης θα μπορούσε να τοποθετηθεί στο εσωτερικό της

συσκευασίας με ένα παράθυρο μέσα από το οποίο θα φαίνεται η κλίμακα. Κάτι τέτοιο θα παρείχε ακριβέστερες θερμοκρασιακές τιμές καθώς θα επέτρεπε στον αισθητήρα να αποκριθεί καλύτερα στο ίδιο θερμικό περιεχόμενο με αυτό του τροφίμου στο εσωτερικό και να αναγνωστεί με εύκολο τρόπο.

- 4) Οι ΤΠΙ, που λειτουργούν με χημική ή ενζυμική αντίδραση αποδείχθηκε ότι πολλές φορές εμφανίζουν ευαισθησία στη διάχυση αερίου διαμέσου πολυμερούς φιλμ. Το φιλμ χρησιμοποιείται για να περιλάβει τα αντιδραστήρια. Για παράδειγμα, το CO² μπορεί να προκαλέσει επιτάχυνση στο ρυθμό αντίδρασης του ΤΠΙ.

Σημειώνεται ότι, σήμερα τα ΤΠΙ χρησιμοποιούνται ακόμα σε πολύ περιορισμένη κλίμακα και οι κυριότερες αιτίες που οδηγούν σε αυτήν την επιφυλακτικότητα απέναντί τους είναι οι εξής:

- **Αξιοπιστία:** Στηρίζεται αφενός στους υπερβολικούς ισχυρισμούς των κατασκευαστών κάποιων πρώτων μοντέλων και αφετέρου στην έλλειψη επαρκών δεδομένων από τις μελέτες απώλειας ποιότητας των τροφίμων. Παλαιότερες μελέτες δεν ήταν πλήρεις αφήνοντας έτσι πολλά ερωτηματικά. Επίσης, αρκετές προσπάθειες χρήσης των δεικτών για τον έλεγχο της ποιότητας δεν ήταν ορθά σχεδιασμένες και ήταν ανεπιτυχείς, ως αποτέλεσμα της μη καλής κατανομής των εννοιών, στη διαφοροποίηση των αξιόπιστων και μη συστημάτων ΤΠΙ. Συζητήσεις για να γίνει η χρήση των ΤΠΙ υποχρεωτική, πριν κατανοηθούν οι βασικές έννοιες και γίνει αποδεκτή η αξιοπιστία τους, οδήγησε σε αντίσταση την βιομηχανία και ίσως έχει βλάψει τη χρήση των ΤΠΙ μέχρι σήμερα.
- **Κόστος:** Το κόστος των περισσότερων δεικτών παραμένει αρκετά υψηλό παρ' όλο που αρκετοί δείκτες έχουν εισέλθει στη μαζική παραγωγή. Το υψηλό κόστος αποδίδεται κυρίως στις χαμηλές απαιτήσεις. Ένας καλός και προφανής τρόπος για να παραμείνουν τα κόστη ελέγχου σε αποδεκτά επίπεδα είναι να τυποποιηθεί η μονάδα που ελέγχεται σε ένα κατάλληλο μέγεθος (π.χ. κασόνι, παλέτα). Ωστόσο, αν όλα τα άλλα ερωτηματικά είναι απαντημένα η ανάλυση του οικονομικού οφέλους, παρά τις υψηλές τιμές των ΤΠΙ, θα ήταν υπέρ των δεικτών.
- **Εφαρμοσιμότητα:** Μέχρι πρότινος, οι σχετικές δημοσιεύσεις δεν υπήρξαν αρκετά αποτελεσματικές στο να παρουσιάσουν τη χρησιμότητα της απόκρισης ενός ΤΠΙ ως μέτρο για την ποιότητα του τροφίμου. Παρ' όλα αυτά, μεταγενέστερες μελέτες απέδειξαν πως τα μαθηματικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να περιγράψουν την απόκριση μια ετικέτας (Wells 1987, Taoukis and Labuza 1989, Taoukis 1989, Wells and Singh 1988).
- **Άγνοια των καταναλωτών:** Εκτός από τα ανωτέρω τεχνικά και οικονομικά προβλήματα, η άγνοια των καταναλωτών σε σχέση με την πραγματική αξία της επισήμανσης σχετικά με την ημερομηνία λήξης και τη βελτίωση της παρεχόμενης πληροφόρησης με την εφαρμογή των δεικτών, αποτελεί ένα πρόσθετο πρόβλημα στη χρήση τους (Cook, 1990, Sherlock and Labuza, 1991). Σύμφωνα με έρευνα (Anonymous, 1989), η παρουσία δείκτη μπορεί να επηρεάσει θετικά τον καταναλωτή να αγοράσει κάποιο προϊόν: περίπου 44% των καταναλωτών όταν ενημερώθηκαν σχετικά δήλωσαν ότι θα ήταν πρόθυμοι να αγοράσουν ένα περισσότερο ακριβό προϊόν με

ετικέτα φρεσκάδας (ΤΠΙ), κυρίως γιαούρτι, τυρί, φρέσκα ζυμαρικά. (Taoukis and Labuza, 2003)

3.11 Η στάση των καταναλωτών απέναντι στα ΤΠΙ

Διάφορες μελέτες που έχουν γίνει κατά καιρούς (Anonymous, 1991; Sherlock and Labuza, 1992) δείχνουν ότι οι καταναλωτές είναι σύμφωνοι με την χρήση των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών. Ειδικότερα, σύμφωνα με μια μελέτη στο Ηνωμένο Βασίλειο (Anonymous, 1991) η πλειοψηφία των ερωτηθέντων (95%, n = 511) θεώρησε τη χρήση των ΤΠΙ ως μια καλή ιδέα διότι τα ΤΠΙ δείχνουν εάν το τρόφιμο είναι ασφαλές (28%), εάν έχει διατηρηθεί στη σωστή θερμοκρασία (21%) και εάν το τρόφιμο είναι φρέσκο (16%). Επίσης, το 88% των ερωτηθέντων υποστήριξε πως πάνω στη συσκευασία των τροφίμων είναι απαραίτητο να αναγράφεται η ημερομηνία λήξης αλλά και να υπάρχει ΤΠΙ, ενώ το 11% θεώρησε ότι θα ήταν αρκετό το ένα από τα δύο μέτρα. Εκτός αυτού στην ίδια έρευνα η χρήση των ΤΠΙ θεωρήθηκε ως εργαλείο έτσι ώστε να μάθουν οι καταναλωτές ποιος είναι ο σωστός τρόπος μεταχείρισης των τροφίμων στο σπίτι. Έτσι στην περίπτωση όπου στην αρχή η ένδειξη του ΤΠΙ του τροφίμου ήταν η αποδεκτή αλλά κατά τη μετακίνηση στο σπίτι το χρώμα του ΤΠΙ μεταβλήθηκε ταχύτατα τότε αυτό μπορεί να σημαίνει πως το προϊόν διατηρήθηκε σε πολύ θερμό περιβάλλον.

Σε μια άλλη μελέτη στην Αμερική (n = 104) το 90% των ερωτηθέντων θεωρούσε επιθυμητή την προσθήκη των ΤΠΙ στις συσκευασίες των τροφίμων και το 97% πίστευε πως με αυτό το μέτρο, της χρήσης δηλαδή ΤΠΙ, αυξάνεται η εμπιστοσύνη για τη φρεσκότητα των προϊόντων.

Μάλιστα η ύπαρξη ΤΠΙ πάνω στη συσκευασία αύξησε την επιθυμία των καταναλωτών να αγοράσουν το συγκεκριμένο προϊόν (Sherlock and Labuza, 1992). Η συγκεκριμένη έρευνα πραγματοποιήθηκε έτσι ώστε να διαπιστωθεί η στάση των καταναλωτών απέναντι στη χρήση των ΤΠΙ σε κατεψυγμένα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Σε μια μικρή έρευνα (n = 21) που διεξήχθη στη Φινλανδία διαπιστώθηκε ότι οι καταναλωτές ήταν σύμφωνοι με τη χρήση των ΤΠΙ διότι δεν χρειαζόταν να στηρίζονται μόνο στις δικές τους αισθήσεις για τη διαπίστωση της φρεσκότητας των προϊόντων. Ωστόσο, κάποιιοι ήταν επιφυλακτικοί γιατί δεν ήταν σίγουροι για την ακρίβεια της πληροφορίας που παρέχει ο χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης.

Επίσης, στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού Ερευνητικού Προγράμματος **QLK1-2002-02545** (2003-2006) με τίτλο "**Development and Application of a Safety Monitoring and Assurance System for Chilled Meat Products**" (Taoukis, 2005, Wendin et al., 2005), πρόσφατες έρευνες πραγματοποιήθηκαν στην Ελλάδα, την Ιρλανδία, την Ολλανδία και τη Σουηδία με σκοπό να διερευνηθεί η στάση των καταναλωτών απέναντι στην επισήμανση των τροφίμων με χρονο-θερμοκρασιακούς δείκτες (ΤΠΙ) και την ερμηνεία του σήματός τους. Το 2004 στην έρευνα συμμετείχαν 200 καταναλωτές από όλες τις προαναφερθείσες χώρες, ενώ το 2005

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

συμμετείχαν 150 καταναλωτές από όλες τις παραπάνω χώρες, εκτός από την Ιρλανδία. Οι δύο δείκτες, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν στις δύο έρευνες ήταν ενζυμικοί, με τη μόνη διαφορά ότι το 2004 η χρωματική κλίμακα του ΤΠΙ ήταν από πράσινο σε κίτρινο, ενώ κατά το 2005 χρησιμοποιήθηκε τρίχρωμος δείκτης (πράσινο→κίτρινο→κόκκινο).

Τα συμπεράσματα που εξήχθησαν από τις δύο μελέτες, ήταν τα εξής:

- Η ιδέα τη χρήσης των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών δεν ήταν κυρίως γνωστή στην Ελλάδα (ωστόσο το 2005 οι καταναλωτές ήταν πιο ενημερωμένοι από το 2004).
- Οι καταναλωτές δεν αντιμετώπισαν καμία δυσκολία στην κατανόηση του τρόπου λειτουργίας των ΤΠΙ.
- Σύμφωνα με τους καταναλωτές η χρήση των ΤΠΙ προσφέρει μια επιπλέον ένδειξη της φρεσκότητας του τροφίμου και λειτουργούσε ενισχυτικά με την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.
- Η παρουσία των ΤΠΙ έδωσε μεγαλύτερη σιγουριά στους περισσότερους καταναλωτές (80% των ερωτηθέντων) όσον αφορά την ασφάλεια του τροφίμου.
- Οι καταναλωτές προτιμούν να αγοράζουν ένα προϊόν, το οποίο γνωρίζουν πόσο ακριβώς φρέσκο είναι.
- Λίγοι καταναλωτές (15% των ερωτηθέντων) θεώρησαν ότι η πληροφορία του ΤΠΙ τους μπερδεύει όταν χρησιμοποιείται παράλληλα με την ετικέτα της ημερομηνίας λήξεως του προϊόντος (περισσότεροι στην Ελλάδα, λιγότεροι στη Σουηδία).
- Η προθυμία να πληρώσουν οι καταναλωτές ένα επιπλέον ποσό για τη χρήση του ΤΠΙ, διέφερε από χώρα σε χώρα. Στην Ελλάδα η προθυμία ήταν μεγάλη, ενώ στις άλλες χώρες όχι. Ειδικά στην Ολλανδία η προθυμία ήταν ελάχιστη.
- Η πλειοψηφία των καταναλωτών δεν προτιμά την αγορά προϊόντων στα οποία επισυνάπτεται μόνο η ετικέτα της ημερομηνίας λήξης.

Σύμφωνα με την παραπάνω έρευνα, που συντονίστηκε (για την Ελλάδα) από το Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του ΕΜΠ στην Αθήνα (n = 200) εξήχθησαν ειδικότερα τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Αν και το 99% των ερωτηθέντων δήλωσε να μην έχει ακούσει για τα ΤΠΙ, περισσότερο από το 85% θεώρησε τις πληροφορίες που παρέχονται από τα ΤΠΙ πλήρως κατανοητές. Παραδέχτηκαν ωστόσο ότι η δική τους αίσθηση για τη φρεσκάδα του τροφίμου ήταν ισχυρότερο κριτήριο και από τη χρήση ημερομηνίας λήξης και από τη χρήση ΤΠΙ. Συγχρόνως, το 84% θεώρησε ότι η απάντηση ΤΠΙ ήταν ακριβέστερη από και τη χρήση της ημερομηνίας λήξης ενώ το 98% ήταν θετικό για τη χρήση ΤΠΙ.
- Οι ερωτηθέντες καταναλωτές κλήθηκαν επίσης να συγκρίνουν δύο φωτογραφίες προϊόντων κρέατος με ΤΠΙ. Στην πρώτη φωτογραφία παρουσιαζόταν μια τυπική εμπορική συσκευασία ψυγμένου κρέατος με την ημερομηνία λήξης. Στη δεύτερη φωτογραφία παρουσιαζόταν η ίδια συσκευασία κρέατος με την ταυτόχρονη παρουσία της ημερομηνίας λήξης και ενός ΤΠΙ. Περισσότερο από το 85% εξέφρασε την προτίμησή του για τη δεύτερη, όπου η πληροφορία που έδινε η ημερομηνία λήξης,

συμπληρωνόταν από την ένδειξη του χρονο-θερμοκρασιακού δείκτη. Εντούτοις, ένα 60% ήταν ακόμα δύσπιστο και πίστευε ότι μπορεί να υπάρξει σύγχυση με την ταυτόχρονη χρήση της ημερομηνίας λήξης και της ένδειξης ΤΠΙ.

3.12 Εφαρμογές των ΤΠΙ

Εφόσον η θερμοκρασία θεωρείται κύριος παράγοντας υποβάθμισης της ποιότητας των τροφίμων είναι σαφές ότι πρέπει όχι μόνο να ελέγχεται, αλλά να παρακολουθείται συστηματικά το χρονο-θερμοκρασιακό ιστορικό των τροφίμων. Για το λόγο αυτό καθίσταται αναγκαία η χρήση των ΤΠΙ. Η λίστα των προϊόντων, στα οποία μπορούν να εφαρμοστούν περιλαμβάνει:

- Φρέσκο κρέας
- Φρέσκα φρούτα
- Φρέσκα λαχανικά
- Κατεψυγμένα τρόφιμα, όπως κρέας, λαχανικά και άλλα
- Μπύρα και άλλα ποτά
- Γαλακτοκομικά προϊόντα
- Σοκολάτες
- Καραμέλες
- Καλλυντικά – Φάρμακα
- Προϊόντα φυτοκομίας και άλλα



Εικόνα 3.24: Εφαρμογή των φωτοχημικών ΟηVu ΤΠΙ και ενζυμικών ΤΠΙ σε σαλάτες

Παρακάτω αναφέρονται κάποια παραδείγματα εφαρμογής των ΤΠΙ:

- Καλιφόρνια – Εταιρεία επεξεργασίας κατεψυγμένων προϊόντων έκανε χρήση των συνεχούς απόκρισης ΤΠΙ για τον έλεγχο της διανομής των προϊόντων.
- Αλυσίδα υπεραγορών χρησιμοποίησε ΤΠΙ για τον έλεγχο της διαχείρισης αποθεμάτων (Mohel, 1988).
- Μασαχουσέτη – Εταιρεία θαλασσινών χρησιμοποίησε τον ενζυμικό τύπο ΤΠΙ σε παλέτες (Denford, 1983).

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

- Ισπανία – ΤΠΙ χρησιμοποιούνται από αλυσίδα υπεραγορών (Continent).
- Γαλλία – Η αλυσίδα υπεραγορών Monoprix χρησιμοποιεί ΤΠΙ ήδη από το 1988 για την παρακολούθηση της ποιότητας γαλακτοκομικών προϊόντων και συσκευασμένου κρέατος.
- Μεγάλη εταιρεία που παράγει κατεψυγμένα γεύματα χρησιμοποιεί ΤΠΙ για έμμεσο έλεγχο της ποιότητας (Αnonymous, 1987).
- Εταιρεία εφαρμόζει δείκτες σε φρεσκοκομμένες σαλάτες (Αnonymous 1987).
- Εταιρεία παραγωγής αναψυκτικών έχει χρησιμοποιήσει δοκιμαστικά ΤΠΙ σε προϊόντα διαίτης (Αnonymous 1987).
- Η.Π.Α. – ΤΠΙ χρησιμοποιούνται από την αλυσίδα υπεραγορών CUB FOODS.
- ΤΠΙ χρησιμοποιούνται σε εμβόλια ιλαράς και πολιομυελίτιδας, στα πλαίσια προγραμμάτων εμβολιασμού των χωρών του τρίτου κόσμου.
- Η μονάδα διανομής φαγητού της εταιρείας Carrefour χρησιμοποιεί χρονο-θερμοκρασιακούς δείκτες για να αποδείξει στους καταναλωτές της την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων που διανέμει (Εικόνα 3.25)
- Η μεγαλύτερη γερμανική αλυσίδα λιανικής πώλησης, EDEKA, πειραματίζεται στη χρήση των OnVu ΤΠΙ στα προϊόντα κρέατος που διαθέτει (Εικόνα 3.26).



Εικόνα 3.25: Fresh-Check δείκτης σε συσκευασία φρούτων και λαχανικών της αλυσίδας καταστημάτων Carrefour



Εικόνα 3.26: Δοκιμές των OnVu ΤΠΙ σε προϊόντα κρέατος από τη γερμανική αλυσίδα EDEKA

- Η αεροπορική εταιρεία British airways έχει δημιουργήσει ένα Smart Label σύστημα ελέγχου για τις κατεψυγμένες έτοιμες τροφές που καταναλώνονται κατά τη διάρκεια της πτήσης. Χρησιμοποιούνται από την εταιρεία ενζυμικού τύπου bicolor ΤΠΙ της εταιρείας VITSAB. Τα ΤΠΙ επισυνάπτονται στα ειδικά έντυπα, που τοποθετούνται στο θάλαμο γευμάτων, προκειμένου να παρακολουθείται με ακρίβεια το χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ, στο οποίο εκτίθενται τα γεύματα. Κατά την ενεργοποίηση – όπως έχει αναφερθεί για τα συγκεκριμένου τύπου ΤΠΙ – οι δείκτες αποκτούν έντονο πράσινο χρωματισμό, που σταδιακά εξελίσσεται σε κίτρινο. Στο έντυπο υπάρχει και μια κλίμακα χρώματος. Όσο το χρώμα του δείκτη διατηρείται σε πράσινες αποχρώσεις της κλίμακας η τροφή είναι κατάλληλη για κατανάλωση ενώ όταν το χρώμα γίνει κίτρινο αυτό αποτελεί ένδειξη ότι το τρόφιμο εκτέθηκε σε συνθήκες (χρονο-θερμοκρασιακές), που το καθιστούν ακατάλληλο για κατανάλωση.

Η συνεργασία της British Airways με τη Vitsab βραβεύτηκε στο Συμβούλιο της IFSA (International Inflight Food Service Association) στις 11 Μαρτίου 2005 στην Κοπεγχάγη, Δανία. Στην Εικόνα 3.27 φαίνεται το Smart Label της British Airways και η εφαρμογή του κατά τη διάρκεια των πτήσεων.



Εικόνα 3.27: Το σύστημα ελέγχου SmartLabel της British Airways

- Το 2008 η ελβετική εταιρεία Ernst Kneuss Geflügel A.G., η οποία δραστηριοποιείται στην παραγωγή κοτόπουλων, άρχισε να κάνει χρήση των φωτοχημικών δεικτών OnVu των εταιρειών Ciba και Freshpoint, όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.28.



Εικόνα 3.28 : Εφαρμογή των OnVuaπό την ελβετική εταιρεία Kneuss

- Η εταιρεία Temptime ασχολείται τα τελευταία 15 χρόνια με την παραγωγή χρονο – θερμοκρασιακών δεικτών που βρίσκουν εφαρμογή σε ένα μεγάλο εύρος προϊόντων, από τρόφιμα έως εμβόλια, σύριγγες και άλλα ευαίσθητα ιατρικά είδη. Προϊόντα της είναι οι δείκτες: Heatmarker®, TH-F®, DEGmarker™, FREEZEmarker®, Transtracker®, Fresh-Check®.

3.13 Συστήματα διαχείρισης της ψυκτικής αλυσίδας με χρήση των ΤΠΙ

3.13.1 Σύστημα FIFO – LSFO ή SRSL

Μεγάλη σημασία έχει η εφαρμογή των ΤΠΙ στη διαχείριση αποθεμάτων.

Η πολιτική του **FIFO** (first-in/first-out) πρωτο-εισερχόμενου πρωτο-εξερχόμενου, χρησιμοποιείται σήμερα για να καθορίσει τη σειρά με την οποία τα ψυγμένα και κατεψυγμένα τρόφιμα διανέμονται. Τα προϊόντα που λαμβάνονται πρώτα και / ή έχουν τη συντομότερη ημερομηνία λήξης αποστέλλονται και εκτίθενται στους καταναλωτές πρώτα. Όταν όμως οι θερμοκρασιακές συνθήκες κατά τη μεταφορά και τη διαχείριση δεν είναι οι πλέον κατάλληλες, η FIFO πολιτική αδυνατεί να αποζημιώσει για την αυξημένη αλλοίωση και την ανομοιομορφία στην ποιότητα του προϊόντος που θα διανεμηθεί.

Ένας εναλλακτικός τρόπος διαχείρισης των αποθεμάτων θα ήθελε να εξέρχεται πρώτο το προϊόν με τη λιγότερη διάρκεια ζωής **LSFO** (least-shelf-life/first out) ή το προϊόν με τη συντομότερη εναπομένουσα διάρκεια ζωής **SRSL** (shortest- remaining-shelf-life).

Το πλεονέκτημα αυτής της πολιτικής είναι η μείωση της σπατάλης των τροφίμων και η παροχή ποιότητας με περισσότερη συνέπεια, παρά την έκθεσή τους σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

Εφαρμογή αυτής της πολιτικής έχει τη δυνατότητα να βελτιώσει την ποιότητα των ευαλλοιώτων τροφίμων καθώς η σειρά διανομής στην αγορά θα βασίζεται στην εκτίμηση της αλλαγής στην ποιότητα και όχι στον παρερχόμενο χρόνο αποθήκευσης (Τούλη, 2013).

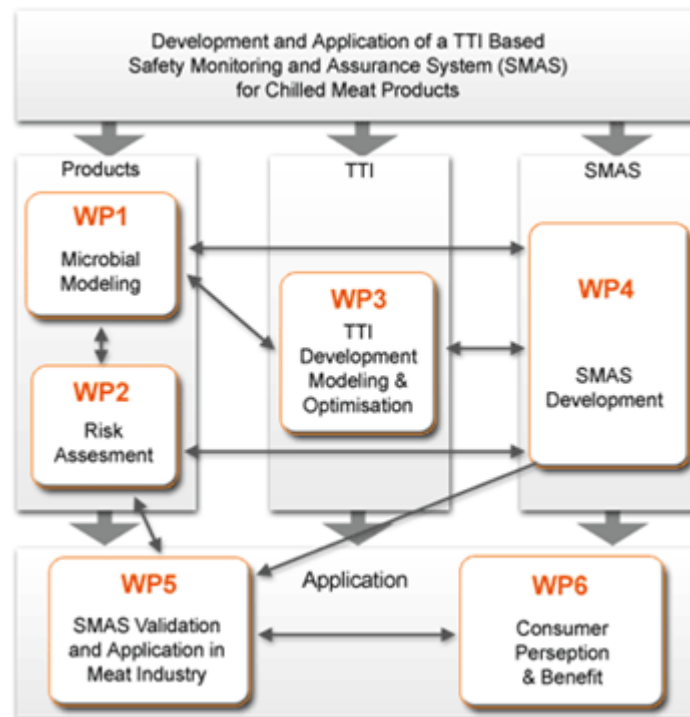
3.13.2 Ανάπτυξη και εφαρμογή συστήματος SMAS (Safety Monitoring and Assurance System)

Το **SMAS** είναι ένα ολοκληρωμένο σύστημα διαχείρισης της ψυκτικής αλυσίδας του προϊόντος και στοχεύει στη βελτιστοποίηση της διακίνησης των προϊόντων από την άποψη της ασφάλειας και της ποιότητας. Βασίζεται στη δυνατότητα της συνεχούς καταγραφής των θερμοκρασιακών συνθηκών του κάθε προϊόντος με τη χρήση χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών ΤΠΙ.

Σε αυτό το σύστημα επιχειρείται να αντικατασταθεί το FIFO και να δοθεί μια νέα προσέγγιση για τη διαχείριση των αποθεμάτων. Αξιολογούνται τα προϊόντα και δίνεται προτεραιότητα σε αυτά με το μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο, με το μεγαλύτερο δηλαδή βαθμό αλλοίωσης, ο οποίος βέβαια εξακολουθεί να βρίσκεται στα αποδεκτά πλαίσια. Αυτή η ιεράρχηση των τροφίμων χρησιμοποιεί ως κριτήριο την απόκριση των συνημμένων ΤΠΙ, που απεικονίζει το χρονοθερμοκρασιακό ιστορικό των προϊόντων.

Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΤΙ

Το ακρωνύμιο SMAS είναι ο σύντομος τίτλος του τριετούς προγράμματος (2003-2006) ερευνητικού έργου “Development and application of a TTI based Safety and Monitoring System for Chilled Meat Products”, το οποίο συντονίστηκε από το Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Χρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (κωδικός έργου QLK1-CT-2002-02545), στα πλαίσια της δράσης Τρόφιμα, Διατροφή, Υγεία του 5^{ου} Προγράμματος Πλαισίου. Το έργο εστιάζει στην ανάπτυξη επικυρωμένων μοντέλων πρόρρησης και ανάπτυξης παθογόνων και αλλοιωγόνων μικροοργανισμών στο κρέας και στην κινητική απόκρισης επιλεγμένων ΤΤΙ και το σχεδιασμό σχήματος εφαρμογής για τη μετάφραση της απόκρισης των ΤΤΙ στη μικροβιολογική ποιότητα του κρέατος.



Σχήμα 3.4: Διάγραμμα διεργασιών συστήματος SMAS ψυγμένου κρέατος με τη βοήθεια ΤΤΙ

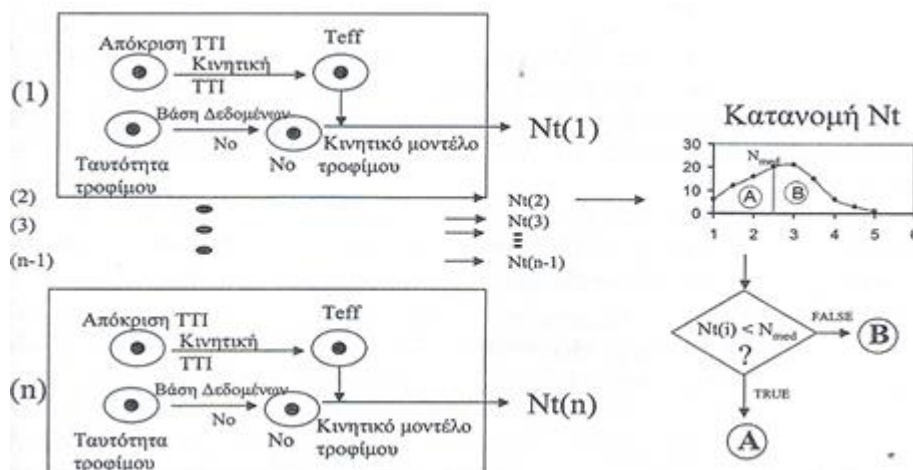
Το SMAS χρησιμοποιεί τα επαληθευμένα μοντέλα μικροβιακής ανάπτυξης των παθογόνων και των ειδικών μικροοργανισμών αλλοίωσης (Specific spoilage organisms SSO) για κάθε είδος προϊόντος κρέατος, στοιχεία για την κατανομή του αρχικού μικροβιακού πληθυσμού των αλλοιογόνων οργανισμών, N_0 , καθώς και για την πιθανότητα ύπαρξης παθογόνων, τη συνεχή θερμοκρασιακή καταγραφή της ψυκτικής αλυσίδας με τη βοήθεια των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών και τέλος, τη συσχέτιση της οργανοληπτικής αποδοχής με ένα τελικό επίπεδο μικροοργανισμών, N_S , που σηματοδοτεί τη λήξη της ζωής του προϊόντος.

Όλα τα παραπάνω στοιχεία εισάγονται στο σύστημα και ολοκληρώνονται με τη βοήθεια ενός λογισμικού, το οποίο επιτρέπει τον υπολογισμό της εναπομένουσας ζωής και της επικινδυνότητας (risk assessment) των μεμονωμένων μονάδων προϊόντων σε κρίσιμα σημεία της ψυκτικής αλυσίδας.

Με βάση την κατανομή της εναπομένουσας διατηρησιμότητας που υπολογίζεται σε οποιοδήποτε στάδιο διακίνησης, είναι δυνατό να ληφθούν αποφάσεις για βέλτιστες συνθήκες μεταχείρισης, μεταφοράς και αποθήκευσης. Ο απώτερος στόχος είναι να επιτευχθεί μια, κατά το δυνατόν, στενότερη κατανομή ποιότητας στο τελικό στάδιο της κατανάλωσης και μείωση του ρίσκου ασθένειας κατά την κατανάλωση.

Το λογικό διάγραμμα του αλγορίθμου, το οποίο ακολουθείται και το οποίο αποτελεί τη βάση σχεδιασμού του SMAS παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.5, όπου απεικονίζεται ο μηχανισμός λήψης αποφάσεων σε ένα υποθετικό σημείο ελέγχου της ψυκτικής αλυσίδας, π.χ. το κέντρο διανομής, όπου τα προϊόντα που προέρχονται από την ίδια αρχική παρτίδα μοιράζονται στα δύο και προωθούνται σε δύο διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης ένα σε μικρή και ένα σε μεγάλη απόσταση. Το «μοίρασμα» αυτό θα μπορούσε να γίνει με τυχαίο τρόπο, σύμφωνα με την τρέχουσα συμβατική πρακτική προώθησης προϊόντων FIFO (first-in, first-out) ή, εναλλακτικά, να στηριχθεί στην πραγματική κατάσταση ποιοτικής υποβάθμισης του καθενός, μεμονωμένου τεμαχίου (Giannakourou et al., 2001).

Με βάση την εναλλακτική τεχνική του SMAS, τα προϊόντα με το μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο N_t , με το μεγαλύτερο δηλαδή βαθμό αλλοίωσης –ο οποίος βέβαια εξακολουθεί να βρίσκεται στα αποδεκτά πλαίσια - θα μεταφερθούν στον πλησιέστερο προορισμό (B), προκειμένου να καταναλωθούν σε συντομότερο χρονικό διάστημα, ενώ τα λιγότερο προσβεβλημένα, από μικροβιολογική άποψη, τεμάχια θα κατευθυνθούν στην πιο μακρινή αγορά (A).



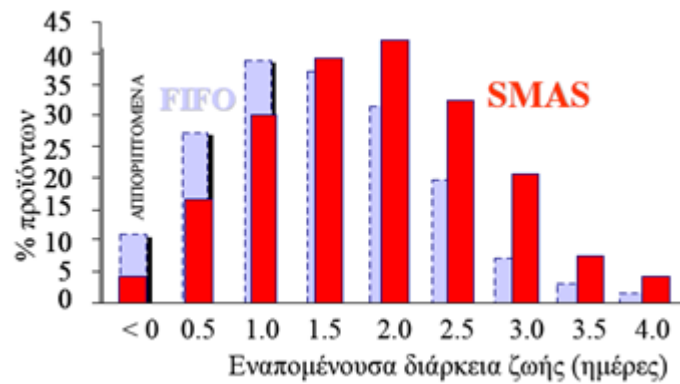
Σχήμα 3.5: Λογικό διάγραμμα του αλγορίθμου λήψης απόφασης σε κρίσιμα σημεία ελέγχου της αλυσίδας διακίνησης (Koutsoumanis et al., 2005)

Στα σημαντικά σημεία απόφασης της ψυκτικής αλυσίδας, η εφαρμογή του SMAS προϋποθέτει την εισαγωγή της απόκρισης του συνημμένου στο τρόφιμο ΤΠΙ και των χαρακτηριστικών του προϊόντος. Αυτές οι πληροφορίες καταχωρούνται απευθείας σε μια φορητή, εξοπλισμένη με το κατάλληλο λογισμικό εργαλείο του SMAS, μονάδα, έτσι ώστε να γίνει δυνατή η αυτόματη "μετάφραση" αυτών των δεδομένων σε ποιότητα N_t και επικινδυνότητα. Στο λογισμικό του

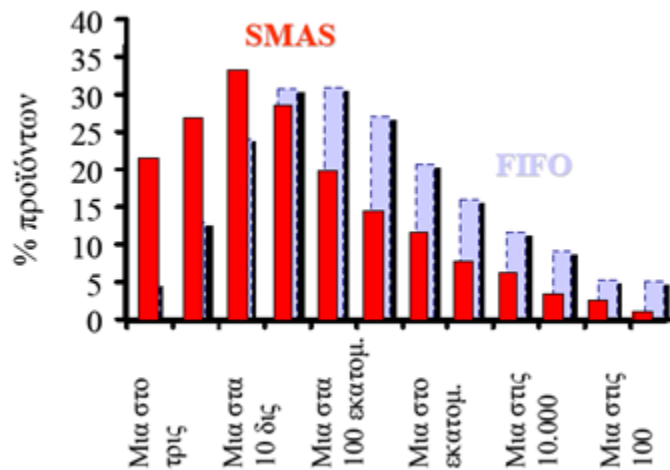
Κεφάλαιο 3: Χρονο-θερμοκρασιακοί ολοκληρωτές ΤΠΙ

SMAS, χρησιμοποιούνται κινητικές εξισώσεις για την πρόβλεψη της μικροβιακής ανάπτυξης, όπως το λογιστικό μοντέλο 4 παραμέτρων, λαμβάνοντας υπόψη και την εκθετική φάση ανάπτυξης μ_{max} (h^{-1}) και τη λανθάνουσα φάση (h). Η θερμοκρασιακή εξάρτηση εκφράζεται μαθηματικά με την εξίσωση Arrhenius ή Belehradek (Ταούκης, 2005).

Η συμβολή του SMAS στην διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας μπορεί να απεικονιστεί ως ελαχιστοποίηση του κινδύνου παθογένεσης από την κατανάλωση αλλοιωμένου κρέατος (σχήμα 3.6) και βελτιστοποίηση της ποιότητας των προϊόντων κρέατος κατά την διάρκεια της κατανάλωσης (σχήμα 3.7). (Ταούκης, 2005).



Σχήμα 3.6: Μείωση της πιθανότητας ασθένειας με εφαρμογή του SMAS



Σχήμα 3.7: Βελτίωση της κατανομής ποιότητας με την εφαρμογή του SMAS

3.14 Μελλοντικές τάσεις για τη χρήση ΤΠΙ

Οι χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες αναμένεται να έχουν ένα καλύτερο μέλλον και ευρύτερη εφαρμογή στον έλεγχο της διακίνησης των προϊόντων, όταν το σύνολο των δυνατοτήτων που παρέχουν γίνει απόλυτα κατανοητό από τη βιομηχανία τροφίμων. Η πρόοδος σε ότι αφορά την ποικιλία, την αξιοπιστία και την ευελιξία των ΤΠΙ, αλλά και τον καλύτερο προσδιορισμό της διάρκειας ζωής των προϊόντων τροφίμων, θα επιτρέψει την επιτυχή εφαρμογή των εργαλείων αριστοποίησης της ψυκτικής αλυσίδας όπως το σύστημα λήψης αποφάσεων SLDS (Shelf Life Decision System). Επίσης, η τεχνολογία ανάπτυξης των ΤΠΙ εστιασμένη στην ποσοτική ανάλυση της επικινδυνότητας των τροφίμων, θα επιτρέψει τη μελέτη και ανάπτυξη ενός συστήματος που βασίζεται στα ΤΠΙ και το οποίο μαζί με την ποιότητα θα επιβεβαιώνει και την ασφάλεια της ψυκτικής αλυσίδας, όπως συμβαίνει με το σύστημα SMAS (Safety Monitoring and Assurance System) (Taoukis και Labuza, 2003).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Πειραματική διαδικασία – Υλικά και μέθοδοι

4.1 Εισαγωγή - Σκοπός

Έχει γίνει εμφανές από τα προηγούμενα κεφάλαια ότι η ψυκτική αλυσίδα των τροφίμων χαρακτηρίζεται από μεγάλες απώλειες ποιότητας λόγω σημαντικών αποκλίσεων από τις προδιαγραφές της θερμοκρασίας. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι ο κιμάς αποτελεί ένα ευαλλοιώτο τρόφιμο που αποτελεί εξαιρετικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Για το λόγο αυτό, η χρήση χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΠ) κρίνεται απαραίτητη, έτσι ώστε να διασφαλιστεί η ποιότητα του κρέατος κατά τη διακίνησή του στην ψυκτική αλυσίδα. Προϋπόθεση για την εύρεση του κατάλληλου ΤΠ είναι η εύρεση της συνάρτησης απόκρισης διάφορων ΤΠ, η κινητική μελέτη της αλλοίωσης του κιμά και η συσχέτισή τους.

Η παρούσα εργασία αφορά στη μελέτη της απόκρισης ενζυμικών και φωτοχημικών τύπων ΤΠ καθώς και την κινητική μελέτη της αλλοίωσης προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά συσκευασμένου υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP). Πιο συγκεκριμένα, ο σκοπός της εργασίας είναι η επίτευξη των ακόλουθων στόχων:

- Η μελέτη της κινητικής απόκρισης νέων ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠ σε θερμοκρασίες ψύξης και κατάψυξης και η ανάπτυξη μαθηματικών μοντέλων με απώτερο σκοπό την εφαρμογή τους στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας.
- Η μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας αποθήκευσης στην ποιότητα και τη διάρκεια ζωής φρέσκου βόειου κιμά, δύο διαφορετικών προελεύσεων κρέατος (Γαλλίας και Βελγίου), συσκευασμένου υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας MAP (80% O₂, 8% CO₂, 12% N₂).
- Η μελέτη της επίδρασης της αναλογίας μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) της συσκευασίας στην εμπορική διάρκεια ζωής του προϊόντος, συσκευασμένου υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας MAP (80% O₂, 8% CO₂, 12% N₂).
- Η εύρεση του κατάλληλου ΤΠ και η χρήση του για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά στην ψυκτική αλυσίδα. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω της συσχέτισης της μικροβιακής ανάπτυξης του κιμά και της κινητικής απόκρισης ορισμένων επιλεγμένων ΤΠ.

4.2 Μελέτη ενζυμικών και φωτοχημικών χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΤΙ)

Στο πρώτο μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας μελετήθηκε η κινητική απόκριση των παρακάτω τύπων χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών:

- ενζυμικών ΤΤΙ της εταιρείας Vitsab, τύπου M (Check Point®, VITSAB, Malmo, Sweden) με διαφορετική συγκέντρωση ενζύμου (παγκρεατική λιπάση) το καθένα (Units) . Οι δείκτες αυτοί ήταν οι ακόλουθοι: M_4.2U, M_7.2U, M_11U, M_13U, M_20U, M_25U, M_37U και M_44U (Σε κάθε δείκτη εφαρμόστηκαν 5 επαναλήψεις).
- φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου On-Vu B1 της εταιρείας OnVu (OnVu™, Bizerba, Germany) για χρόνους έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV) 0.6 s, 1s και 2s, On-Vu B1_Snowflake της εταιρείας On-Vu για χρόνους έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV) 1s και 2s και On-Vu BL της εταιρείας On-Vu για χρόνους έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV) 1s και 2s (Σε κάθε δείκτη διαφορετικού χρόνου έκθεσης (charging time) εφαρμόστηκαν 4 επαναλήψεις).



Εικόνα 4.1: Μη ενεργοποιημένοι φωτοχημικοί δείκτες (α) τύπου B1, (β) τύπου B1_Snowflake και (γ) τύπου BL

4.2.1 Πειραματική διαδικασία

- 1) Αρχικά, έγινε η ενεργοποίηση των παραπάνω ενζυμικών και φωτοχημικών χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών.
- 2) Στη συνέχεια, εκτελέστηκαν πειράματα τόσο σε ισοθερμοκρασιακές συνθήκες όσο και θερμοκρασιακά μεταβαλλόμενες συνθήκες. Συγκεκριμένα, ένας ορισμένος αριθμός δειγμάτων από κάθε τύπο ΤΤΙ τοποθετήθηκε σε θαλάμους σταθερής θερμοκρασίας. Στους Πίνακες 4.1 και 4.2 φαίνονται οι θερμοκρασίες μελέτης για κάθε τύπο ΤΤΙ.
- 3) Ανά τακτά χρονικά διαστήματα, σε κάθε θερμοκρασία και για κάθε τύπο ΤΤΙ γινόταν μέτρηση της μεταβολής του χρώματος με τη χρήση χρωματόμετρου (X-rite, Michigan, USA) καθώς. Ύστερα από επεξεργασία των παραμέτρων του χρώματος εξήχθησαν οι συναρτήσεις απόκρισης των ΤΤΙ

Πίνακας 4.1: Θερμοκρασίες μελέτης για κάθε τύπο ενζυμικού ΤΤΙ

Τύπος ενζυμικού ΤΤΙ	Θερμοκρασίες (°C)
M_4.2U	15, 10, 5, 0, -5, -9, -10, -12, -15
M_7.2U	15, 10, 5, 0, -5, -8, -10, -12, -15
M_9.6U	15, 10, 5, 0, -5, -8, -10, -12, -15
M_11U	15, 10, 5, 0, -5, -9, -10, -12, -15
M_13U	15, 10, 5, 0, -5, -9, -10, -12, -15
M_20U	15, 10, 5, 0, -5, -9, -10, -12, -15
M_25U	15, 10, 5, 0, -5, -9, -10, -12, -15
M_37U	15, 10, 5, 0, -5, -8, -10, -12, -15
M_44U	15, 10, 5, 0, -5, -8, -9, -12, -15

Πίνακας 4.2: Θερμοκρασίες μελέτης για κάθε τύπο φωτοχημικού ΤΤΙ

Τύπος φωτοχημικού ΤΤΙ	Θερμοκρασίες (°C)
B1_C, 0.6s	15, 10, 5, 0
B1_C, 1s	15, 10, 5, 0
B1_C, 2s	15, 10, 5, 0
B1_H, 1s	15, 10, 5, 0
B1_H, 2s	15, 10, 5, 0
B1_Snowflake	15, 10, 5, 0
B1_Snowflake	15, 10, 5, 0
BL, 1s	15, 10, 5, 0
BL, 2s	15, 10, 5, 0



Εικόνα 4.2: Εργαστηριακή χρωματική κλίμακα ενζυμικών ΤΤΙ τύπου M



Εικόνα 4.3: Εργαστηριακή χρωματική κλίμακα φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1

Σημειώνεται ότι για τους δείκτες M_4.2U, B1_H-1s, B1_Snowflake-1s και BL-1s πραγματοποιήθηκαν πειράματα και σε θερμοκρασιακά μεταβαλλόμενες συνθήκες ψύξης και για του δείκτες M_4.2U και M_37U σε θερμοκρασιακά μεταβαλλόμενες συνθήκες κατάψυξης. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν τα παρακάτω χρονο-θερμοκρασιακά προφίλ:

Ψύξης:

- 5°C (5h)
- 8°C (5h)
- 10°C (2h)

Κατάψυξης:

- -5°C (12h)
- -8°C (12h)
- -10 °C (12h)

4.2.2 Συσκευές πειραματικής διαδικασίας

Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω συσκευές:

- Bizerba Desktop charger–GLP80 για την ενεργοποίηση των φωτοχημικών ΤΠΙ On-Vu B1 (B1_C) και την εναπόθεση κατάλληλου προστατευτικού φίλτρου.
- On-Vu handcharger για την ενεργοποίηση των φωτοχημικών ΤΠΙ On-Vu B1 (B1_H και B1_Snowflake) και On-Vu BL. Εδώ, το προστατευτικό φίλτρο τοποθετήθηκε μετέπειτα χειρονακτικά.
- Θάλαμοι αποθήκευσης των ΤΠΙ (Μοντέλο : Sanyo MIR 253 , καταψύκτες Whirlpool)
- Χρωματόμετρο X-rite Eye1pro Colorimeter Illumination D50 για τη μέτρηση του χρώματος των ΤΠΙ

Bizerba Desktop charger – GLP80 και On-Vu handcharger

Οι φωτοχημικοί δείκτες OnVu B1 (B1_C) ενεργοποιήθηκαν με τη βοήθεια του Desktop charger της εταιρείας Bizerba (Εικόνα 4.4) και οι φωτοχημικοί δείκτες OnVu B1 (B1_H και B1_Snowflake) και On-Vu BL με τον On-Vu handcharger (Εικόνα 4.5), σε διάφορους χρόνους έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα ΤΠΙ που ενεργοποιούνται με τη χρήση του Desktop charger συνοδεύονται και από προστατευτικό φιλμ. Τα ΤΠΙ που ενεργοποιούνται με τον On-Vu handcharger Η χρήση αυτού του φιλμ έχει σαν στόχο την προστασία των φωτοχημικών ΤΠΙ από την υπεριώδη ακτινοβολία του φωτός του περιβάλλοντος αποθήκευσης.



Εικόνα 4.4: Bizerba Desktop charge – GLP80



Εικόνα 4.5: On – Vu handcharger

Θάλαμοι αποθήκευσης των ΤΠΙ

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων σε ισοθερμοκρασιακές συνθήκες, τα ΤΠΙ τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενου θερμοκρασιακού περιβάλλοντος. Τα μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το SANYO MIR 253 και οι καταψύκτες Whirlpool.

Πρέπει να σημειωθεί ότι για τον έλεγχο της θερμοκρασίας των θαλάμων ήταν τοποθετημένα μέσα σε αυτούς ηλεκτρονικά καταγραφικά θερμοκρασίας (data loggers), τα οποία καταγράφουν πληροφορίες χρόνου-θερμοκρασίας, οι οποίες μπορούν να μεταφερθούν

Συσκευή μέτρησης χρώματος

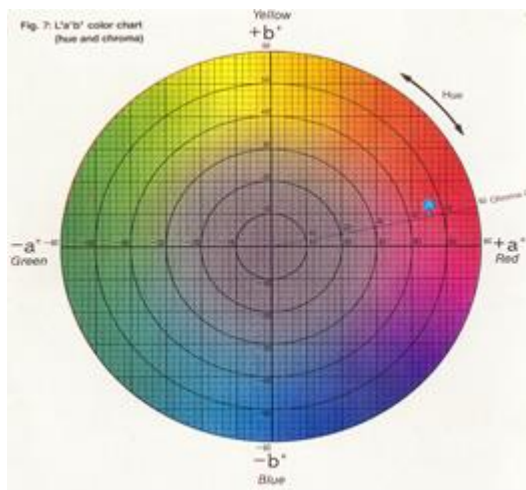
Για τον προσδιορισμό των παραμέτρων χρώματος χρησιμοποιήθηκε η συσκευή **X-rite Eye1pro Colorimeter Illumination D50** (Εικόνα 4.6).



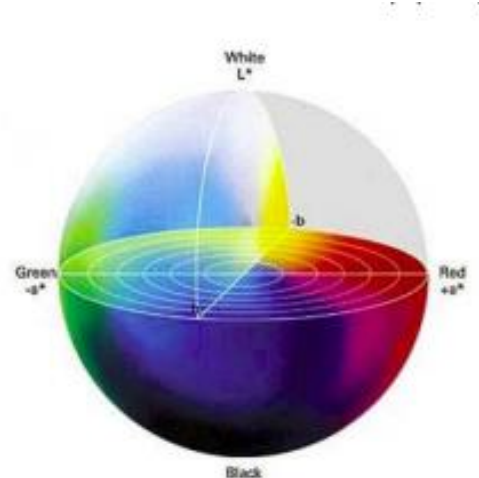
Εικόνα 4.6: Χρωματόμετρο X-rite Eye1pro

Η συσκευή αυτή προσδιορίζει τις παραμέτρους L, a και b στο τριαξονικό σύστημα CIELAB.

Η παράμετρος a όταν παίρνει αρνητικές τιμές προσδιορίζει το πράσινο χρώμα, ενώ στις θετικές τιμές προσδιορίζει το κόκκινο χρώμα. Επίσης, η παράμετρος b στις αρνητικές τιμές προσδιορίζει το μπλε χρώμα ενώ στις θετικές τιμές το κίτρινο χρώμα. Το L προσδιορίζει την φωτεινότητα του δείγματος (Εικόνες 4.7 και 4.8).



Εικόνα 4.7: Το χρωματικό διάγραμμα των a, b.



Εικόνα 4.8: Απεικόνιση στο χώρο των L a, b.

Οι παράμετροι αυτές επιτρέπουν τον υπολογισμό της συνολικής μεταβολής χρώματος (ΔC) και της συνολικής μεταβολής της οπτικής απόκρισης (ΔE), που δίνονται αντίστοιχα από τις παρακάτω σχέσεις (MacDougall, 1988):

$$\Delta C = \sqrt{(a-a_0)^2 + (b-b_0)^2} \quad (4.1)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L-L_0)^2 + (a-a_0)^2 + (b-b_0)^2} \quad (4.2)$$

όπου, L_0 :η τιμή της φωτεινότητας ενός μη ενεργοποιημένου ΤΤΙ

a_0 :η τιμή της παραμέτρου a ενός μη ενεργοποιημένου ΤΤΙ

b_0 :η τιμή της παραμέτρου b ενός μη ενεργοποιημένου ΤΤΙ

4.3 Μελέτη των παραγόντων αλλοίωσης νωπού βόειου κιμά σε MAP

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκε μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά, συσκευασμένα υπό MAP (80%O₂, 8%CO₂, 12%N₂), με απώτερο σκοπό την επιλογή κατάλληλων δεικτών για την παρακολούθηση της ποιότητας του τροφίμου αυτού στην ψυκτική αλυσίδα. Στο κομμάτι αυτό, πραγματοποιήθηκαν 2 σειρές πειραμάτων, στις οποίες μελετήθηκαν η μικροβιακή αλλοίωση, η μεταβολή του pH, του χρώματος και της αέριας σύστασης, ενώ πραγματοποιήθηκε και οργανοληπτική αξιολόγηση.

Στην πρώτη σειρά πειραμάτων έγινε μελέτη της διατηρησιμότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά, δύο διαφορετικών προελεύσεων (Γαλλίας και Βελγίου) συσκευασμένου υπό συνθήκες MAP. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους σταθερής θερμοκρασίας ψύξης 2.5, 5 και 10°C και σε μεταβαλλόμενες συνθήκες ψύξης.

Στη συσκευασία των δειγμάτων τοποθετήθηκαν και ενεργοποιήθηκαν κατάλληλα επιλεγμένοι ενζυμικοί και φωτοχημικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες. Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετήθηκαν στους κατάλληλους θαλάμους σταθερής και μεταβαλλόμενης θερμοκρασίας.

Ανά τακτά χρονικά διαστήματα, σε κάθε θερμοκρασία και για κάθε είδος θαλασσινού, γινόταν μέτρηση της μεταβολής του χρώματος των ΤΤΙs με τη χρήση χρωματομέτρου, (Εικόνα 4.8). Ύστερα από επεξεργασία των παραμέτρων του χρώματος εξήχθησαν οι συναρτήσεις απόκρισης των ΤΤΙ.



Εικόνα 4.9: Συσκευασία φρέσκου βόειου κιμά (α) πριν και (β) μετά την τοποθέτηση των ΤΤΙ

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης της αναλογίας μάζας βόειου κιμά και της υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) της συσκευασίας στη διατηρησιμότητα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν δείγματα των 100g, των 250g και των 500g νωπού βόειου κιμά. Η συσκευασία και στις τρεις περιπτώσεις

αυτές ήταν η ίδια και άλλαζε μόνο η υπερκείμενη αέρια φάση, δηλαδή όσο μειωνόταν η ποσότητα του φρέσκου βόειου κιμά, αυξανόταν η υπερκείμενη αέρια φάση. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε για δείγματα που προέρχονταν από 4 διαφορετικούς παραγωγούς Α, Β, Γ και Δ, ενώ όλα είχαν ως χώρα προέλευσης τη Γαλλία. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ισοθερμοκρασιακές συνθήκες.

4.3.1 Μέτρηση αέριας σύστασης συσκευασίας

Πριν από κάθε δειγματοληψία πραγματοποιούταν μέτρηση της αέριας σύστασης της συσκευασίας. Ο αναλυτής αερίων που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο CheckMate 9900 O₂ / CO₂ (PBI Dansensor, Ringsted, Denmark). Η αέρια σύσταση αναλύθηκε σε ποσοστιαία συγκέντρωση οξυγόνου (O₂) και διοξειδίου του άνθρακα (CO₂)



Εικόνα 4.10: Αναλυτής αερίων CheckMate 9900 O₂ / CO₂, PBI Dansensor

4.3.2 Μέτρηση μικροβιακού φορτίου

Για τον υπολογισμό του μικροβιακού φορτίου στα δείγματα εφαρμόστηκε η μέθοδος της επιφανειακής ανάπτυξης σε τρυβλία. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στη γνώση του ότι από ένα μικροβιακό κύτταρο αναπτύσσεται μια και μόνο αποικία και συνεπώς η μέτρηση αποικιών δίνει τον αριθμό των μικροοργανισμών από όπου προήλθαν. Οι διαδικασίες δειγματοληψίας, παρασκευής αραιώσεων και επίστρωσης των τρυβλίων πραγματοποιούνται σε ασηπτικές συνθήκες.



Εικόνα 4.11: Φυαλίδια με αραιώσεις

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, 10g φιλέτου κιμά φέρονται σε αποστειρωμένη σακούλα και προστίθεται σε αυτή 90g αποστειρωμένου ορού Ringer. Το μείγμα ομογενοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με τη χρήση του Stomacher (Bagmixer interscience, France). Σε

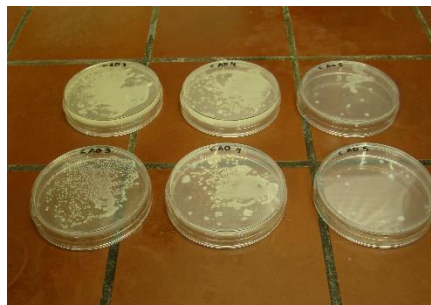
Κεφάλαιο 4: Πειραματική διαδικασία – Υλικά και μέθοδοι

δοκιμαστικούς σωλήνες των 10ml φέρονται 9ml ορού Ringer. Από το ομογενοποιημένο δείγμα λαμβάνεται 1ml και τοποθετείται σε έναν σωλήνα και το μίγμα αναδεύεται. Από αυτό λαμβάνεται 1ml και φέρεται στον επόμενο σωλήνα. Κάθε αραιώση αποτελεί υποδεκαπλάσια της προηγούμενης. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου επιτευχθούν οι επιθυμητές αραιώσεις (όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των μικροοργανισμών στο δείγμα, τόσο περισσότερες αραιώσεις απαιτούνται).

Οι μικροοργανισμοί που μετρήθηκαν ήταν η **ολική μικροβιακή χλωρίδα** και τα **γαλακτικά βακτήρια (*Lactobacilli*)**.

- Για τη μέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας χρησιμοποιήθηκε το μη επιλεκτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA) της Merck. Το θρεπτικό υλικό διανέμεται σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri και αφήνεται να στερεοποιηθεί. Στη συνέχεια λαμβάνεται 0,1 ml δείγματος, το οποίο φέρεται στην επιφάνεια του υποστρώματος και ακολουθεί επάλειψη με τη βοήθεια στυλέο. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για όλες τις αραιώσεις και πραγματοποιούνται διπλά δείγματα για κάθε αραιώση. Τα τρυβλία αφήνονται να επώασουν για 3 ημέρες σε θάλαμο θερμοκρασίας 25°C.
- Τέλος, για τη μέτρηση των γαλακτικών βακτηρίων χρησιμοποιήθηκε το επιλεκτικό υπόστρωμα de Mann Rogosa and Sharpe's (MRS) της Merck. Τα γαλακτικά βακτήρια είναι προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί. Από το κάθε δείγμα λαμβάνεται 1ml και τοποθετείται σε άδειο αποστειρωμένο τρυβλίο Petri. Για το κάθε δείγμα πραγματοποιούνται διπλά τρυβλία. Το υπόστρωμα διανέμεται στα τρυβλία ώσπου να καλυφθεί η επιφάνεια του τρυβλίου αλλά η στρώση θα πρέπει να είναι λεπτή. Τα δείγματα ανακινούνται προσεκτικά και το υπόστρωμα αφήνεται να στερεοποιηθεί. Ακολουθεί μια δεύτερη στρώση υποστρώματος τόσης ποσότητας, ώστε να καλύψει την επιφάνεια και παράλληλα η στρώση να είναι λεπτή. Η διαδικασία της δεύτερης επίστρωσης εξασφαλίζει αναερόβιες συνθήκες. Η επώαση απαιτεί 5 ημέρες σε θάλαμο θερμοκρασίας 25°C.

Μετά την επώαση των τρυβλίων, καταμετρούνται οι αναπτυσσόμενες αποικίες. Η μέτρηση των αποικιών πραγματοποιείται σε μια τέτοια αραιώση, ώστε να υπάρχουν 50-200 αποικίες ανά τρυβλίο. Λαμβάνοντας υπόψιν την αραιώση του δείγματος, υπολογίζεται ο αριθμός των μικροοργανισμών που περιλαμβάνει 1g δείγματος, πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των αποικιών με το αντίστροφο της αραιώσης.



Εικόνα 4.12: Μέτρηση αποικιών μετά από επώαση των τρυβλίων

4.3.3 Μέτρηση pH

Η μέτρηση pH (pH-meter 338, AMEL Instruments, Milan, Italy) πραγματοποιήθηκε σε ομογενοποιημένο μίγμα 10 % δείγματος κρέατος σε διάλυμα Ringer, αμέσως μετά τη μικροβιολογική ανάλυση.



Εικόνα 4.13: Πεχάμετρο AMEL Instruments 338

4.3.4 Μέτρηση χρώματος

Η ανάλυση του χρώματος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του χρωματόμετρου Minolta CR – 200 (Minolta Company, Chuo-Ku, Osaka, Japan) με χρήση των παραμέτρων χρώματος CIE (Commission International de l'Eclairage) L, a και b. Το χρωματόμετρο (Εικόνα 4.12) φέρει στο άκρο του σπή διαμέτρου 8 mm. Πριν πραγματοποιηθεί μέτρηση προηγείται βαθμονόμηση με χρήση λευκής πλάκας (Calibration plate CR-200, L=97.5, a=-0.31, b=-3.83).

Το χρώμα αναλύθηκε στις συντεταγμένες L, a και b. Η παράμετρος L εκφράζει την φωτεινότητα (λαμπρότητα) του χρώματος, η παράμετρος a εκφράζει την ένταση του κόκκινου χρώματος (redness) ή διαφορετικά ερυθρότητα και η παράμετρος b εκφράζει την ένταση του κίτρινου χρώματος (yellowness).

Για κάθε δείγμα λαμβάνονταν τρεις μετρήσεις και οι τελικές τιμές των παραμέτρων προκύπτουν από τον αριθμητικό μέσο των τριών μετρήσεων. μετρήσεων.



Εικόνα 4.14: Χρωματόμετρο Minolta CR – 200 (Minolta Company, Chuo-Ku, Osaka, Japan)

4.3.5 Οργανοληπτικός έλεγχος

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά MAP κατά τη διάρκεια της συντήρησης έγινε με απώτερο σκοπό τον καθορισμό του ορίου αποδοχής τους από μια μικρή ομάδα δοκιμαστών που ανήκαν στο προσωπικό του εργαστηρίου. Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να εκτιμήσουν την οσμή, το χρώμα, τη γεύση, την εμφάνιση φρέσκου προϊόντος και τη συνολική αρέσκεια των νωπών και μαγειρεμένων δειγμάτων. Η οργανοληπτική εξέταση πραγματοποιήθηκε με βάση την αρέσκεια των δοκιμαστών αυτών. Το έντυπο που χρησιμοποιήθηκε για τον οργανοληπτικό έλεγχο παραθέτεται στο Παράρτημα Ι. Οι ίδιοι εκπαιδευμένοι δοκιμαστές συμμετείχαν σε κάθε οργανοληπτική δοκιμή και όλοι αγνοούσαν την ταυτότητα του προϊόντος που εξετάζαν κάθε φορά (τυφλό τεστ). Η οργανοληπτική αξιολόγηση έγινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Για τη βαθμολόγηση χρησιμοποιήθηκε κλίμακα από το 1 έως το 9, όπου 9:φρέσκο προϊόν και 1:εμφανείς αλλοιώσεις, και ορίστηκε ως όριο αποδοχής ο βαθμός 5. Κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση το νωπό προϊόν καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο και ψήθηκε σε φούρνο στους 180 °C για 20 min (αντίσταση πάνω – κάτω). Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στην εκτίμηση του χρώματος του νωπού κρέατος και της οσμής και γεύσης του μαγειρεμένου προϊόντος.



Εικόνα 4.15: Δείγματα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά σε αλουμινόχαρτο πριν την έψήσή τους στο φούρνο του εργαστηρίου



Εικόνα 4.16: Φούρνος Delonghi εργαστηρίου

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ

5.1 Επεξεργασία της απόκρισης των χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών

Η διαδικασία επεξεργασίας των πειραματικών αποτελεσμάτων αποτελείται από τα ακόλουθα στάδια:

5.1.1 Καθορισμός της συνάρτησης απόκρισης $F(X_C)$ των ενζυμικών ΤΠΙ

Στα ενζυμικά ΤΠΙ, η αλλαγή χρώματος εκφράζεται ως:

$$X = \text{norm}(a+b) = \frac{(a+b) - (a+b)_{\min}}{(a+b)_{\max} - (a+b)_{\min}} \quad (5.1)$$

όπου: a και b είναι οι συντεταγμένες του χρώματος που ελήφθησαν από το χρωματόμετρο X-rite.

Η εξίσωση (5.1) δείχνει την απόκριση του ΤΠΙ, X , η οποία όταν σχεδιαστεί σαν συνάρτηση του χρόνου έχει σιγμοειδή μορφή. Το κινητικό αυτό μοντέλο είναι δύο παραμέτρων και αποδείχτηκε ότι περιγράφει καλύτερα την κινητική των ενζυμικών ΤΠΙ. Στην περίπτωση αυτή η συνάρτηση απόκρισης είναι:

$$X = F(X_C) = \frac{1}{1 + e^{\left(\frac{k_1 - t}{k_2}\right)}} \quad (5.2)$$

όπου: k_1 και k_2 είναι συναρτήσεις της θερμοκρασίας

5.1.2 Καθορισμός της συνάρτησης απόκρισης $F(X_C)$ των φωτοχημικών ΤΠΙ

Στα φωτοχημικά ΤΠΙ, η αλλαγή χρώματος εκφράζεται ως:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (5.3)$$

όπου: L_0 , a_0 και b_0 είναι οι τιμές των παραμέτρων του χρώματος για το μη ενεργοποιημένο ΤΠΙ.

Στα φωτοχημικά ΤΠΙ η μεταβολή του χρώματος (ΔE) συναρτήσει του χρόνου απεικονίζεται από μια εκθετική καμπύλη, καθώς αυτό το κινητικό μοντέλο αποδείχτηκε ότι περιγράφει καλύτερα την κινητική τους. Στην περίπτωση αυτή η συνάρτηση απόκρισης είναι:

$$\Delta E = \Delta E_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (5.4)$$

όπου: ΔE_0 είναι το αρχικό χρώμα των φωτοχημικών ΤΠΙ

5.1.3 Προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων k και E_A των ΤΠΙ

Στη συνέχεια επεξηγείται ο τρόπος και η διαδικασία με την οποία υπολογίστηκαν οι κινητικοί παράμετροι για τα ενζυμικά και τα φωτοχημικά ΤΠΙ αντίστοιχα.

5.1.3.1 Κινητικά χαρακτηριστικά των ενζυμικών ΤΠΙ

Για τον προσδιορισμό των κινητικών χαρακτηριστικών των ενζυμικών ΤΠΙ αρχικά, έπειτα από κατάλληλη επεξεργασία της σιγμοειδούς καμπύλης $F(X_C)$ στο υπολογιστικό πρόγραμμα Sigmaplot, προκύπτουν οι σταθερές k_1 και k_2 για κάθε θερμοκρασία που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα. Στη συνέχεια, για να υπολογιστεί η θερμοκρασιακή εξάρτηση της απόκρισης των ενζυμικών ΤΠΙ ακολουθείται η εξής διαδικασία:

Με εφαρμογή της σχέσης Arrhenius (1.13), η εξίσωση (5.2) γίνεται:

$$X = F(X_C) = \frac{1}{1 + \exp \left(\frac{k_{1ref} \cdot e^{\left[\frac{E_A}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right]} - t}{k_{2ref} \cdot e^{\left[\frac{E_A}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right]}} \right)} \quad (5.5)$$

όπου, T_{ref} είναι μια θερμοκρασία αναφοράς (που σχετίζεται με τη μέση θερμοκρασία συντήρησης των ΤΠΙ που μελετώνται)

Τέλος, με τη βοήθεια του προγράμματος Systat και με χρήση της εξίσωσης (5.5) προκύπτει η ενέργεια ενεργοποίησης E_A και οι δύο σταθερές του ρυθμού απόκρισης k_{1ref} και k_{2ref} .

5.1.3.2 Κινητικά χαρακτηριστικά των φωτοχημικών ΤΠΙ

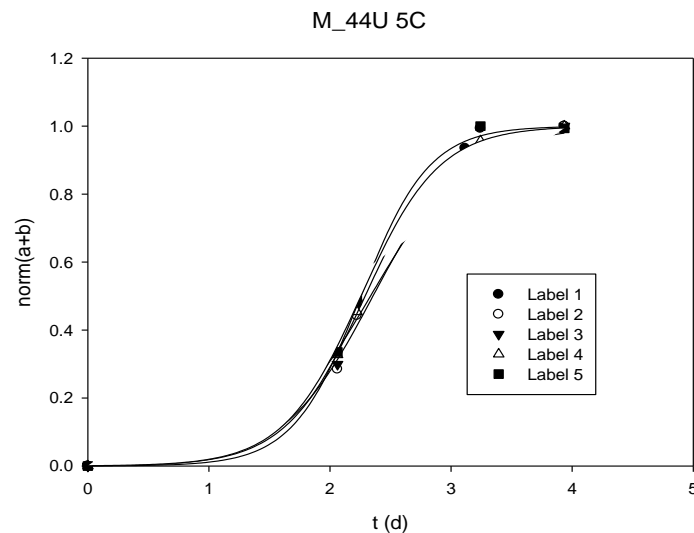
Για τον προσδιορισμό των κινητικών χαρακτηριστικών των φωτοχημικών ΤΠΙ γίνεται προσαρμογή της εκθετικής καμπύλης τη συνάρτησης απόκρισης $F(X_C)$ στο υπολογιστικό πρόγραμμα Excel και προκύπτει η σταθερά k για κάθε θερμοκρασία που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα. Για να υπολογιστεί εδώ η θερμοκρασιακή εξάρτηση της απόκρισης των φωτοχημικών ΤΠΙ, με εφαρμογή της σχέσης Arrhenius (1.13) προκύπτει η σταθερά k_A και E_A .

5.1.4 Στατιστική επεξεργασία των ΤΠΙ ετικετών

Ετικέτες ενζυμικών ΤΠΙ

Η απόκριση με το χρόνο των πέντε ετικετών των ενζυμικών ΤΠΙ αξιολογήθηκε για κάθε μελετώμενη θερμοκρασία αποθήκευσης. Συγκρίθηκαν δύο μεθοδολογίες για τον υπολογισμό του σταθερού ρυθμού απόκρισης (k) και τη στατιστική του μεταβλητότητα.

Για να επεξηγηθούν οι δύο πιθανές υπολογιστικές μέθοδοι, παρατίθεται το παράδειγμα της εξέλιξης της απόκρισης με το χρόνο των πέντε ετικετών του ενζυμικού ΤΠΙ M_{44U}, αποθηκευμένο στους 5°C στην επόμενη Εικόνα.



Εικόνα 5.1: Απόκριση με το χρόνο των πέντε ετικετών του ενζυμικού ΤΠΙ M_{44U} αποθηκευμένο στους 5°C

Μέθοδος 1: Για κάθε μία από τις πέντε ετικέτες (επαναλήψεις) οι τιμές των σταθερών ρυθμών απόκρισης k_{1i} και k_{2i} υπολογίστηκαν με μη γραμμική παλινδρόμηση (Sigmaplot 10.0).

Για το πείραμα που απεικονίζεται στην εικόνα 5.1 οι τιμές των σταθερών ρυθμών απόκρισης k_{1i} και k_{2i} και των αντίστοιχων χρόνων απόκρισης απεικονίζονται στον επόμενο Πίνακα.

Πίνακας 5.1: Σταθερές απόκρισης (d) του ενζυμικού δείκτη M_{44U} αποθηκευμένο στους 5°C υπολογισμένοι από τις αποκρίσεις των ετικετών (Μέθοδος 1)

Μέθοδος 1						
k_{1_1}	k_{1_2}	k_{1_3}	k_{1_4}	k_{1_5}	$k_{1average}$	$R^2average$
2.255	2.355	2.455	2.290	2.256	2.298	
k_{2_1}	k_{2_2}	k_{2_3}	k_{2_4}	k_{2_5}	$k_{2average}$	
0.281	0.374	0.414	0.326	0.322	0.343	0.997

Μέθοδος 2: Οι σταθεροί ρυθμοί απόκρισης k_{1i} και k_{2i} υπολογίστηκαν με τη μέθοδο της παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων για όλα τα σημεία όλων των επαναλήψεων (ετικετών). Οι μέσες τιμές των k_{1i} και k_{2i} και οι ανώτατες και οι κατώτατες τιμές των k_{1i} και k_{2i} με διάστημα εμπιστοσύνης 95% υπολογίστηκαν μέσω μιας στατιστικής μεθοδολογίας παλινδρόμησης ($k_{1\text{average}}$ και $k_{2\text{average}}$, $k_{1\text{upper}}$ και $k_{2\text{upper}}$ και $k_{1\text{lower}}$ και $k_{2\text{lower}}$).

Για το πείραμα που απεικονίζεται στην εικόνα 5.1 οι τιμές των σταθερών ρυθμών απόκρισης k_{1i} και k_{2i} απεικονίζονται στον επόμενο Πίνακα.

Πίνακας 5.2: Σταθερές απόκρισης (d) του ενζυμικού δείκτη M_44U αποθηκευμένο στους 5°C υπολογισμένοι με τη μέθοδο της παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων (Μέθοδος 2)

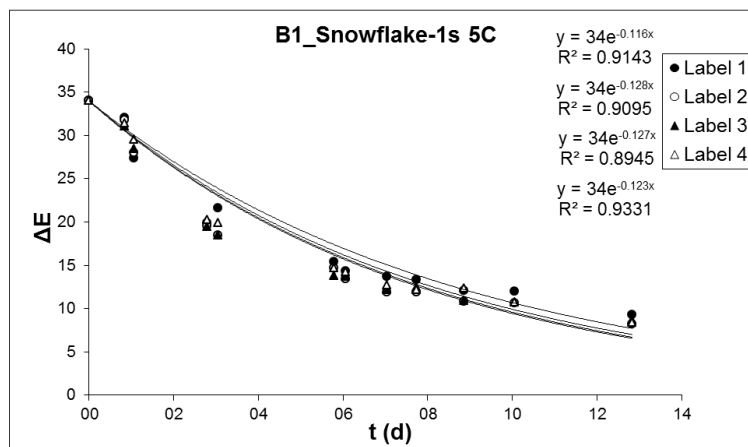
Μέθοδος 2			
$k_{1\text{average}}$	$k_{1\text{upper}}$	$k_{1\text{lower}}$	R^2
2.296	2.256	2.341	0.994
$k_{2\text{average}}$	$k_{2\text{upper}}$	$k_{2\text{lower}}$	
0.344	0.320	0.369	

Οι τιμές που υπολογίστηκαν από τις δυο μεθόδους είναι παρόμοιες. Επομένως, αποφασίστηκε να παρουσιαστούν τα αποτελέσματα που προέκυψαν με τη δεύτερη μέθοδο στο Παράρτημα II.

Ετικέτες φωτοχημικών ΤΤΙ

Η απόκριση με το χρόνο των πέντε ετικετών των φωτοχημικών ΤΤΙ αξιολογήθηκε για κάθε μελετώμενη θερμοκρασία αποθήκευσης. Συγκρίθηκαν δύο μεθοδολογίες για τον υπολογισμό του σταθερού ρυθμού απόκρισης (k) και τη στατιστική του μεταβλητότητα.

Για να επεξηγηθούν οι δύο πιθανές υπολογιστικές μέθοδοι, παρατίθεται το παράδειγμα της εξέλιξης της απόκρισης με το χρόνο των τεσσάρων ετικετών του φωτοχημικού ΤΤΙ M_44U, αποθηκευμένο στους 5oC στην επόμενη Εικόνα.



Εικόνα 5.2: Απόκριση με το χρόνο των πέντε ετικετών του φωτοχημικού ΤΤΙ M_44U αποθηκευμένο στους 5°C

Μέθοδος 1: Για κάθε μία από τις τέσσερις ετικέτες (επαναλήψεις) η τιμή του σταθερού εκθετικού ρυθμού απόκρισης k υπολογίστηκε με τη μέθοδο της παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων.

Για το πείραμα που απεικονίζεται στην εικόνα 5.2 οι τιμές των εκθετικών ρυθμών απόκρισης k απεικονίζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.3: Ρυθμοί απόκρισης (d^{-1}) του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake-1s αποθηκευμένο στους $5^{\circ}C$ υπολογισμένοι από τις αποκρίσεις των ετικετών (Μέθοδος 1)

Μέθοδος 1					
$k_1 (d^{-1})$	$k_2 (d^{-1})$	$k_3 (d^{-1})$	$k_4 (d^{-1})$	$k_{average} (d^{-1})$	$R^2_{average}$
0.116	0.128	0.127	0.123	0.1235	0.913

Μέθοδος 2: Η τιμή του σταθερού εκθετικού ρυθμού απόκρισης υπολογίστηκε με τη μέθοδο της παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων για όλα τα σημεία όλων των επαναλήψεων (ετικετών). Η τιμή k και η ανώτατη και η κατώτατη τιμή του k με διάστημα εμπιστοσύνης 95% υπολογίστηκαν μέσω μιας στατιστικής μεθοδολογίας παλινδρόμησης ($k_{average}$, k_{upper} και k_{lower}).

Για το πείραμα που απεικονίζεται στην εικόνα 5.2 οι τιμές των οι τιμές των σταθερών εκθετικών ρυθμών απόκρισης ($k_{average}$, k_{upper} και k_{lower}) απεικονίζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.4: Ρυθμοί απόκρισης (d^{-1}) του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake-1s αποθηκευμένο στους $5^{\circ}C$ υπολογισμένοι με τη μέθοδο της παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων (Μέθοδος 2)

Μέθοδος 2			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.123	0.129	0.118	0.976

Οι τιμές που υπολογίστηκαν από τις δυο μεθόδους είναι παρόμοιες. Επομένως, αποφασίστηκε να παρουσιαστούν τα αποτελέσματα που προέκυψαν με τη δεύτερη μέθοδο στο Παράρτημα II.

5.1.5 Έλεγχος της αξιοπιστία των κινητικών μοντέλων

Ο έλεγχος της αξιοπιστίας του κινητικού μοντέλου πραγματοποιείται μέσω της επεξεργασίας των μετρήσεων του πειράματος που πραγματοποιείται σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες (variable temperature conditions).

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες ψύξης επιλέχθηκε το παρακάτω θερμοκρασιακό προφίλ:

- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία $5^{\circ}C$ για 5 ώρες.
- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία $8^{\circ}C$ για 5 ώρες.
- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία $10^{\circ}C$ για 2 ώρες.

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες κατάψυξης επιλέχθηκε το παρακάτω θερμοκρασιακό προφίλ:

- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία -5°C για 8 ώρες.
- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία -8°C για 8 ώρες.
- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία -10°C για 8 ώρες.

Αρχικά, με βάση το παραπάνω χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ και τη σχέση (1.18) υπολογίζεται η T_{eff} , δηλαδή η θερμοκρασία που θα είχε την ίδια επίδραση στο ΤΠΙ με τις προαναφερόμενες θερμοκρασίες του χρονο-θερμοκρασιακού κύκλου. Στη συνέχεια, μέσω της τιμής της T_{eff} και με χρήση της σχέσης Arrhenius υπολογίζονται οι προβλεπόμενες (θεωρητικές) σταθερές του ρυθμού απόκρισης. Με σύγκριση των προβλεπόμενων και των πειραματικών σταθερών απόκρισης των ΤΠΙ γίνεται έλεγχος των κινητικών μοντέλων των διαφόρων ΤΠΙ.

5.2 Κινητική μελέτη της απόκρισης των ενζυμικών ΤΠΙ

Οι ενζυμικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες που μελετήθηκαν είναι οι εξής:

- M_4.2U
- M_7.2U
- M_9.6U
- M_11U
- M_13U
- M_20U
- M_25U
- M_37U
- M_44U

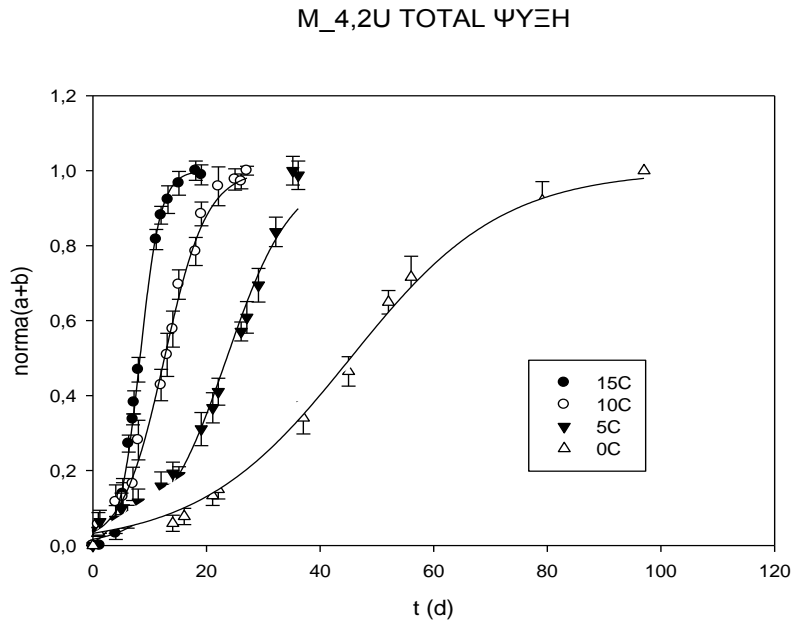
Αρχικά, για καθένα από τα παραπάνω ΤΠΙ πραγματοποιήθηκαν ισοθερμοκρασιακά πειράματα τόσο σε θερμοκρασίες ψύξης όσο και κατάψυξης. Από τις πειραματικές μετρήσεις του χρώματος, όπως μετρήθηκαν από το χρωματόμετρο X-rite, κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα της απόκρισης του δείκτη X [ή $\text{norm}(a+b)$] συναρτήσεως του χρόνου και κατασκευάστηκε η συνάρτηση απόκρισης $F(X_c)$ σε κάθε μελετώμενη θερμοκρασία. Στη συνέχεια, έγινε ο προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών E_A , k_{1ref} , k_{2ref} των ΤΠΙ ($T_{ref} = 0^{\circ}\text{C}$).

Τέλος, πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ από τα οποία έγινε έλεγχος της αξιοπιστίας του κινητικού μοντέλου.

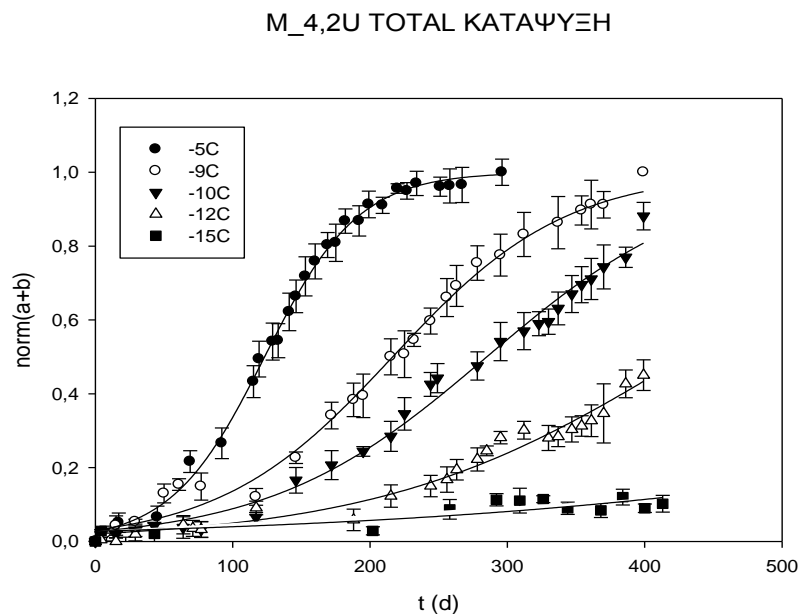
Επεξεργασία των πειραματικών μετρήσεων

5.2.1 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_4.2U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($norm(a+b)$) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.1: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_4.2U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.



Σχήμα 5.2: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_4.2U και για θερμοκρασίες -5, -9, -10, -12, -15°C.

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ

Όπως παρατηρείται και από το παραπάνω διάγραμμα, ο ενζυμικός δείκτης M_4.2U στις θερμοκρασίες -12 και -15°C δεν έχει λήξει αλλά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που ελήφθησαν μέχρι τη στιγμή της συγγραφής της διπλωματικής εργασίας.

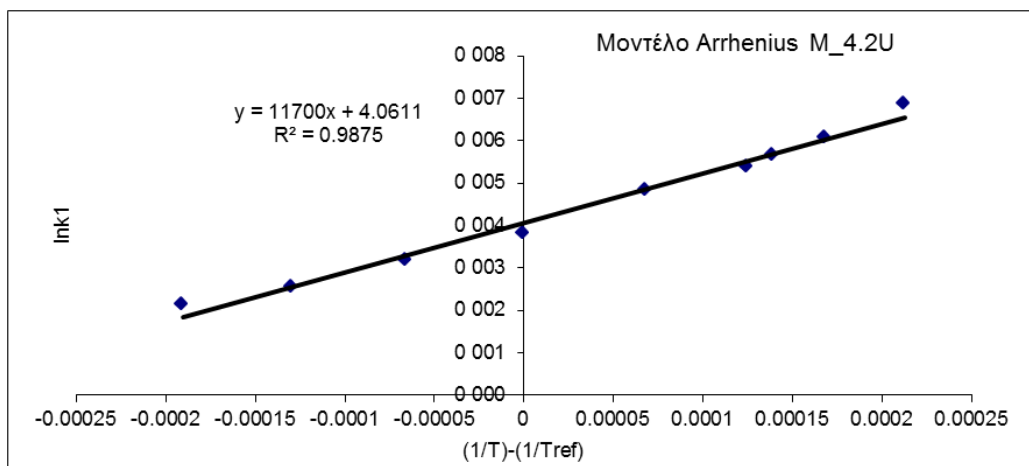
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M 4.2U

Με τη χρήση του προγράμματος Sigmaplot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.1.

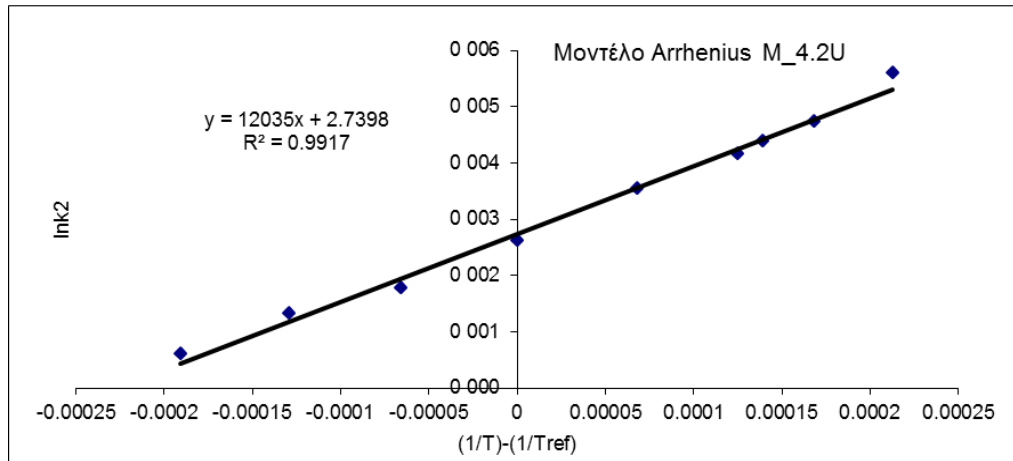
Πίνακας 5.5: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_4.2U

T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	8.294	1.809	0.997
10	12.602	3.728	0.994
5	23.566	5.764	0.978
0	45.345	13.364	0.994
-5	123.215	34.118	0.997
-9	216.496	63.105	0.992
-10	285.034	79.416	0.990
-12	428.906	111.473	0.971
-15	945.230	265.722	0.711

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_4.2U.



Σχήμα 5.3: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_4.2U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)



Σχήμα 5.4: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_4.2U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

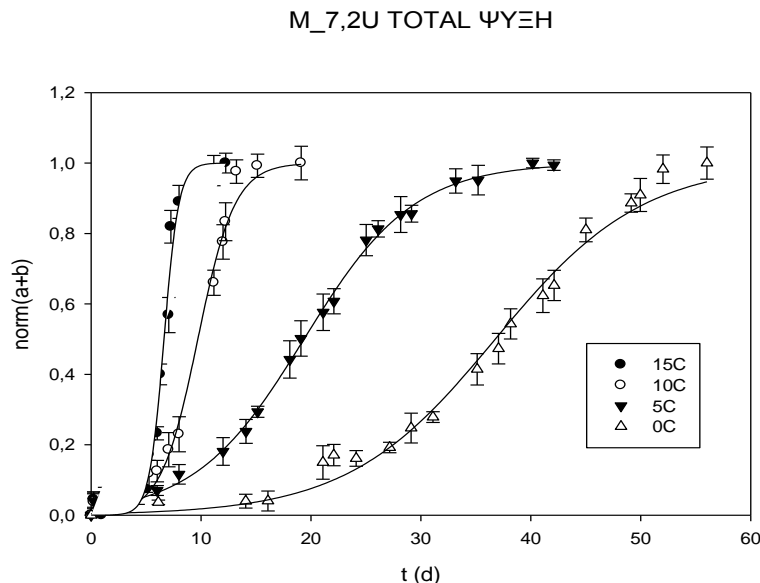
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_4.2U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.6: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_4.2U

E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
94.6	56.667	14.894	0.954

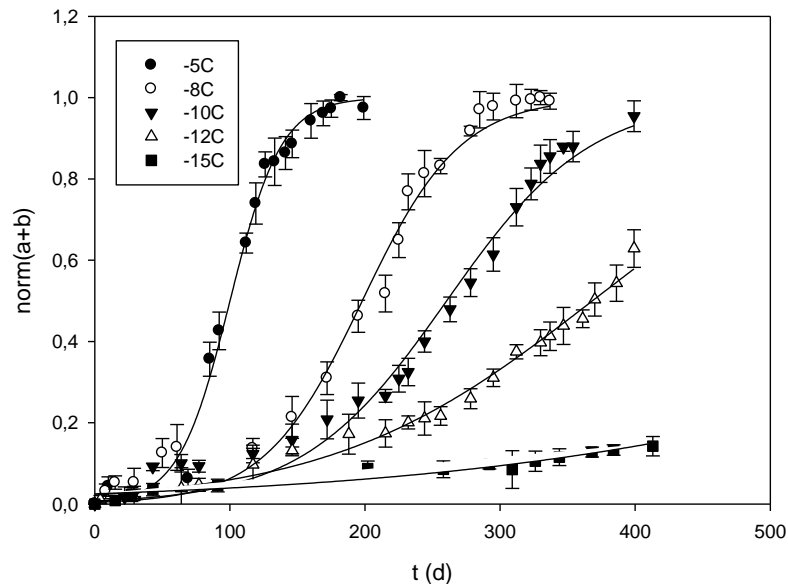
5.2.2 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_7.2U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($\text{norm}(a+b)$) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.5: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_7.2U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

M_7.2U TOTAL ΚΑΤΑΨΥΞΗ



Σχήμα 5.6: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_7.2U και για θερμοκρασίες -5, -8, -10, -12, -15°C.

Όπως παρατηρείται και από το παραπάνω διάγραμμα, ο ενζυμικός δείκτης M_7.2U στις θερμοκρασίες -12 και -15°C δεν έχει λήξει αλλά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που ελήφθησαν μέχρι τη στιγμή της συγγραφής της διπλωματικής εργασίας.

Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M 7.2U

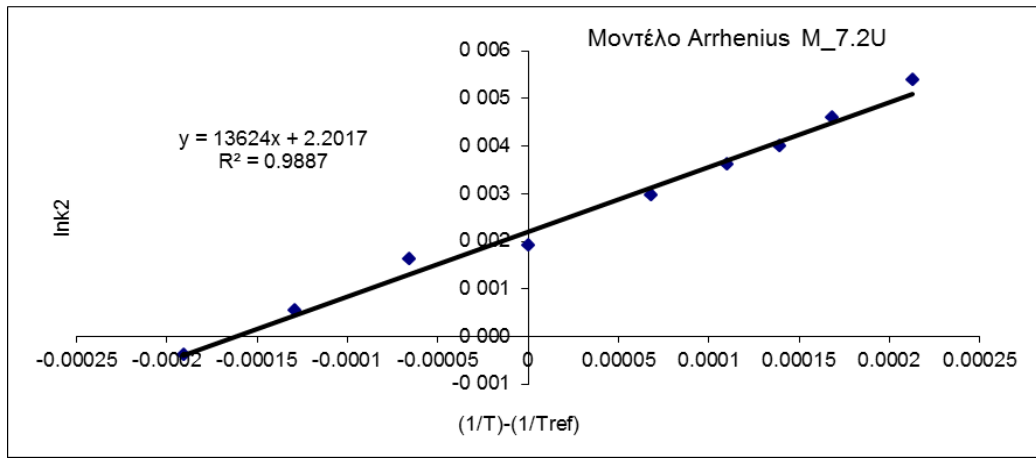
Με τη χρήση του προγράμματος SigmaPlot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2.

Πίνακας 5.7: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_7.2U

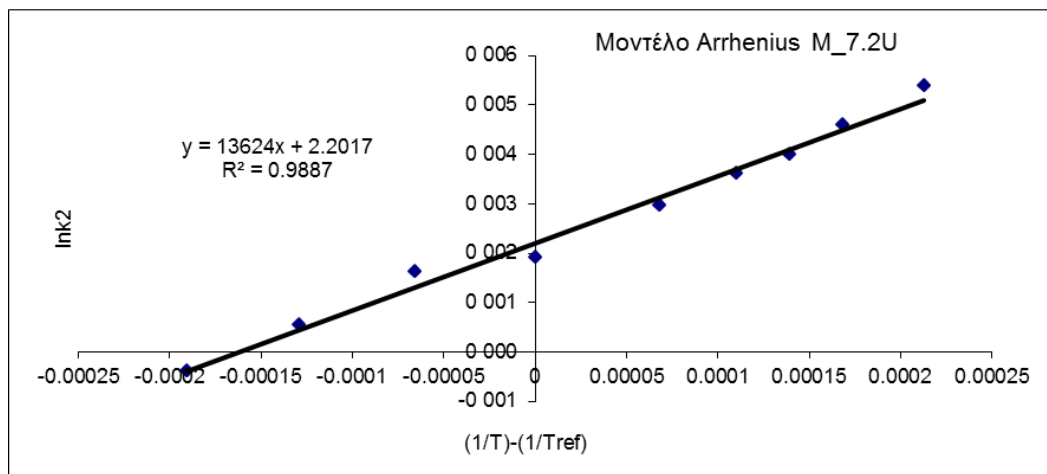
T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	6.632	0.671	0.983
10	9.712	1.678	0.991
5	19.368	4.979	0.998
0	36.764	6.695	0.989
-5	100.092	18.944	0.990
-8	198.002	36.227	0.983
-10	260.476	53.300	0.983
-12	368.348	97.336	0.988
-15	785.907	214.799	0.930

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_7.2U.



Σχήμα 5.7: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_7.2U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)



Σχήμα 5.8: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_7.2U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

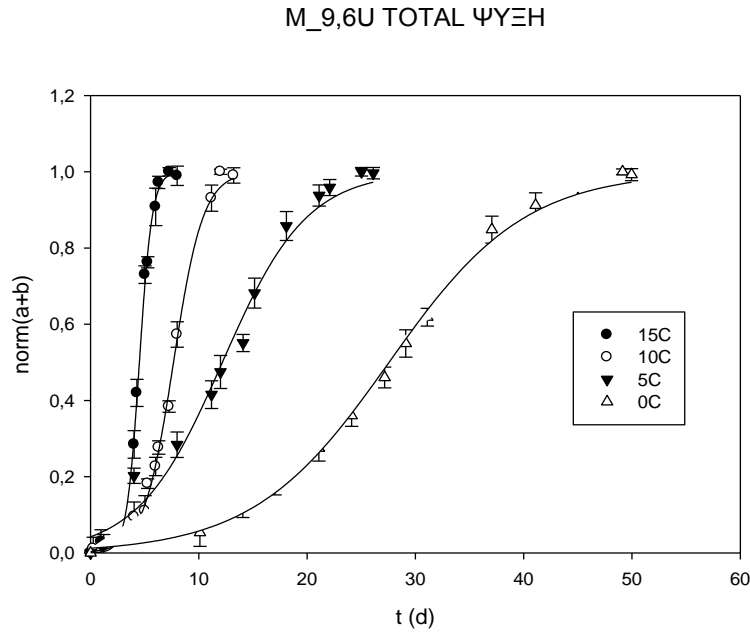
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_7.2U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.8: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_7.2U

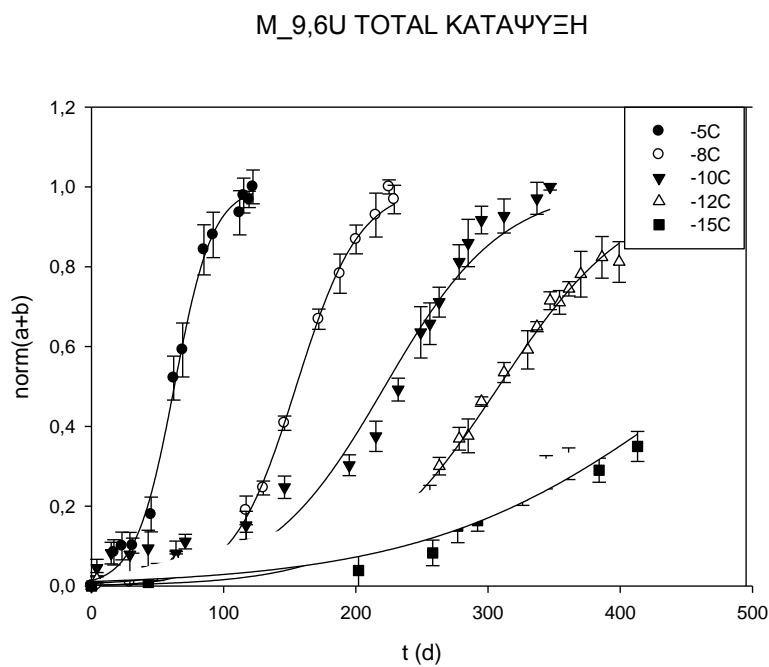
E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
98.4	46.792	11.712	0.89

5.2.3 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_9.6U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($\text{norm}(a+b)$) συναρτήσεως του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.9: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_9,6U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.



Σχήμα 5.10: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_4,2U και για θερμοκρασίες -5, -8, -10, -12, -15°C.

Όπως παρατηρείται και από το παραπάνω διάγραμμα, ο ενζυμικός δείκτης M_9,6U στη θερμοκρασία -15°C δεν έχει λήξει αλλά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που ελήφθησαν μέχρι τη στιγμή της συγγραφής της διπλωματικής εργασίας.

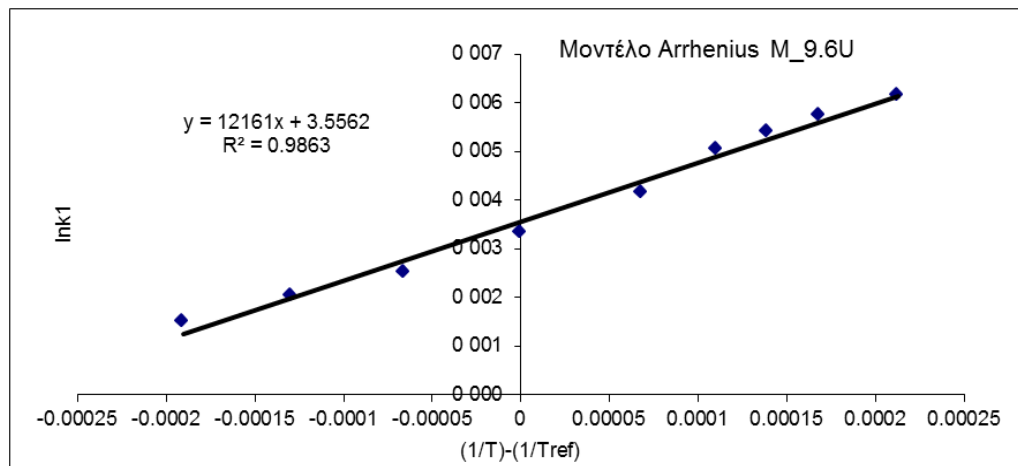
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M_9.6U

Με τη χρήση του προγράμματος Sigmaplot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.

Πίνακας 5.9: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_9.6U

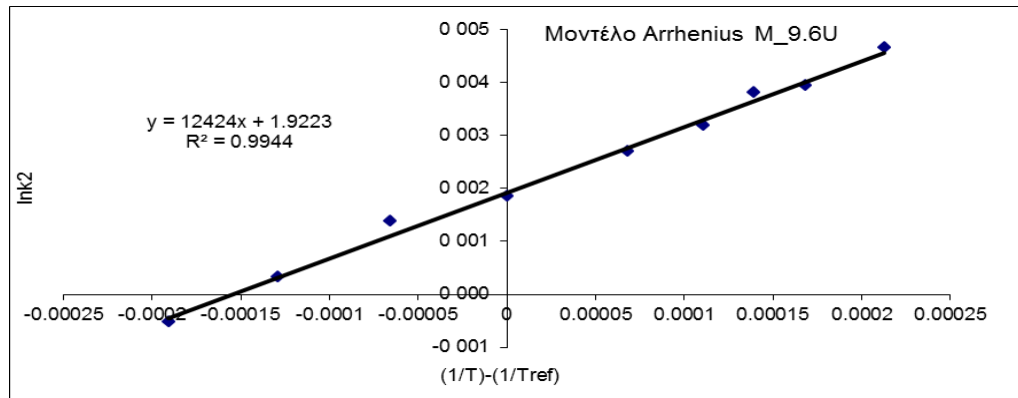
T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	4.514	0.589	0.998
10	7.666	1.368	0.996
5	12.176	3.902	0.983
0	27.572	6.283	0.997
-5	62.716	14.579	0.995
-8	154.869	23.966	0.998
-10	221.899	44.325	0.973
-12	308.151	50.430	0.989
-15	463.379	103.395	0.949

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_9.6U.



Σχήμα 5.11: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_9.6U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ



Σχήμα 5.12: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_9.6U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

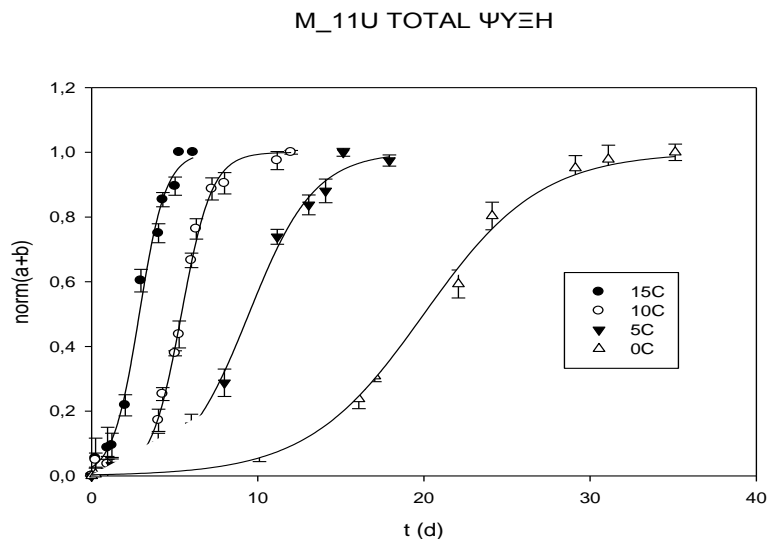
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_9.6U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.10: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_9.6U

E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
104.3	34.666	8.866	0.889

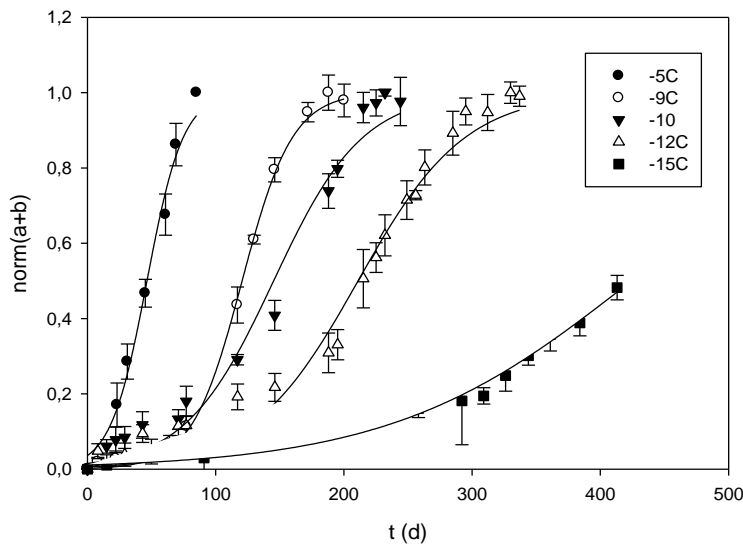
5.2.4 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_11U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($\text{norm}(a+b)$) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.13: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_11U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

M_11U TOTAL ΚΑΤΑΨΥΞΗ



Σχήμα 5.14: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_11U και για θερμοκρασίες -5, -9, -10, -12, -15°C.

Όπως παρατηρείται και από το παραπάνω διάγραμμα, ο ενζυμικός δείκτης M_9.6U στη θερμοκρασία -15°C δεν έχει λήξει αλλά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που ελήφθησαν μέχρι τη στιγμή της συγγραφής της διπλωματικής εργασίας.

Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M_11U

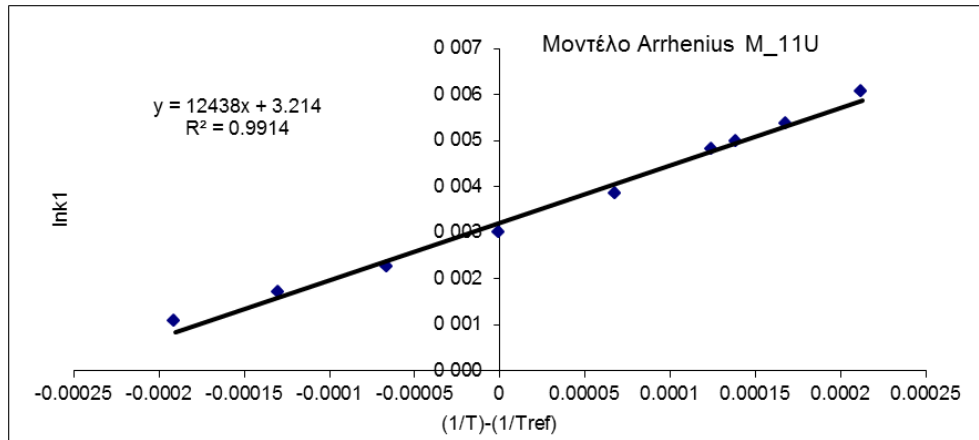
Με τη χρήση του προγράμματος SigmaPlot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.4.

Πίνακας 5.11: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_11U

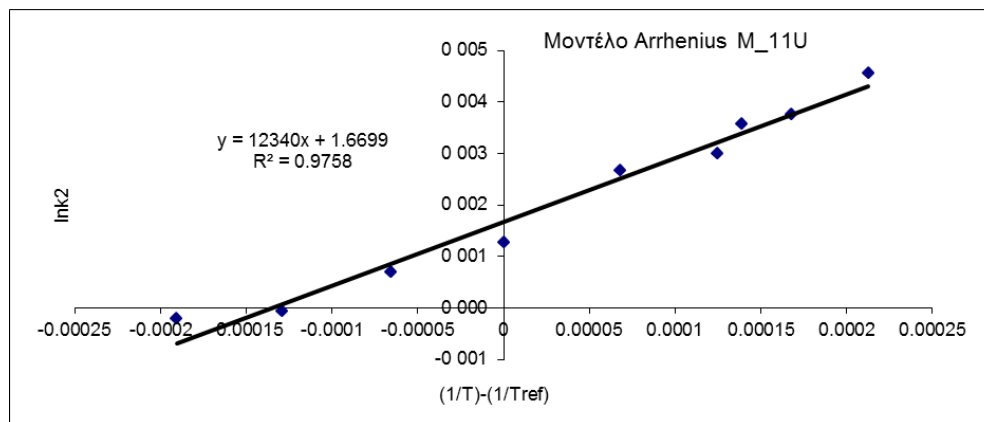
T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	2.873	0.797	0.991
10	5.408	0.915	0.995
5	9.461	1.976	0.995
0	19.996	3.505	0.995
-5	46.457	14.134	0.987
-9	120.642	19.617	0.998
-10	145.209	34.770	0.981
-12	211.064	41.731	0.980
-15	424.260	94.224	0.987

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_11U.

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ



Σχήμα 5.15: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_11U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)



Σχήμα 5.16: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_11U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

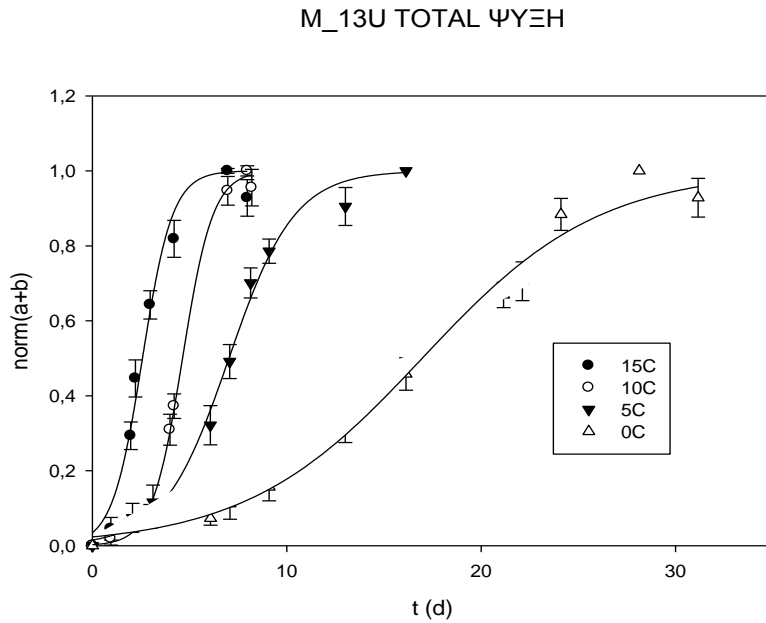
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_11U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.12: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_11U

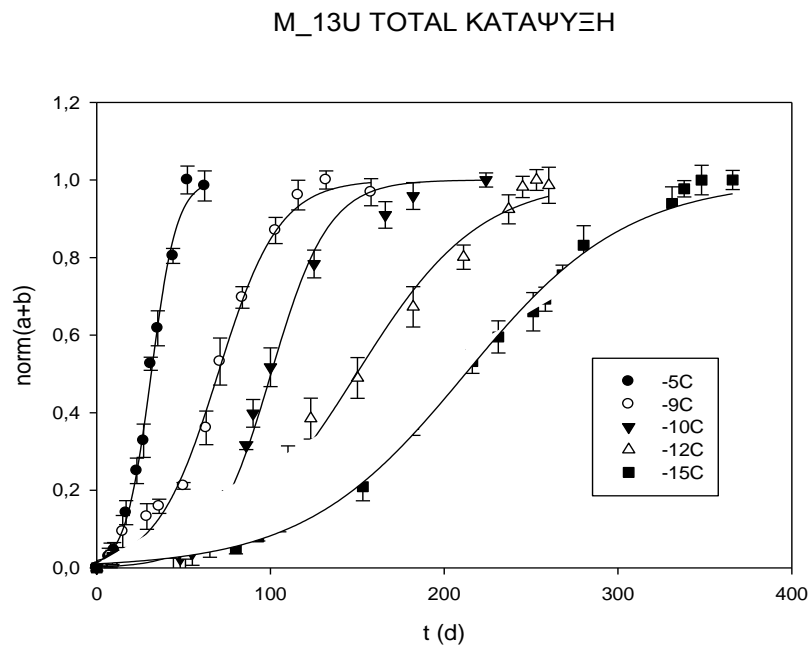
E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
105.7	24.602	5.261	0.932

5.2.5 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΤΙ τύπου M_13U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($\text{norm}(a+b)$) συναρτήσεως του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.17: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_13U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.



Σχήμα 5.18: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_13U και για θερμοκρασίες -5, -9, -10, -12, -15°C.

Σε αντίθεση με τα προηγούμενα ΤΠΙ που αναφέρθηκαν παραπάνω, ο ενζυμικός δείκτης M_13U είναι γρηγορότερος δείκτης και έτσι έχει ολοκληρωθεί στις 380 ημέρες στους -15°C.

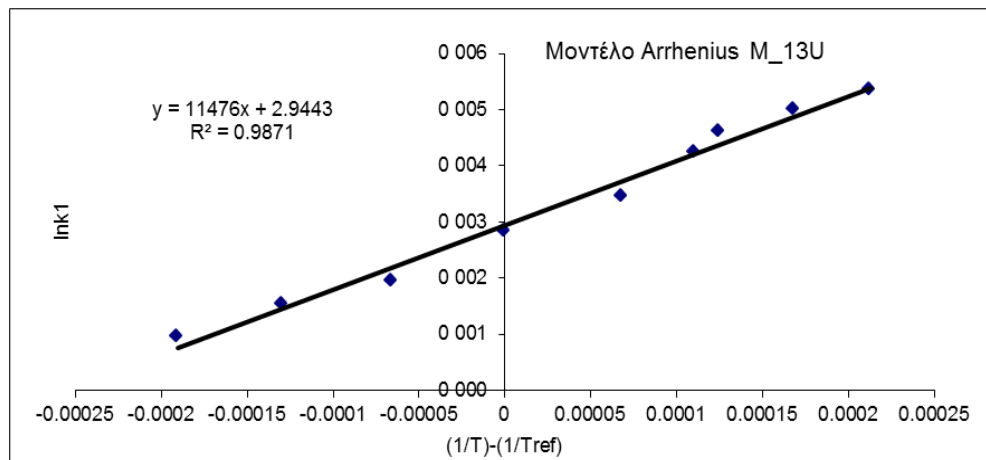
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M_13U

Με τη χρήση του προγράμματος Sigmaplot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.5.

Πίνακας 5.13: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_13U

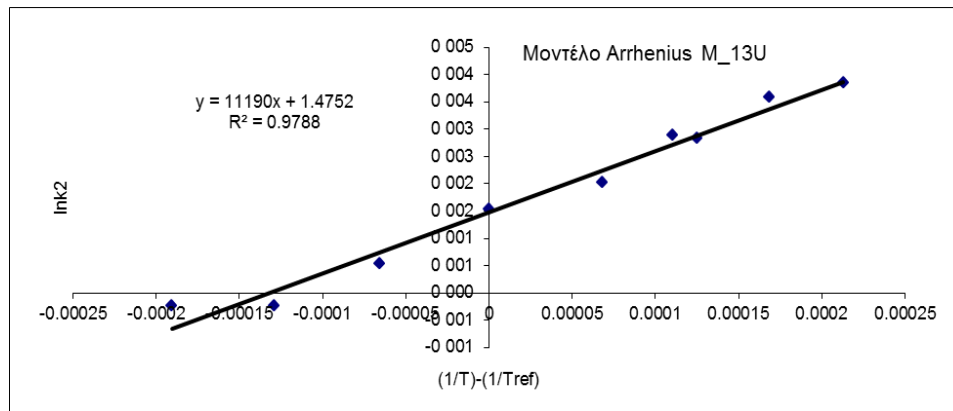
T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	2.578	0.773	0.981
10	4.638	0.781	0.998
5	7.027	1.681	0.991
0	16.969	4.550	0.988
-5	31.373	7.388	0.995
-9	69.802	17.644	0.994
-10	100.300	16.623	0.991
-12	149.532	35.388	0.993
-15	212.149	46.613	0.996

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_13U.



Σχήμα 5.19: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_13U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ



Σχήμα 5.20: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_13U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

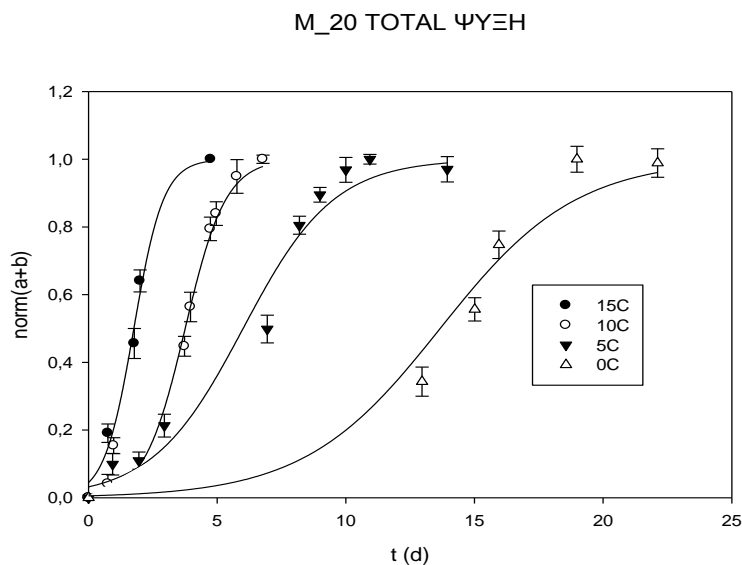
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_13U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.14: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_13U

E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
94.8	18.173	4.294	0.941

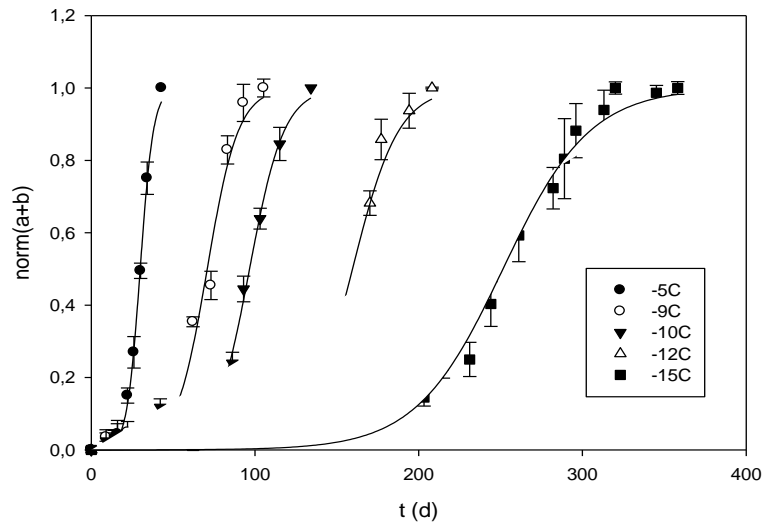
5.2.6 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΤΙ τύπου M_20U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($\text{norm}(a+b)$) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.21: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_20U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

M_20U TOTAL ΚΑΤΑΨΥΞΗ



Σχήμα 5.22: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_20U και για θερμοκρασίες -5, -9, -10, -12, -15°C.

Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M 20U

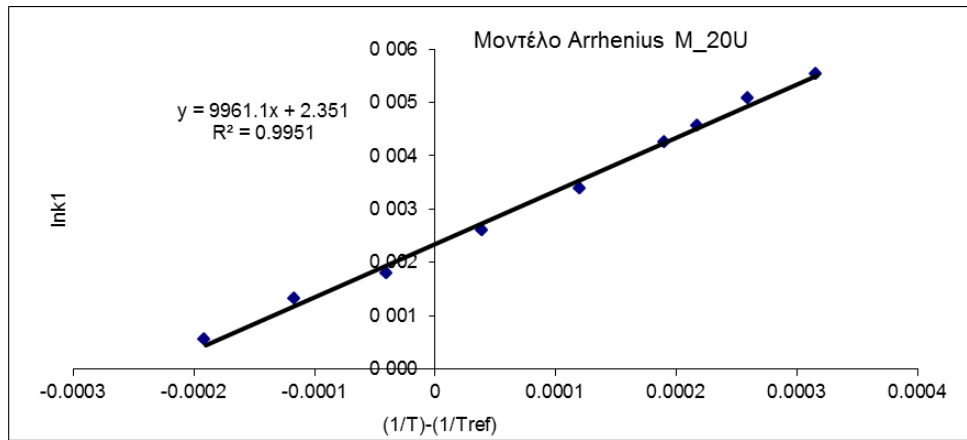
Με τη χρήση του προγράμματος Sigmaplot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.6.

Πίνακας 5.15: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_20U

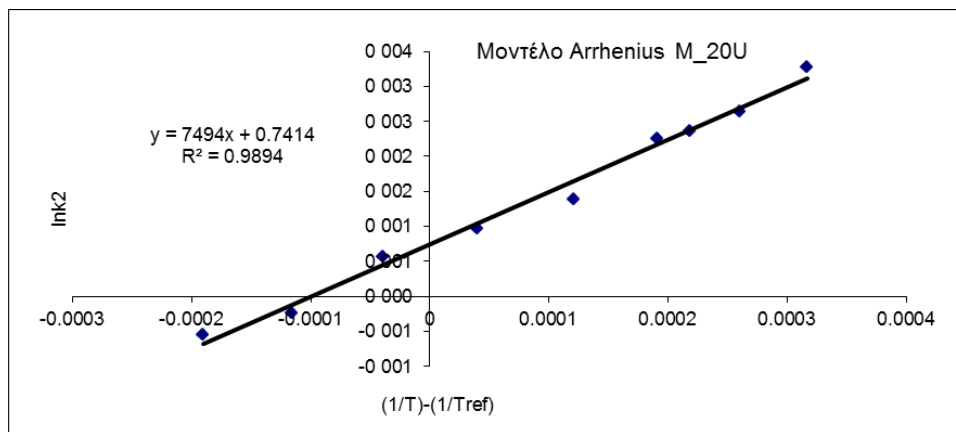
T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	1.763	0.576	0.987
10	3.757	0.789	0.984
5	6.009	1.761	0.977
0	13.668	2.641	0.949
-5	29.901	4.028	0.997
-9	70.820	9.492	0.981
-10	96.687	10.552	0.985
-12	159.565	14.050	0.980
-15	251.481	26.509	0.986

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_20U.

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ



Σχήμα 5.23: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_20U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)



Σχήμα 5.24: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_20U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

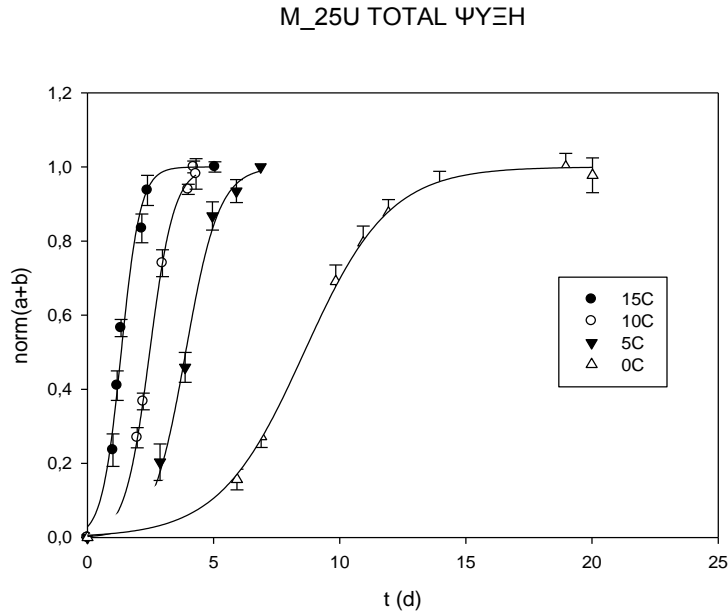
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_20U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.16: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_20U

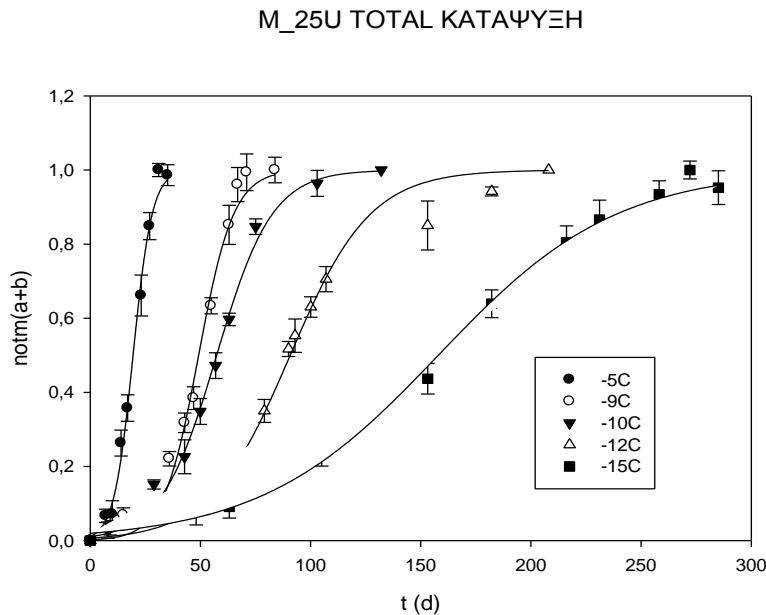
E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
105.8	16.250	3.623	0.872

5.2.7 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_25U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($\text{norm}(a+b)$) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.25: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_25U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.



Σχήμα 5.26: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_25U και για θερμοκρασίες -5, -9, -10, -12, -15°C.

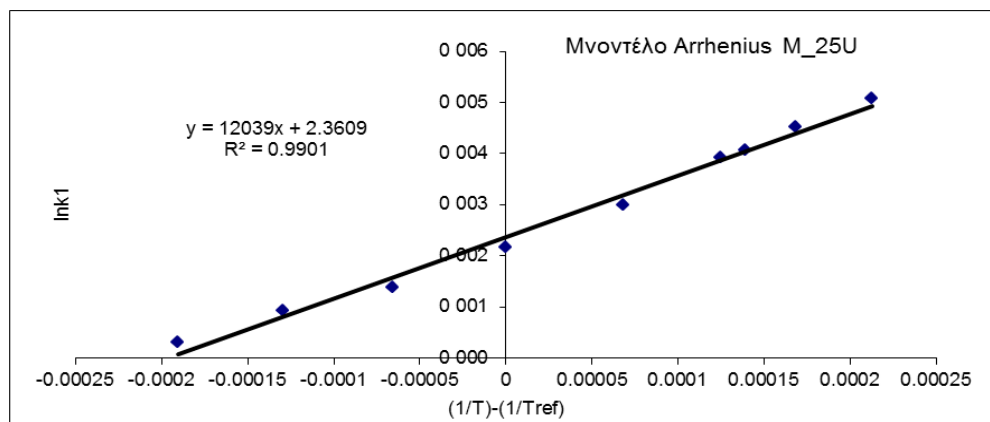
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M_25U

Με τη χρήση του προγράμματος Sigmaplot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.7.

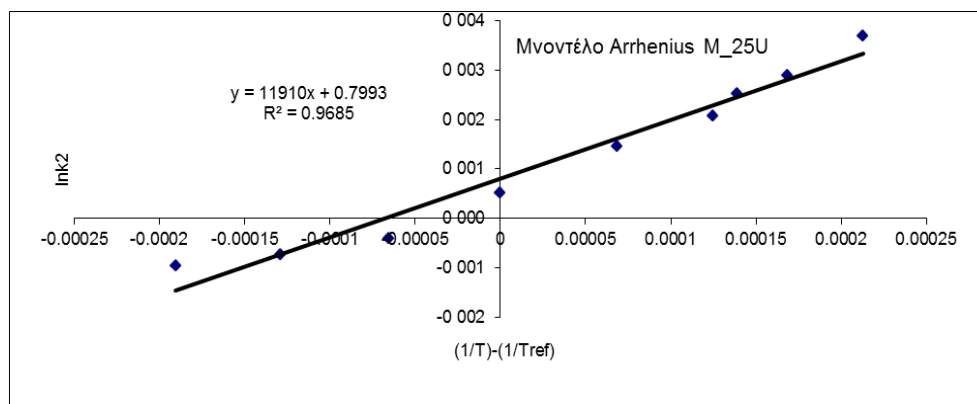
Πίνακας 5.17: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_25U

T (°C)	k ₁ (d)	k ₂ (d)	R ²
15	1.339	0.380	0.984
10	2.468	0.484	0.999
5	3.895	0.661	0.996
0	8.592	1.684	0.999
-5	19.443	4.338	0.993
-9	49.203	7.965	0.988
-10	57.379	12.634	0.996
-12	90.753	18.195	0.982
-15	157.967	40.386	0.996

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_25U.



Σχήμα 5.27: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_25U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)



Σχήμα 5.28: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_25U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

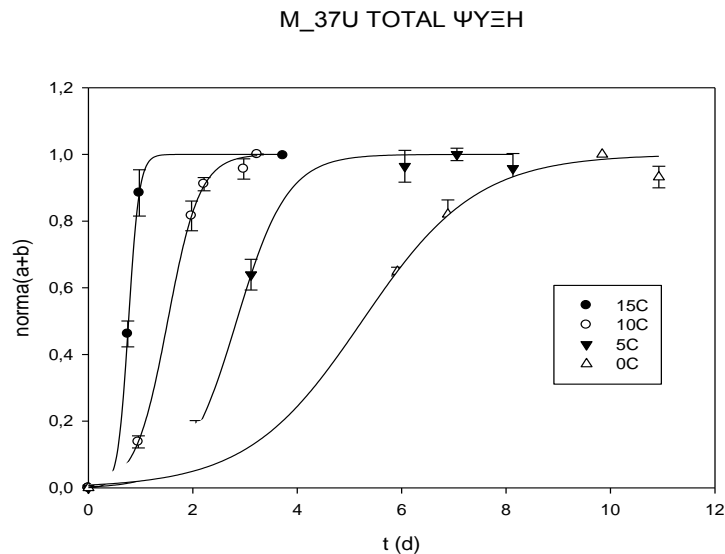
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_25U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.18: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_{25U}

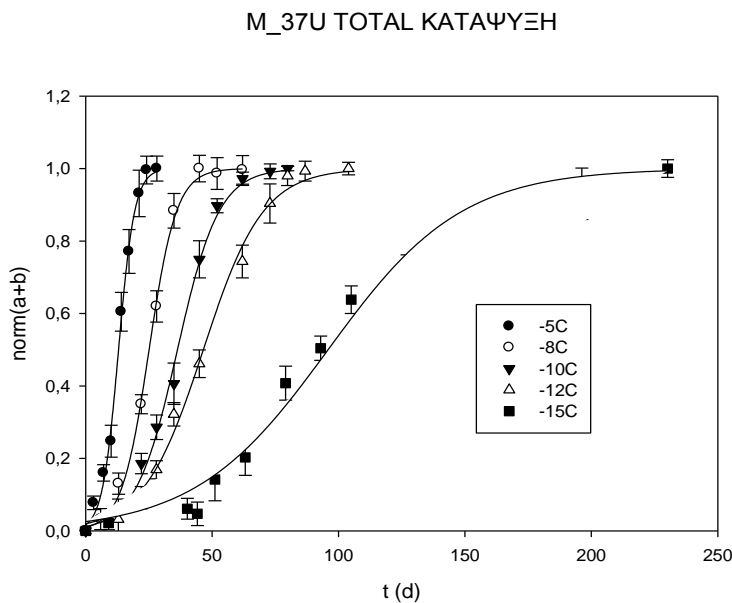
E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
94.9	9.812	2.185	0.901

5.2.8 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_{37U}

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c (norm(a+b)) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.29: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_{37U} και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.



Σχήμα 5.30: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_{37U} και για θερμοκρασίες -5, -8, -10, -12, -15°C.

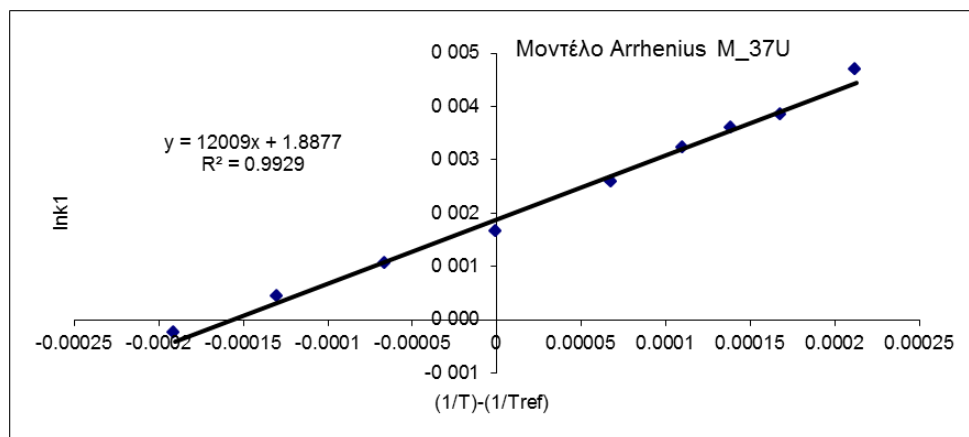
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M_37U

Με τη χρήση του προγράμματος Sigmaplot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.8.

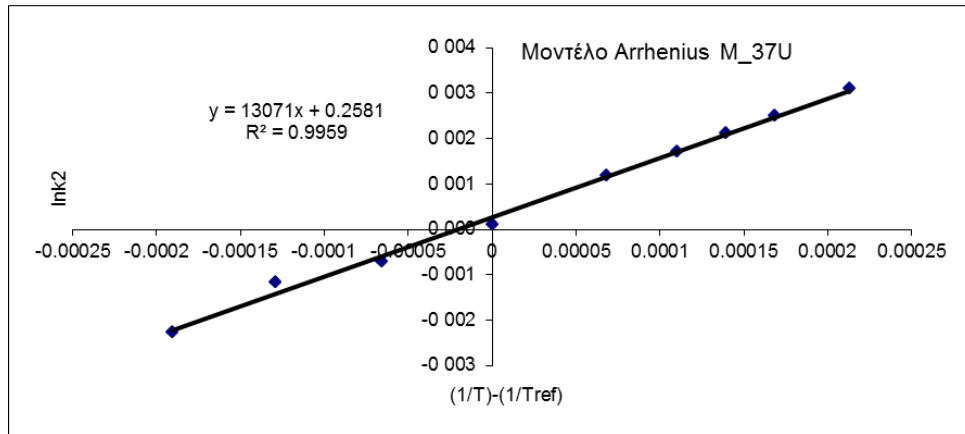
Πίνακας 5.19: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_37U

T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	0.770	0.102	1.000
10	1.519	0.307	0.999
5	2.838	0.487	0.997
0	5.241	1.099	0.994
-5	13.010	3.184	0.997
-8	25.085	5.407	0.998
-10	36.309	8.201	0.996
-12	46.524	11.854	0.996
-15	107.036	21.817	0.997

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_37U.



Σχήμα 5.31: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_37U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)



Σχήμα 5.32: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_37U ($T_{ref}=0^\circ\text{C}$)

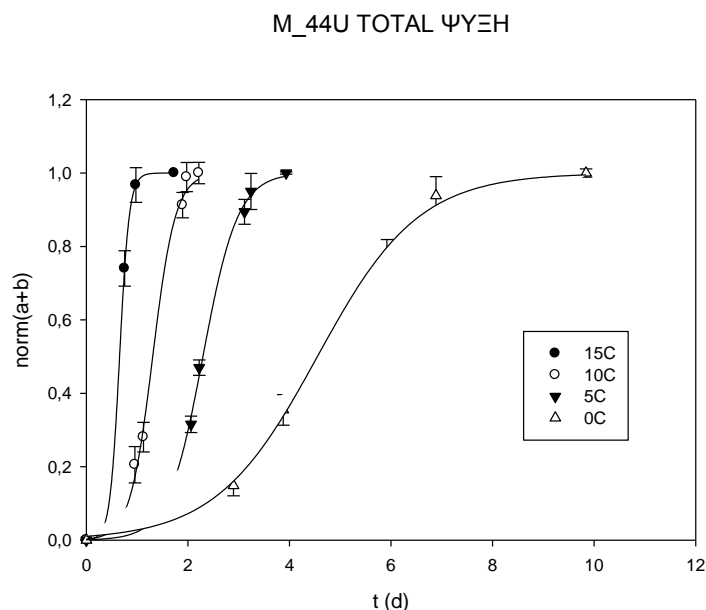
Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_37U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.20: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_37U

E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
101.3	6.343	1.556	0.968

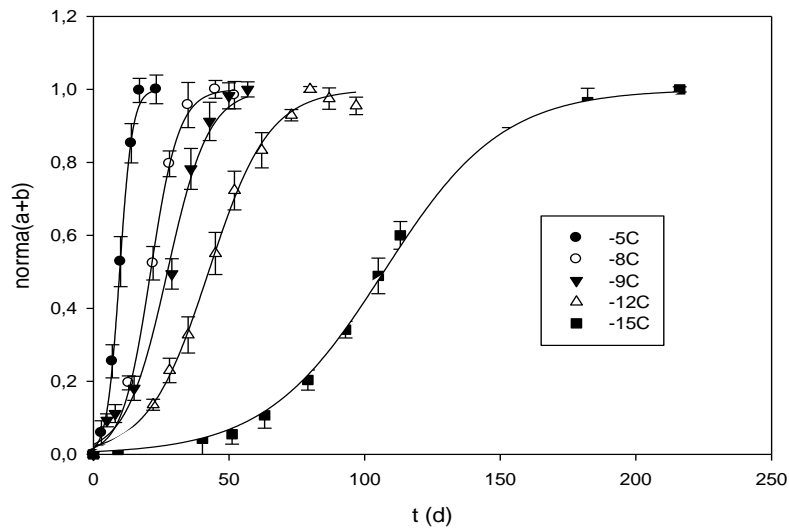
5.2.9 Κινητική μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M_44U

Παρακάτω παρουσιάζονται τα συνολικά διαγράμματα της μεταβολής της απόκρισης X_c ($\text{norm}(a+b)$) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης και για θερμοκρασίες κατάψυξης ξεχωριστά.



Σχήμα 5.33: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_44U και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

M_44U TOTAL ΚΑΤΑΨΥΞΗ



Σχήμα 5.34: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον ενζυμικό δείκτη M_44U και για θερμοκρασίες -5, -8, -9, -12, -15°C.

Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M 44U

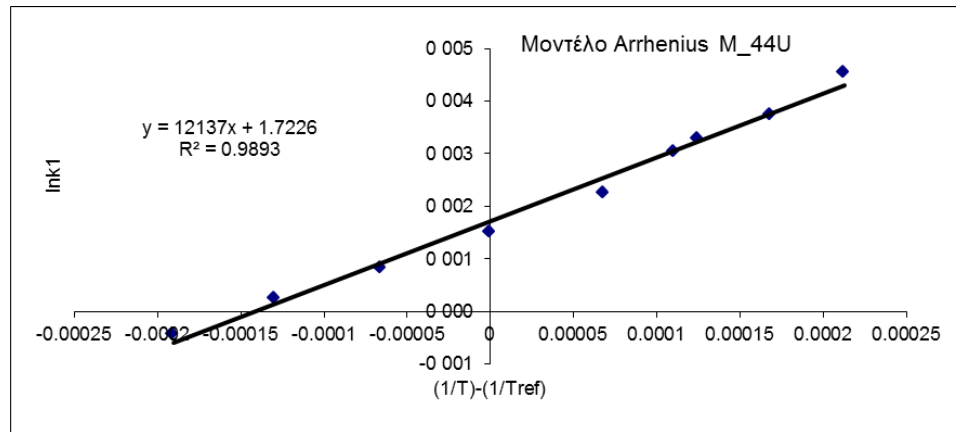
Με τη χρήση του προγράμματος Sigmaplot υπολογίσθηκαν οι σταθερές των ρυθμών απόκρισης k_1 και k_2 και οι συντελεστές συσχέτισης R^2 για κάθε θερμοκρασία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.9.

Πίνακας 5.21: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_44U

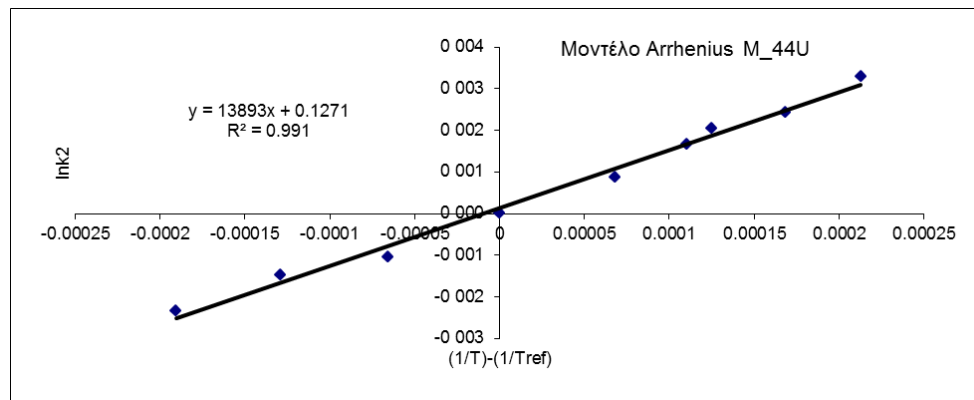
T (°C)	k_1 (d)	k_2 (d)	R^2
15	0.655	0.095	1.000
10	1.308	0.224	0.996
5	2.296	0.344	0.998
0	4.550	0.999	0.998
-5	9.683	2.349	0.998
-8	21.108	5.191	0.998
-9	27.273	7.610	0.993
-12	42.462	11.148	0.997
-15	95.876	26.342	0.978

Στα συνέχεια παραθέτονται τα γραμμικοποιημένα διαγράμματα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ και των $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_44U.

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ



Σχήμα 5.35: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_1$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_44U ($T_{ref}=0^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 5.36: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k_2$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη M_44U ($T_{ref}=0^{\circ}\text{C}$)

Με την μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης προσδιορίστηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη M_44U που προέκυψαν από την επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος Systat 10.2 και παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.22: Κινητικά χαρακτηριστικά του ενζυμικού δείκτη M_44U

E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
108.2	5.359	1.350	0.917

Στον επόμενο Πίνακα παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα κινητικά χαρακτηριστικά όλων των ενζυμικών ΤΤΙ.

Πίνακας 5.23: Κινητικά χαρακτηριστικά όλων των ενζυμικών δεικτών ($T_{ref}=0^{\circ}C$)

Ενζυμικός δείκτης	E_A (kJ/mol)	k_{1ref} (d)	k_{2ref} (d)	R^2
M_4.2U	94.6	56.667	14.894	0.954
M_7.2U	98.4	46.792	11.712	0.89
M_9.6U	104.3	34.666	8.866	0.889
M_11U	105.7	24.602	5.261	0.932
M_13U	94.8	18.173	4.294	0.941
M_20U	105.8	16.250	3.623	0.872
M_25U	94.9	9.812	2.185	0.901
M_37U	101.3	6.343	1.556	0.968
M_44U	108.2	5.359	1.350	0.917

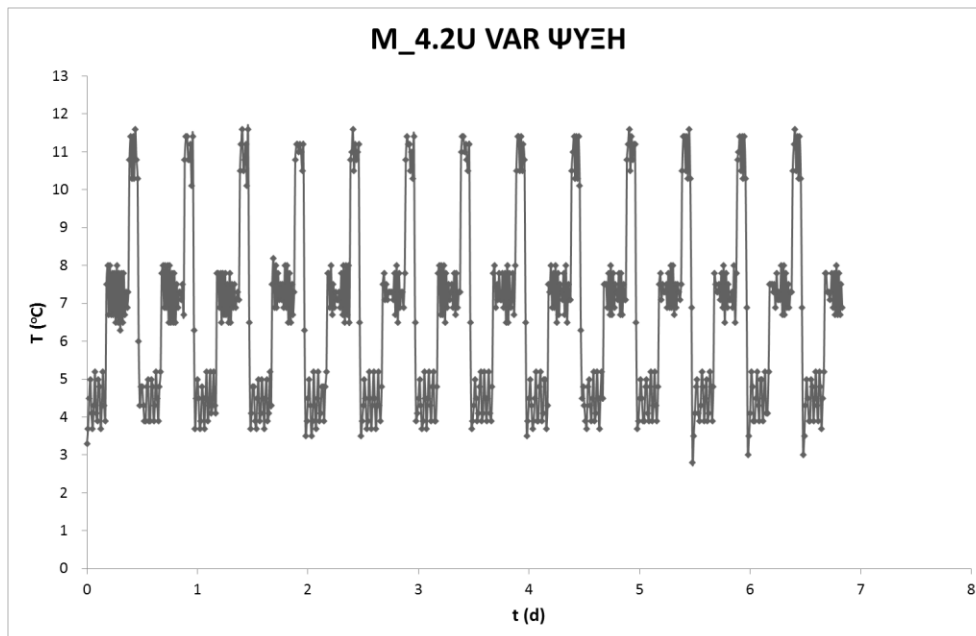
Παρατηρείται ότι έχουν όλα τα ΤΠΙ αρκετά υψηλό συντελεστή προσαρμογής R^2 , το οποίο αυξάνει την αξιοπιστία των παραπάνω αποτελεσμάτων. Ακόμη, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ενζύμου στο ΤΠΙ, μειώνονται οι σταθερές k_1 και k_2 (είναι αντιστρόφως ανάλογες του ρυθμού απόκρισης), το οποίο είναι αναμενόμενο αφού όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση του ενζύμου στο ΤΠΙ, τόσο πιο γρήγορα θα προχωράει και η ενζυμική αντίδραση. Τέλος, όπως φαίνεται οι ενέργειες ενεργοποίησης E_A κυμαίνονται από 94.6 kJ/mol μέχρι 108.2 kJ/mol, τιμές που είναι παραπλήσιες με εκείνες που βρέθηκαν από παρόμοιες μελέτες στη βιβλιογραφία (Μεταξά, 2009, Λουκιανού, 2011, Τούλη, 2013, Giannoglou et al., 2014)

5.2.10 Επεξεργασία μετρήσεων εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τους δείκτες M_4.2U, M_7.2U και M_37U

Πραγματοποιήθηκε η μελέτη της απόκρισης του ενζυμικού δείκτη M_4.2U σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες ψύξης και των δεικτών M_7.2U και M_37U σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες κατάψυξης, έτσι ώστε μέσω της στατιστικής επεξεργασίας των μετρήσεων αυτών να βρεθεί η αξιοπιστία του κινητικού μοντέλου.

Πείραμα εναλλασσόμενου θερμοκρασιακού χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τον ενζυμικό δείκτη M 4.2U

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζεται η μέση θερμοκρασιακή κατανομή (VAR) που κατέγραψε το καταγραφικό θερμοκρασίας (data logger) κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ ψύξης για τον ενζυμικό δείκτη M_4.2U.



Σχήμα 5.37: Χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ (VAR) ψύξης για τον ενζυμικό δείκτη M_4.2U

Με βάση το παραπάνω χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ και με τη χρήση της E_A που βρέθηκε παραπάνω υπολογίστηκε η T_{eff} . Στη συνέχεια, γνωρίζοντας την T_{eff} και τα κινητικά χαρακτηριστικά, που βρέθηκαν παραπάνω, για τον δείκτη M_4.2U (E_A , k_{1ref} και k_{2ref}), υπολογίζονται οι προβλεπόμενες σταθερές τους ρυθμού απόκρισης k_{1pred} και k_{2pred} μέσω της σχέσης:

$$k_{pred} = k_{ref} \cdot e^{\left[\frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T_{eff}} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right]} \quad (5.6)$$

όπου, $T_{ref} = 0^\circ\text{C}$ και $R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$

Είναι εφικτό πλέον, λοιπόν, να υπολογιστεί η προβλεπόμενη απόκριση του δείκτη ($norm(a+b)_{pred}$), μέσω της σχέσης 5.2, και να γίνει η σύγκρισή της με την πειραματική ($norm(a+b)_{exp}$).

Έπειτα, για να πραγματοποιηθεί στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και να βρεθεί η ελάχιστη και η μέγιστη προβλεπόμενη απόκριση X_c του δείκτη, εκτελείται γραμμική παλινδρομική ανάλυση (Regression) για διάστημα εμπιστοσύνης 95% (η εξαρτημένη μεταβλητή θεωρείται η $\ln k$ και η ανεξάρτητη μεταβλητή η $(1/T) - (1/T^{ref})$) στο Excel και έτσι υπολογίζονται οι ελάχιστες και οι μέγιστες τιμές των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη M_4.2U ($E_{A1}(\min)$, $k_{1ref}(\min)$, $k_{1ref}(\max)$, $E_{A1}(\max)$, $k_{2ref}(\min)$, $E_{A2}(\min)$, $k_{2ref}(\max)$, $E_{A2}(\max)$). Οπότε, πάλι με χρήση της σχέσης 5.6 υπολογίζονται οι ελάχιστες και μέγιστες προβλεπόμενες σταθερές του ρυθμού απόκρισης ($k_{1pred}(\min)$, $k_{2pred}(\min)$, $k_{1pred}(\max)$ και $k_{2pred}(\max)$) και στη συνέχεια μέσω της σχέσης 5.2, η ελάχιστη και η μέγιστη προβλεπόμενη απόκριση του δείκτη ($norm(a+b)_{pred}(\min)$ και $norm(a+b)_{pred}(\max)$).

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ

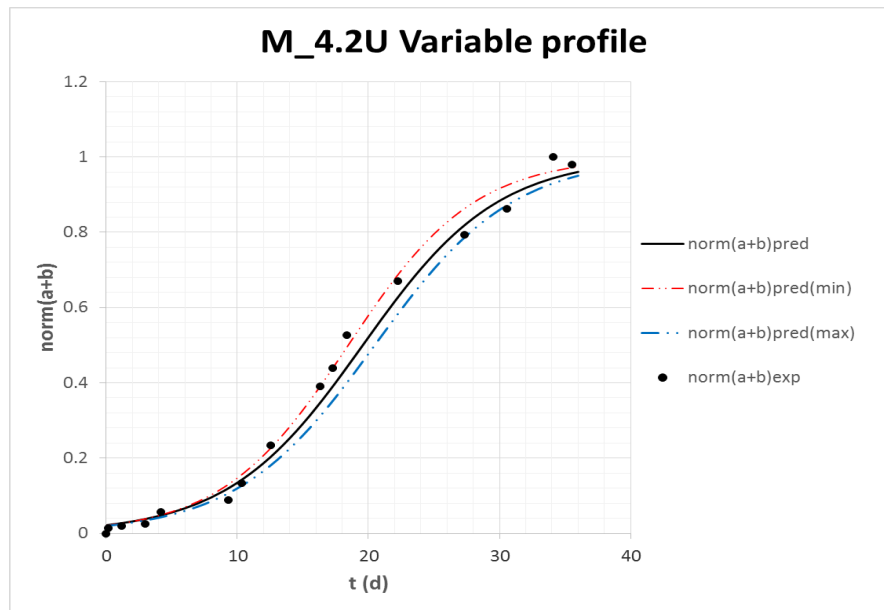
Στους επόμενους Πίνακες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της παραπάνω επεξεργασίας και στο Σχήμα 5.38 παρουσιάζεται η απεικόνιση του δείκτη $M_{4.2U}$ για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR.

Πίνακας 5.24: Προβλεπόμενες και πειραματικές σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη $M_{4.2U}$

T_{eff} (°C)	k_{1exp} (d)	k_{2pexp} (d)	k_{1pred} (d)	k_{2pred} (d)
7.2	18.721	4.982	19.568	5.142

Πίνακας 5.25: Ελάχιστες και μέγιστες προβλεπόμενες σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη $M_{4.2U}$ και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

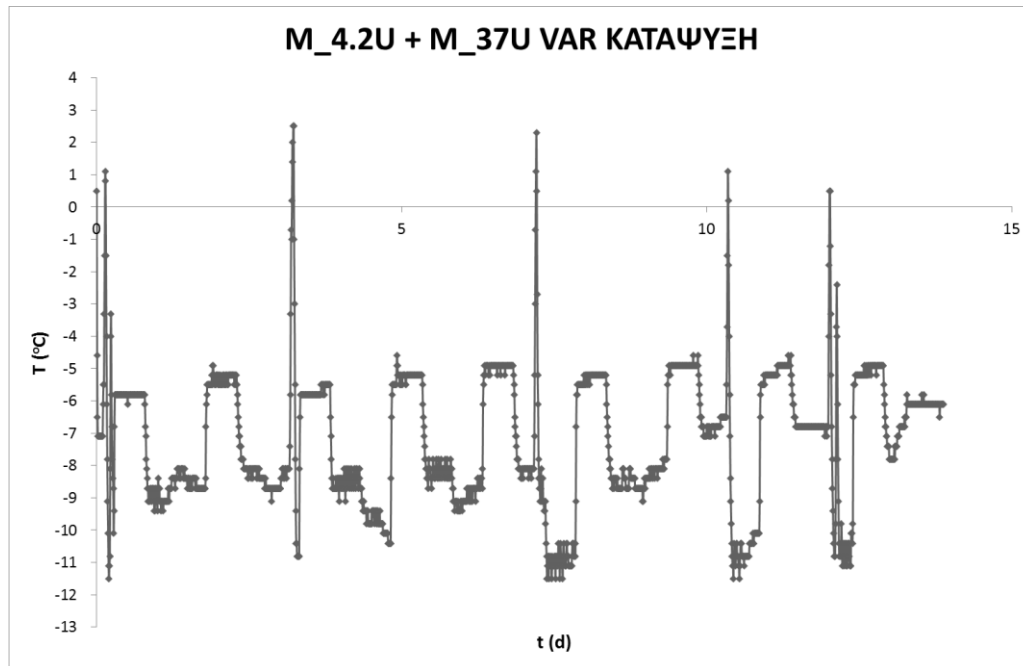
T_{eff} (°C)	$k_{1pred(min)}$ (d)	$k_{1pred(max)}$ (d)	$k_{2pred(min)}$ (d)	$k_{2pred(max)}$ (d)
7.2	18.460	20.481	4.813	5.252



Σχήμα 5.38: Απόκριση του δείκτη $M_{4.2U}$ για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

Πείραμα εναλλασσόμενου θερμοκρασιακού χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τον ενζυμικό δείκτη $M_{7.2U}$

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζεται η μέση θερμοκρασιακή κατανομή (VAR) που κατέγραψε το καταγραφικό θερμοκρασίας (data logger) κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ κατάψυξης για τον ενζυμικό δείκτη $M_{7.2U}$ και τον δείκτη M_{37U} .



Σχήμα 5.39: Χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ (VAR) κατάψυξης για τους ενζυμικούς δείκτες M_7.2U και M_37U

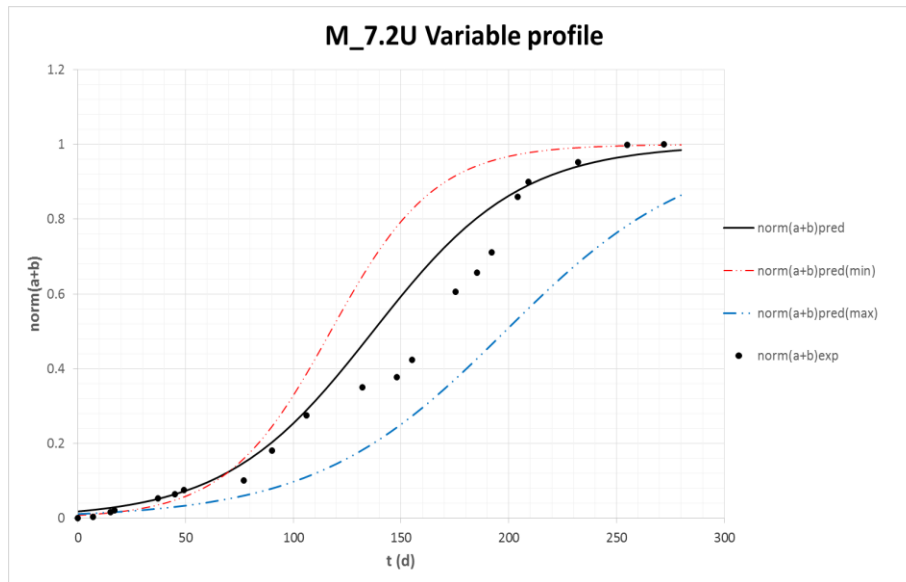
Η επεξεργασία των μετρήσεων γίνεται ομοίως με εκείνη για τον δείκτη M_4.2U, που περιγράφηκε παραπάνω και τα αποτελέσματα αυτής παρουσιάζονται στους επόμενους Πίνακες και στο Σχήμα 5.40 παρουσιάζεται η απεικόνιση του δείκτη M_7.2U για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR.

Πίνακας 5.26: Προβλεπόμενες και πειραματικές σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη M_7.2U

$T_{\text{eff}} (^{\circ}\text{C})$	$k_{1\text{exp}} (\text{d})$	$k_{2\text{pexp}} (\text{d})$	$k_{1\text{pred}} (\text{d})$	$k_{2\text{pred}} (\text{d})$
7.2	155.934	34.837	136.974	34.284

Πίνακας 5.27: Ελάχιστες και μέγιστες προβλεπόμενες σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη M_7.2U και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

$T_{\text{eff}} (^{\circ}\text{C})$	$k_{1\text{pred}(\text{min})} (\text{d})$	$k_{1\text{pred}(\text{max})} (\text{d})$	$k_{2\text{pred}(\text{min})} (\text{d})$	$k_{2\text{pred}(\text{max})} (\text{d})$
7.2	117.306	198.270	24.236	44.163



Σχήμα 5.40: Απόκριση του δείκτη M_7.2U για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

Πείραμα εναλλασσόμενου θερμοκρασιακού χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τον ενζυμικό δείκτη M_37U

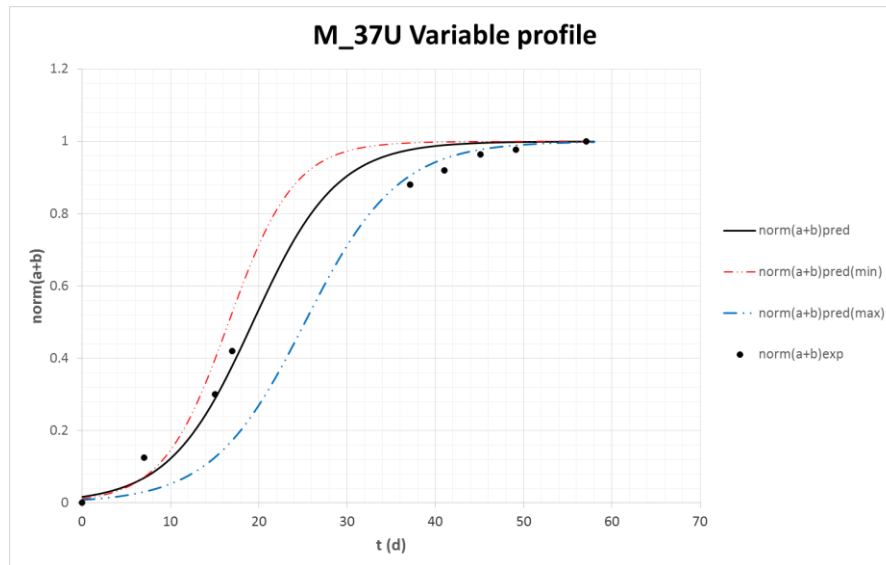
Η επεξεργασία των μετρήσεων γίνεται ομοίως με εκείνη για τον δείκτη M_4.2U, που περιγράφηκε παραπάνω και τα αποτελέσματα αυτής παρουσιάζονται στους επόμενους Πίνακες και στο Σχήμα 5.41 παρουσιάζεται η απεικόνιση του δείκτη M_37U για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR.

Πίνακας 5.28: Προβλεπόμενες και πειραματικές σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη M_37U

T_{eff} (°C)	k_{1exp} (d)	k_{2pexp} (d)	k_{1pred} (d)	k_{2pred} (d)
7.2	20.747	7.365	19.341	4.745

Πίνακας 5.29: Ελάχιστες και μέγιστες προβλεπόμενες σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη M_37U και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

T_{eff} (°C)	$k_{1pred(min)}$ (d)	$k_{1pred(max)}$ (d)	$k_{2pred(min)}$ (d)	$k_{2pred(max)}$ (d)
7.2	16.597	25.244	3.731	5.270



Σχήμα 5.41: Απόκριση του δείκτη M_37U για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

Όπως παρατηρείται και από τις τιμές των σταθερών αλλά και από τα Σχήματα 5.38, 5.40, 5.41), υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενης και πειραματικής απόκρισης του δείκτη, με μικρό σφάλμα.

5.3 Κινητική μελέτη της απόκρισης των φωτοχημικών ΤΤΙ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι φωτοχημικοί δείκτες ενεργοποιούνται ύστερα από έκθεση τους για ορισμένο χρόνο στην υπεριώδη ακτινοβολία.

Οι φωτοχημικοί χρονο-θερμοκρασιακοί δείκτες που μελετήθηκαν είναι ο **OnVu B1** (έπειτα από ενεργοποίηση των δεικτών και από το Bizerba Desktop charger -B1_C- αλλά και από το OnVu handcharger -B1_H-) για τους παρακάτω χρόνους έκθεσης σε υπεριώδη ακτινοβολία:

- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 0.6s (ενεργοποίηση από το Bizerba Desktop charger)
- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 1s (ενεργοποίηση από το Bizerba Desktop charger)
- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 2s (ενεργοποίηση από το Bizerba Desktop charger)
- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 1s (ενεργοποίηση από τον= OnVu handcharger)
- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 2s (ενεργοποίηση από το OnVu handcharger)

ο **OnVu B1 Snowflake** για τους παρακάτω χρόνους έκθεσης σε υπεριώδη ακτινοβολία:

- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 1s

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ

- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 2s

και ο **OnVu BL** για τους παρακάτω χρόνους έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία:

- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 1s
- Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία για 2s

Ακριβώς όπως και κατά τη μελέτη των ενζυμικών ΤΠΙ πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε ισοθερμοκρασιακές συνθήκες και σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες. Συγκεκριμένα, με βάση τη μεταβολή του χρώματος των ΤΠΙ κατά τα ισοθερμοκρασιακά πειράματα, κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα μεταβολής του χρώματος συναρτήσει του χρόνου για κάθε θερμοκρασία, καθώς επίσης και το συνολικό διάγραμμα της απόκρισης των ΤΠΙ ($F(X_c)$) με το χρόνο. Το μοντέλο της εκθετικής συνάρτησης αποδείχτηκε ότι περιγράφει καλύτερα την κινητική των φωτοχημικών ΤΠΙ.

Στη συνέχεια έγινε προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων των ΤΠΙ, (E_A , k_A) με χρήση της εξίσωσης Arrhenius για κάθε ΤΠΙ.

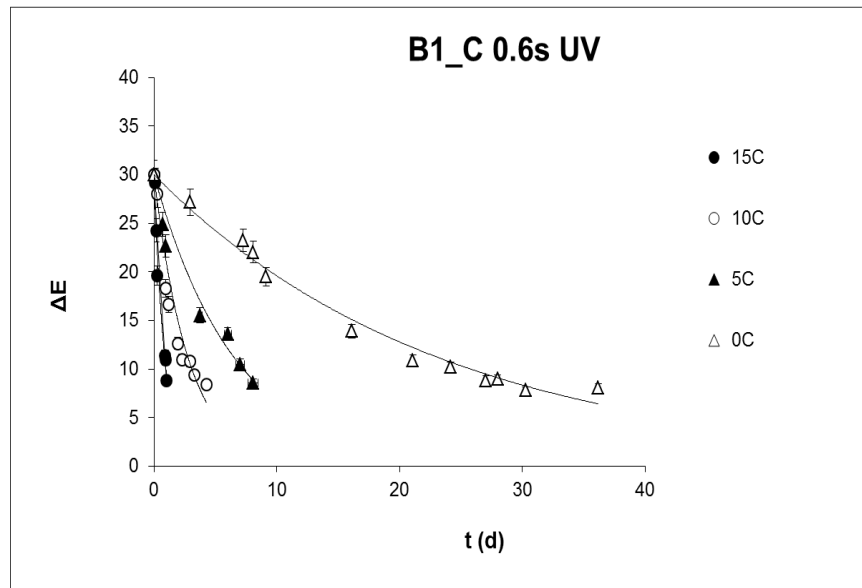
Στις επόμενες παραγράφους παρουσιάζονται τα διαγράμματα μεταβολής της απόκρισης (ΔE) συναρτήσει του χρόνου, για κάθε θερμοκρασία και για κάθε χρόνο έκθεσης των φωτοχημικών ΤΠΙ στην υπεριώδη ακτινοβολία και παρουσιάζονται οι κινητικές παράμετροι E_A και k_A που υπολογίστηκαν με βάση την επεξεργασία των αποτελεσμάτων των ισοθερμοκρασιακών πειραμάτων.

Όσον αφορά τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε μη ισοθερμοκρασιακό προφίλ, για κάθε τύπο ΤΠΙ, έγινε καταγραφή των κινητικών παραμέτρων E_A και k_A που υπολογίστηκαν με βάση την επεξεργασία των αποτελεσμάτων των ισοθερμοκρασιακών πειραμάτων και πραγματοποιήθηκε σύγκριση αυτών, ενώ στη συνέχεια παρουσιάστηκαν οι προβλεπόμενες πειραματικές σταθερές, οι οποίες προέκυψαν ύστερα από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων των πειραμάτων.

Επεξεργασία των πειραματικών μετρήσεων

5.3.1 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου **B1_C 0.6s UV**

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη B1_C 0.6s UV (ενεργοποιημένο από το Bizerba Desktop charger).



Σχήμα 5.42: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης χ_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη B1_C 0.6s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

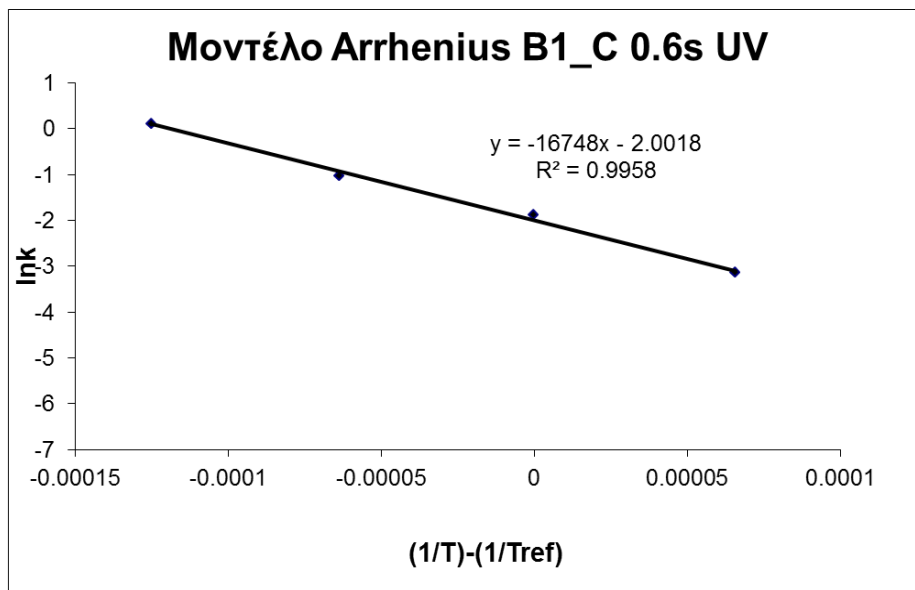
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη B1 C 0.6s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.30: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη B1_C 0.6s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d ⁻¹)	R ²
15	1.120	0.979
10	0.356	0.894
5	0.151	0.964
0	0.043	0.967

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_C 0.6s UV και $T_{ref}=5^\circ\text{C}$.



Σχήμα 5.43: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_C 0.6s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

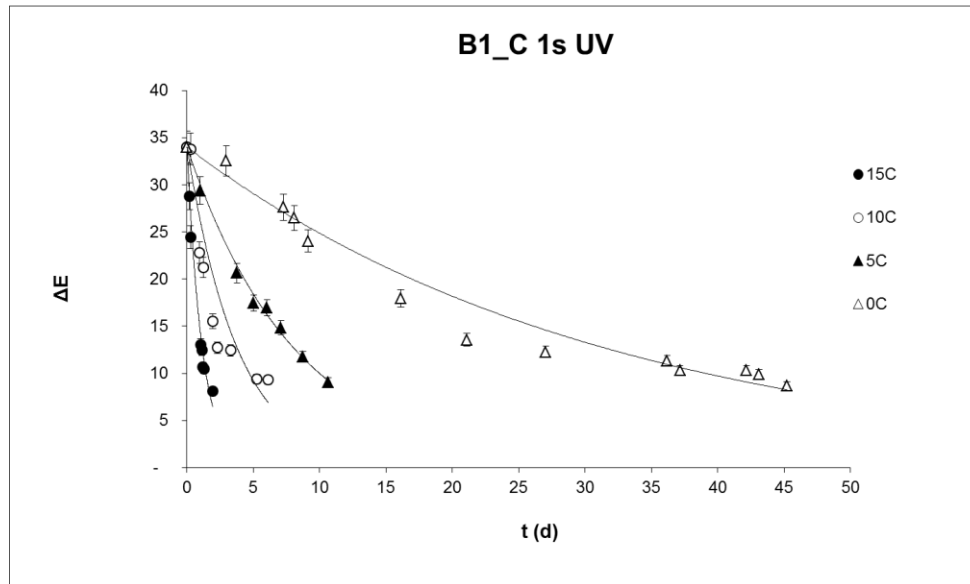
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.31: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη B1_C 0.6s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d^{-1})	R^2
132.2	0.135	0.996

5.3.2 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_C 1s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη B1_C 1s UV (ενεργοποιημένο από το Bizerba Desktop charger).



Σχήμα 5.44: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη B1_C 1s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

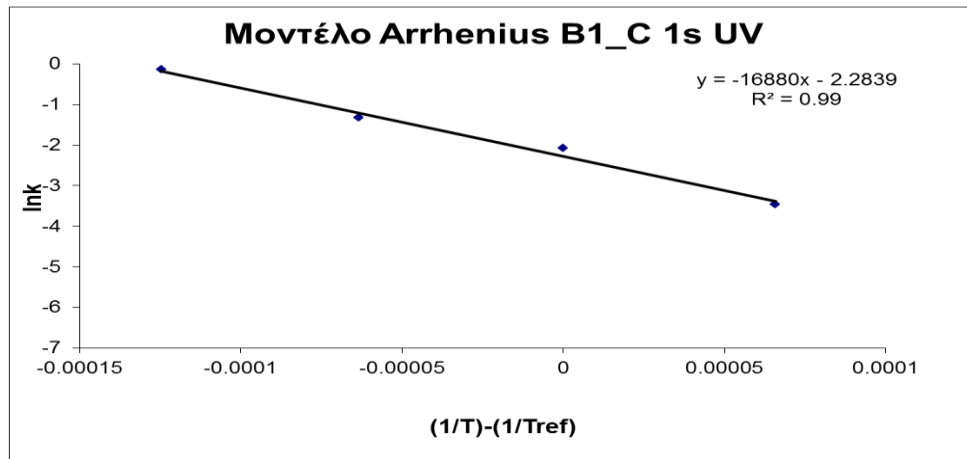
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη B1_C 1s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.32: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη B1_C 1s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d⁻¹)	R²
15	0.858	0.954
10	0.261	0.800
5	0.123	0.994
0	0.031	0.949

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_C 1s UV και $T_{ref}=5^\circ\text{C}$.



Σχήμα 5.45: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_C 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

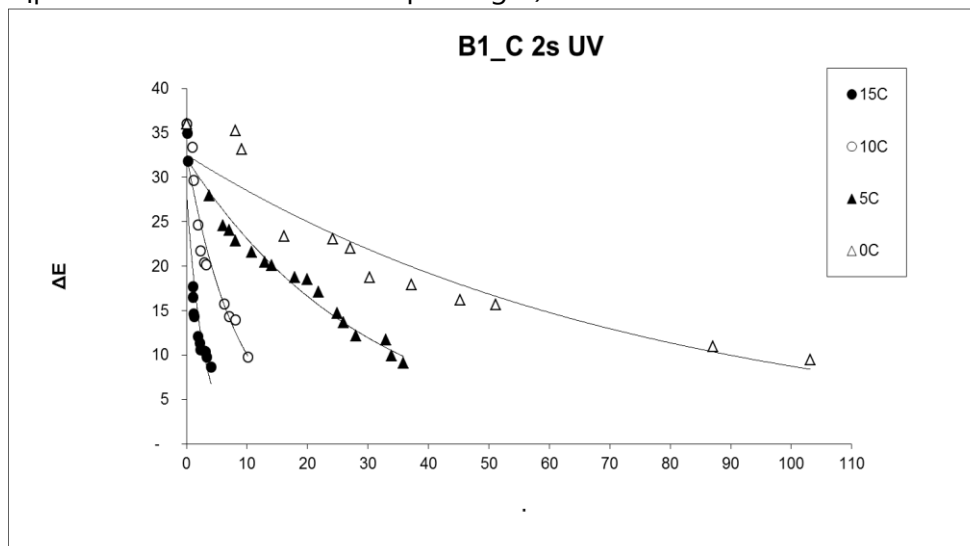
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.33: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη B1_C 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d ⁻¹)	R^2
140.3	0.102	0.990

5.3.3 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1_C 2s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη B1_C 2s UV (ενεργοποιημένο από το Bizerba Desktop charger).



Σχήμα 5.46: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη B1_C 2s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

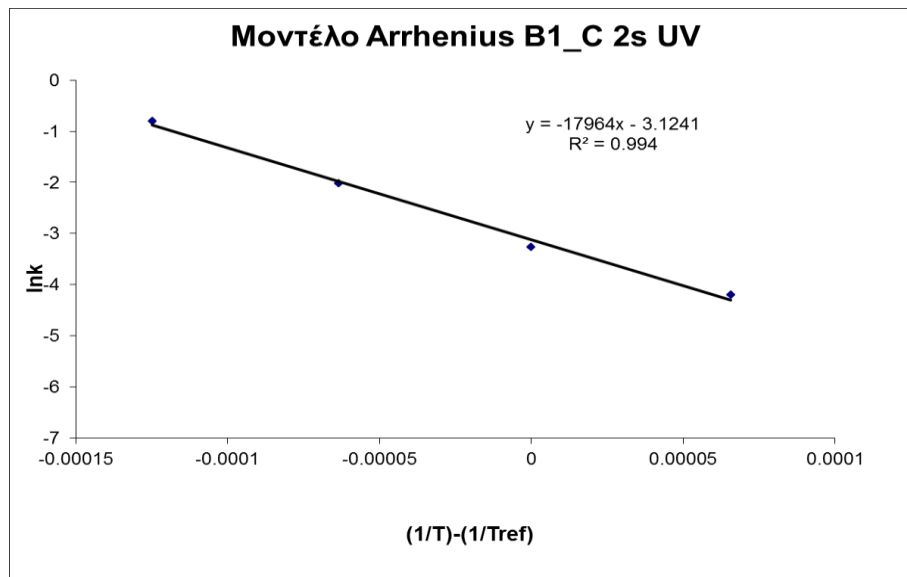
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη B1_C 2s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.34: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη B1_C 2s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d ⁻¹)	R ²
15	0.445	0.758
10	0.133	0.920
5	0.038	0.942
0	0.015	0.903

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_C 2s UV και $T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$.



Σχήμα 5.47: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_C 2s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

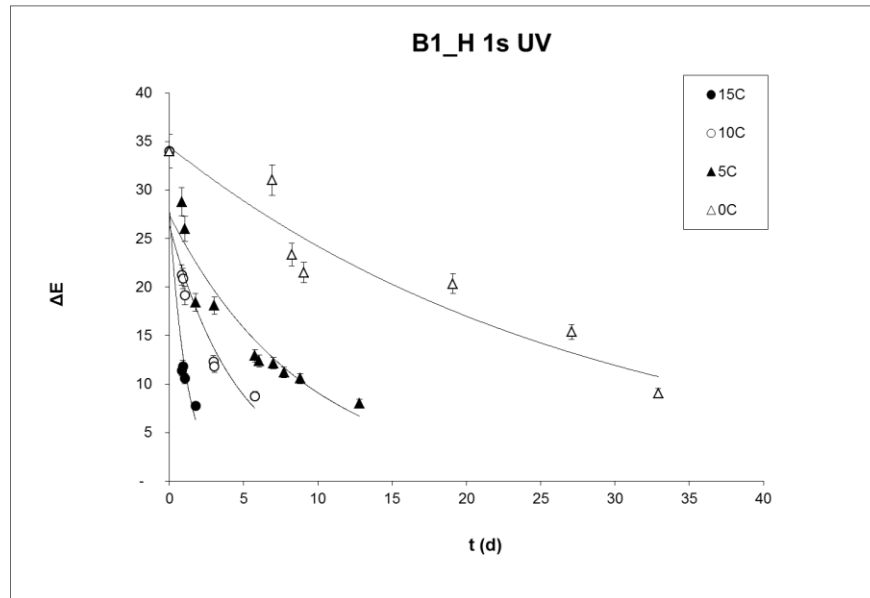
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.35: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη B1_C 2s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d ⁻¹)	R ²
149.4	0.044	0.994

5.3.4 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_H 1s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη B1_H 1s UV (ενεργοποιημένο από το OnVu handcharger).



Σχήμα 5.48: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη B1_H 1s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

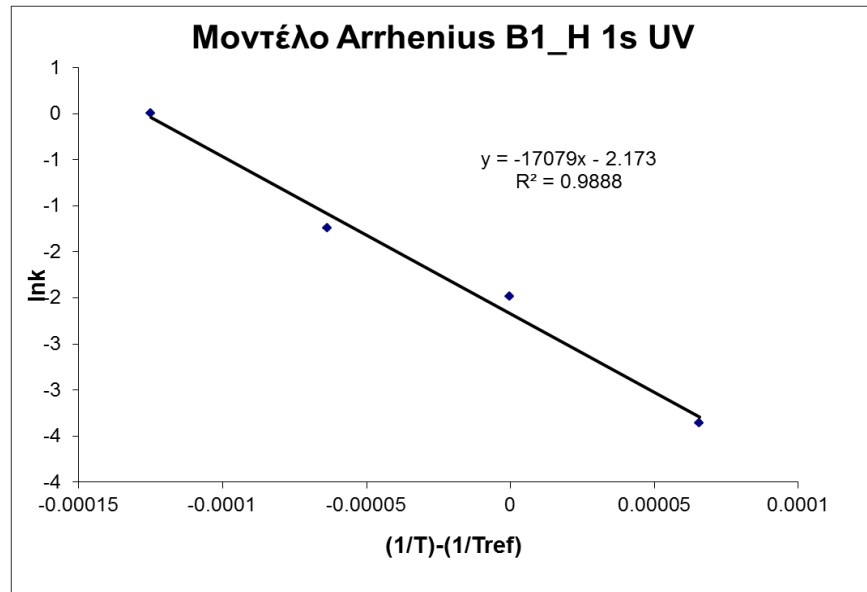
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη B1_H 1s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.36: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη B1_H 1s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d ⁻¹)	R ²
15	1.002	0.847
10	0.287	0.734
5	0.137	0.824
0	0.035	0.894

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_H 1s UV και $T_{ref}=5^\circ\text{C}$.



Σχήμα 5.49: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_H 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

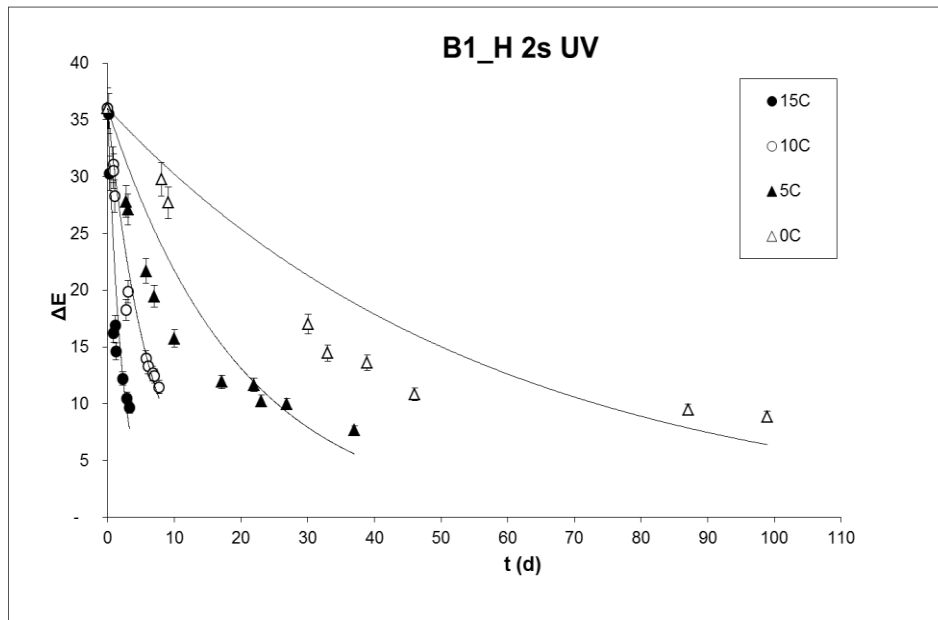
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.37: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη B1_H 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d ⁻¹)	R^2
142.0	0.114	0.989

5.3.5 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_H 2s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσεως του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη B1_H 1s UV (ενεργοποιημένο από το OnVu handcharger).



Σχήμα 5.50: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης χ_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη B1_H 2s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

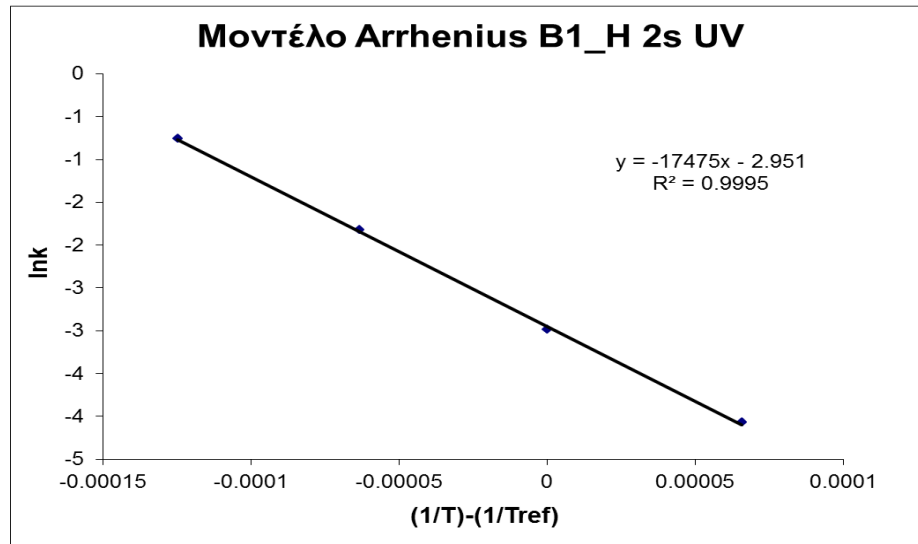
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη B1_H 2s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.38: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη B1_H 2s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d ⁻¹)	R ²
15	0.467	0.826
10	0.160	0.952
5	0.050	0.830
0	0.017	0.739

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_H 2s UV και $T_{ref}=5^\circ\text{C}$.



Σχήμα 5.51: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T) - (1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_H 2s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

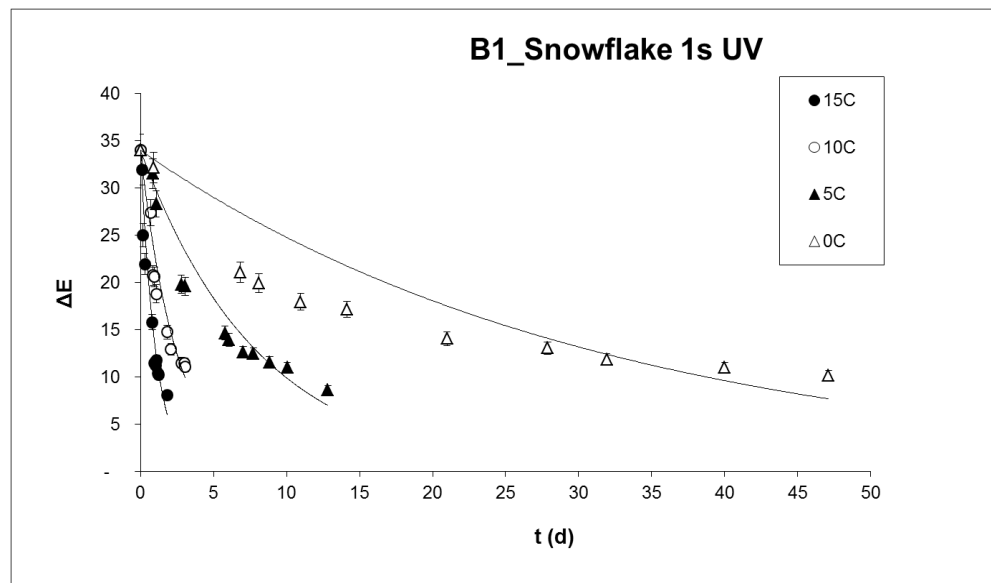
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.39: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη B1_H 2s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d^{-1})	R^2
145.3	0.052	0.999

5.3.6 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake 1s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη B1_Snowflake 1s UV.



Σχήμα 5.52: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη B1_Snowflake 1s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

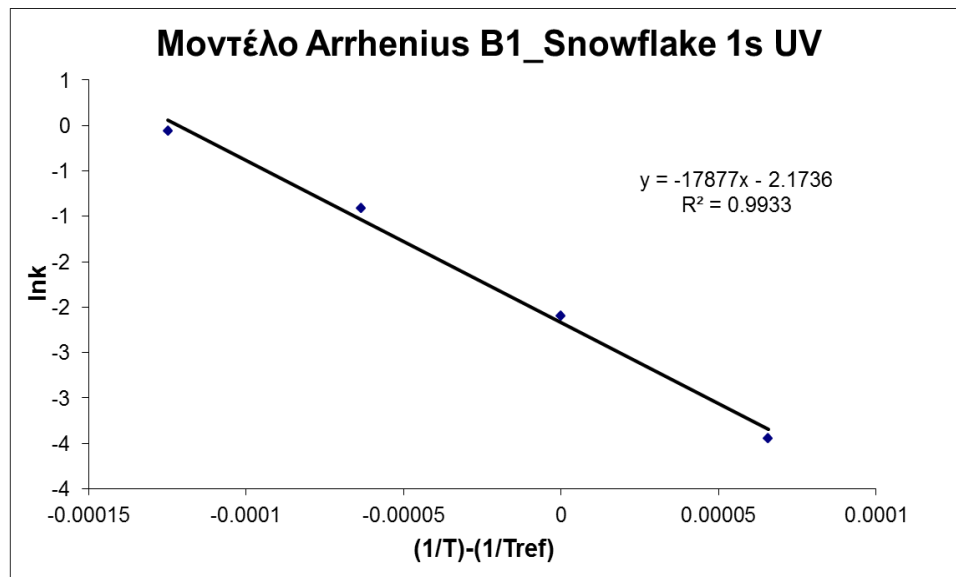
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη B1 Snowflake 1s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.40: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔΕ του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake 1s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d ⁻¹)	R ²
15	0.945	0.921
10	0.402	0.911
5	0.123	0.916
0	0.032	0.731

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_Snowflake 1s UV και $T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$.



Σχήμα 5.53: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_Snowflake 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

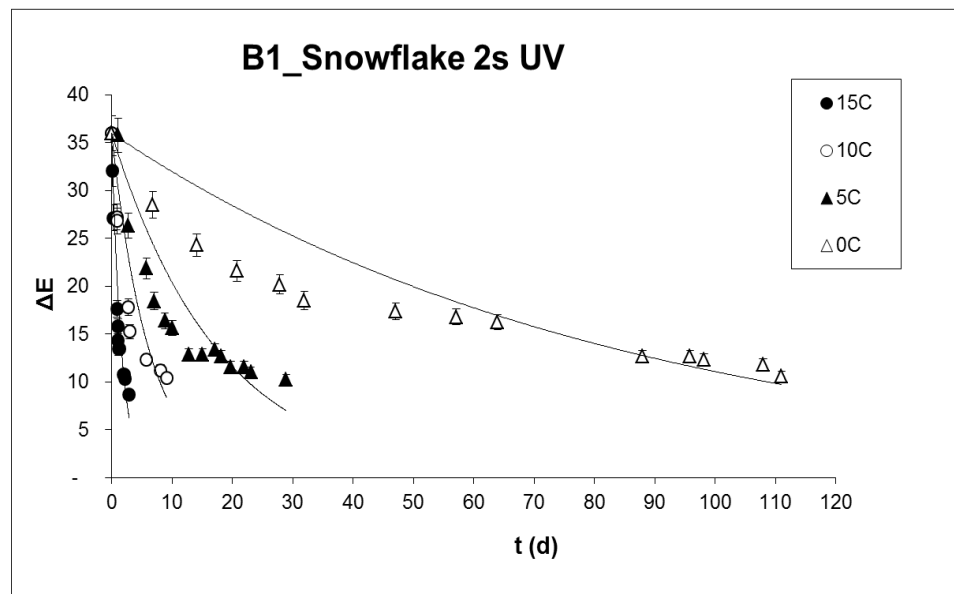
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.41: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}C$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d^{-1})	R^2
148.6	0.114	0.993

5.3.7 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών TTI τύπου B1_Snowflake 2s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη B1_Snowflake 2s UV.



Σχήμα 5.54: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη B1_Snowflake 2s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη B1_Snowflake 2s UV

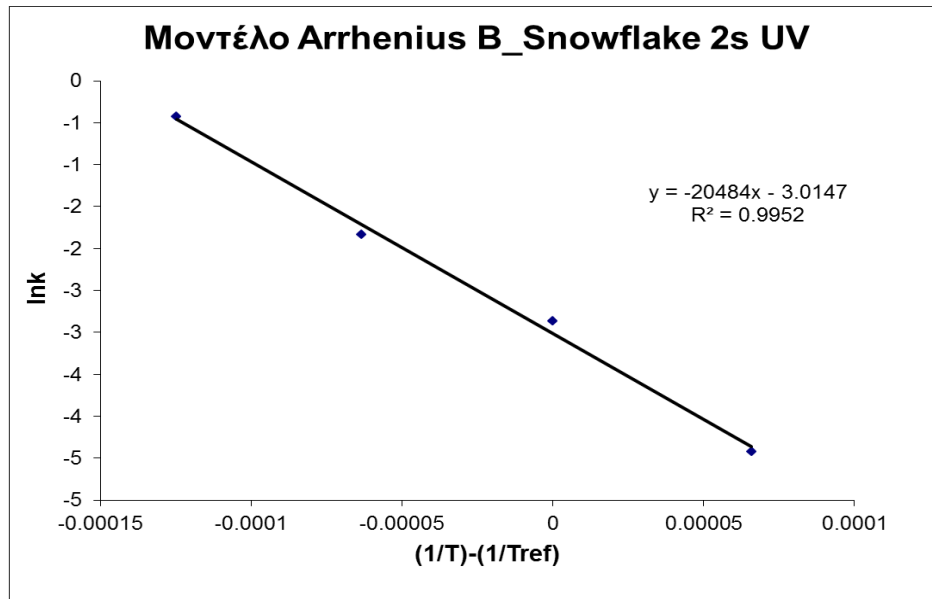
Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.42: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake 2s UV για κάθε θερμοκρασία

T ($^{\circ}C$)	k (d^{-1})	R^2
15	0.650	0.828
10	0.160	0.780
5	0.057	0.761
0	0.012	0.775

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_Snowflake 2s UV και $T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$.



Σχήμα 5.55: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη B1_Snowflake 2s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

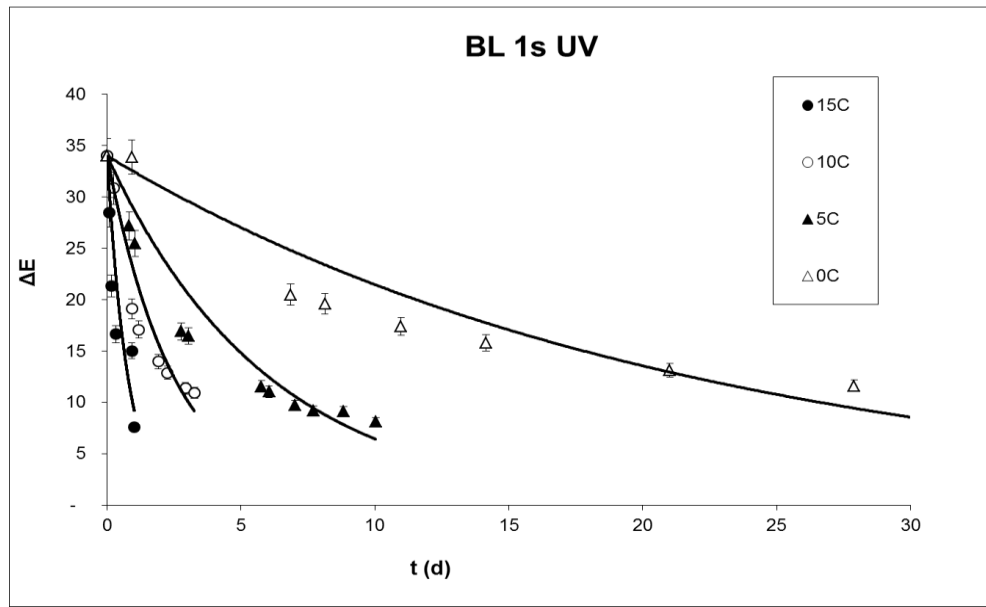
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.43: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake 2s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d^{-1})	R^2
170.3	0.049	0.995

5.3.8 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου BL 1s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη BL 1s UV.



Σχήμα 5.56: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη BL 1s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15°C.

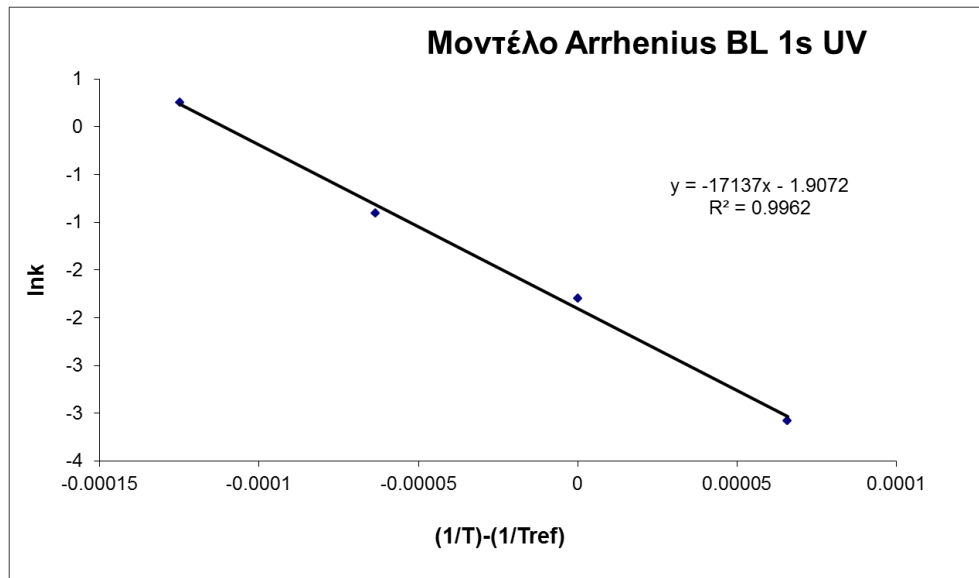
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη BL 1s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.44: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη BL 1s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d⁻¹)	R²
15	1.289	0.772
10	0.403	0.893
5	0.166	0.904
0	0.046	0.860

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T) - (1/T_{ref})$ για τον δείκτη BL 1s UV και $T_{ref} = 5^\circ\text{C}$.



Σχήμα 5.57: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη BL 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

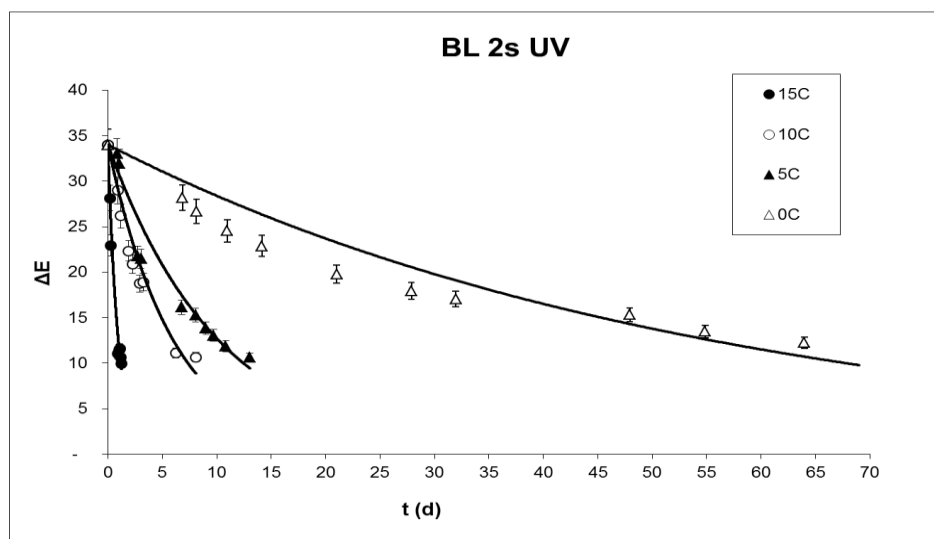
Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.45: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη BL 1s UV ($T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d^{-1})	R^2
142.5	0.148	0.996

5.3.9 Κινητική μελέτη των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου BL 2s UV

Παρακάτω παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα της μεταβολής της απόκρισης X_c (ΔE) συναρτήσει του χρόνου για θερμοκρασίες ψύξης για το φωτοχημικό δείκτη BL 2s UV.



Σχήμα 5.58: Συνολικό διάγραμμα της μεταβολής απόκρισης X_c με το χρόνο για τον φωτοχημικό δείκτη BL 2s UV και για θερμοκρασίες 0, 5, 10, 15 $^{\circ}\text{C}$.

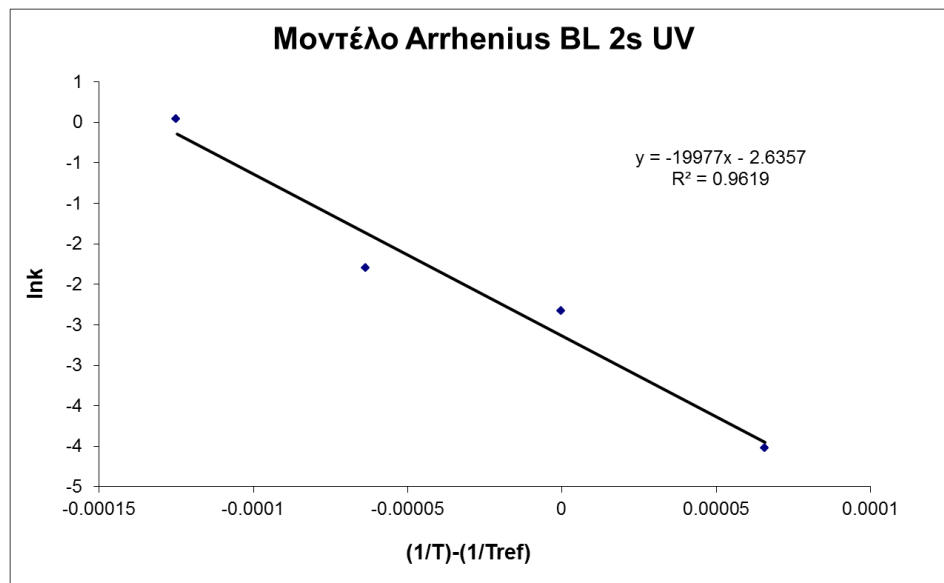
Προσδιορισμός των κινητικών χαρακτηριστικών του δείκτη BL 2s UV

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική καμπύλη) για κάθε θερμοκρασία χωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k και μαζί με τους συντελεστές συσχέτισης R^2 παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.46: Σταθερά του ρυθμού απόκρισης ΔE του φωτοχημικού δείκτη BL 2s UV για κάθε θερμοκρασία

T (°C)	k (d ⁻¹)	R ²
15	1.040	0.965
10	0.166	0.935
5	0.098	0.955
0	0.018	0.871

Στα συνέχεια παραθέεται το γραμμικοποιημένο διάγραμμα Arrhenius, δηλαδή η γραμμική προσαρμογή των $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη BL 2s UV και $T_{ref}=5^\circ\text{C}$.



Σχήμα 5.59: Γραμμική προσαρμογή του $\ln k$ ως προς $(1/T)-(1/T_{ref})$ για τον δείκτη BL 2s UV ($T_{ref}=5^\circ\text{C}$)

Τα κινητικά χαρακτηριστικά που του δείκτη που προέκυψαν από την προηγούμενη επεξεργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.47: Κινητικά χαρακτηριστικά του φωτοχημικού δείκτη BL 2s UV ($T_{ref}=5^\circ\text{C}$)

E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d ⁻¹)	R ²
166.1	2.636	0.962

Στον επόμενο Πίνακα παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα κινητικά χαρακτηριστικά όλων των φωτοχημικών ΤΠΙ.

Πίνακας 5.48: Κινητικά χαρακτηριστικά όλων των φωτοχημικών δεικτών ($T_{ref}=5^{\circ}C$)

Φωτοχημικός δείκτης	E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d ⁻¹)	R^2
B1_C 0.6s UV	132.2	0.135	0.996
B1_C 1s UV	140.3	0.102	0.990
B1_C 2s UV	149.4	0.044	0.994
B1_H 1s UV	142.0	0.114	0.989
B1_H 2s UV	145.3	0.052	0.999
B1_Snowflake 1s UV	148.6	0.114	0.993
B1_Snowflake 2s UV	170.3	0.049	0.995
BL 1s UV	142.5	0.148	0.996
BL 2s UV	166.1	2.636	0.962

Παρατηρείται ότι έχουν όλα τα ΤΠΙ αρκετά υψηλό συντελεστή προσαρμογής R^2 , το οποίο αυξάνει την αξιοπιστία των παραπάνω αποτελεσμάτων. Ακόμη, παρατηρείται ότι όσο μειώνεται ο χρόνος έκθεσης του ΤΠΙ στην υπεριώδη ακτινοβολία, τόσο αυξάνεται ο ρυθμός k της απόκρισης, δηλαδή τόσο πιο γρήγορα πραγματοποιείται η αντίδραση μεταφοράς ριζών. Τέλος, όπως φαίνεται οι ενέργειες ενεργοποίησης E_A κυμαίνονται από 132.2 kJ/mol μέχρι 170.3 kJ/mol, τιμές που είναι παραπλήσιες με εκείνες που βρέθηκαν από παρόμοιες μελέτες στη βιβλιογραφία (Μεταξά, 2009, Πλατάκου, 2010, Λουκιανού, 2011, Tsironi et al., 2011, Τούλη, 2013, Brizio, 2014, Giannoglou et al., 2014). Ακόμη παρατηρείται ότι οι ΤΠΙ ενεργοποιημένοι με τους δύο διαφορετικούς τρόπους (B1_C και B1_H) έχουν παρόμοιες τιμές E_A και k_{ref} .

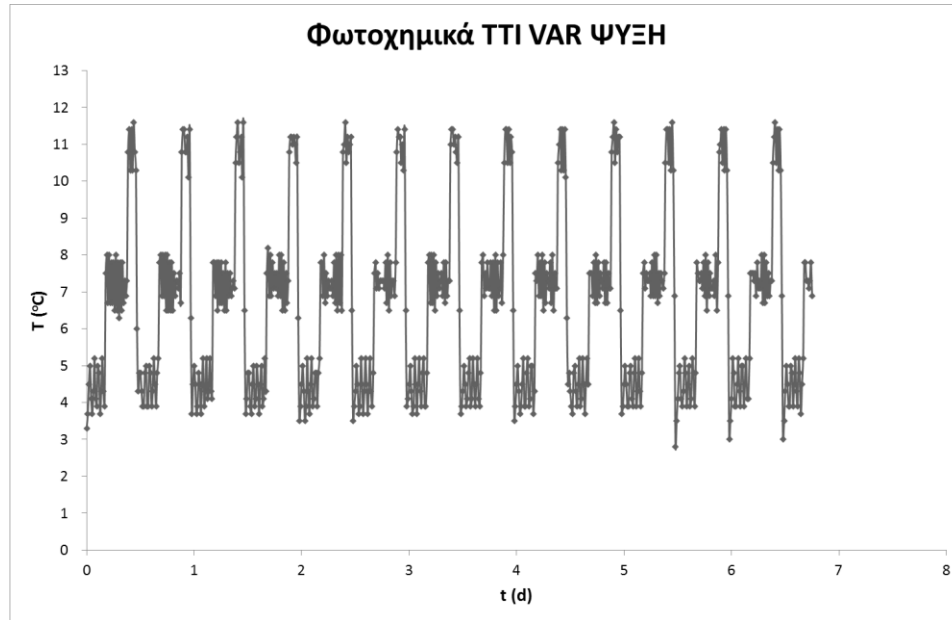
5.3.10 Επεξεργασία μετρήσεων εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τους δείκτες B1_H 1s UV, B1_Snowflake 1s UV και BL 1s UV

Πραγματοποιήθηκε η μελέτη της απόκρισης των φωτοχημικών δεικτών B1_H 1s UV, B1_Snowflake 1s UV και BL 1s σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες ψύξης, έτσι ώστε μέσω της στατιστικής επεξεργασίας των μετρήσεων αυτών να βρεθεί η αξιοπιστία του κινητικού μοντέλου.

Πείραμα εναλλασσόμενου θερμοκρασιακού χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τον φωχημικό δείκτη B1_H 1s UV

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζεται η μέση θερμοκρασιακή κατανομή (VAR) που κατέγραψε το καταγραφικό θερμοκρασίας (data logger) κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ ψύξης για τους φωτοχημικούς δείκτες B1_H 1s UV, B1_Snowflake 1s UV και BL 1s.

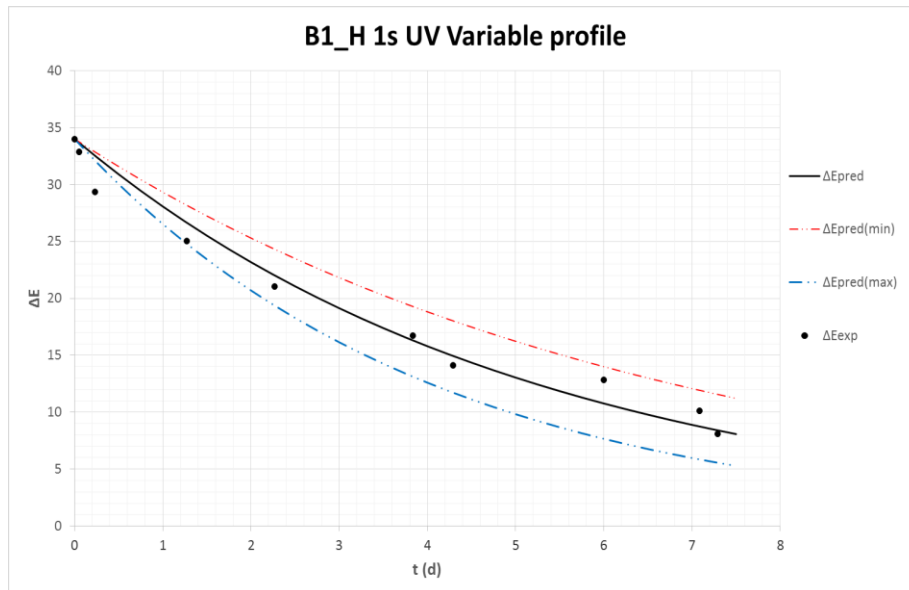


Σχήμα 5.60: Χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ (VAR) για τους δείκτες B1_H 1s UV, B1_Snowflake 1s UV και BL 1s

Η επεξεργασία των μετρήσεων γίνεται ομοίως με εκείνη των ενζυμικών δεικτών όπως αναλυτικά περιγράφηκε στο κεφάλαιο 5.2.10 και τα αποτελέσματα αυτής παρουσιάζονται στον επόμενο Πίνακα και στο Σχήμα 5.61 παρουσιάζεται η απεικόνιση του δείκτη B1_H 1s UV για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR.

Πίνακας 5.49: Προβλεπόμενες και πειραματικές σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη M_7.2U

$T_{\text{eff}} (^{\circ}\text{C})$	$k_{\text{exp}} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}(\text{min})} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}(\text{max})} (\text{d}^{-1})$
7.4	0.183	0.192	0.148	0.248



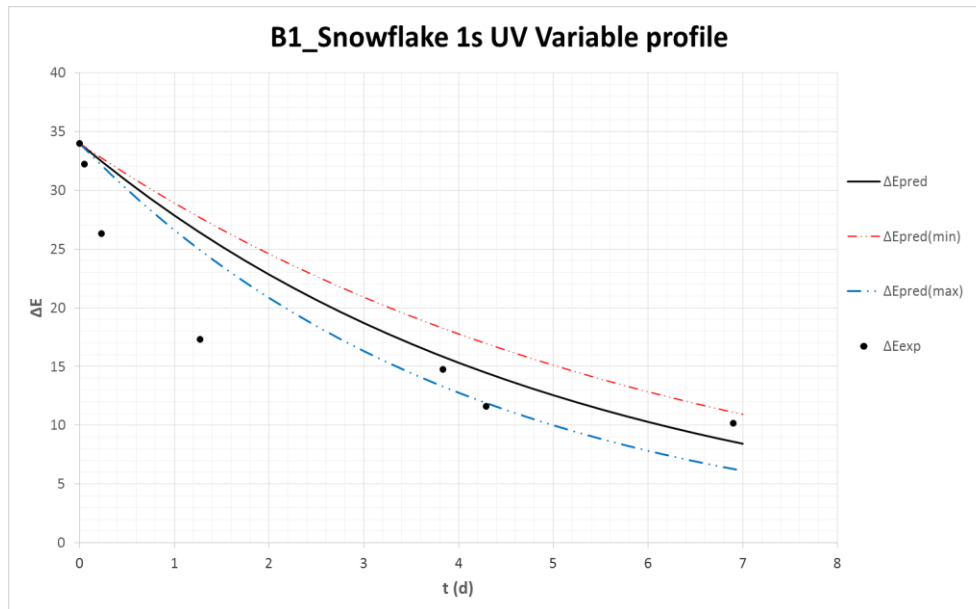
Σχήμα 5.61: Απόκριση του δείκτη B1_H 1s UV για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

Πείραμα εναλλασσόμενου θερμοκρασιακού χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τον φωχημικό δείκτη B1 Snowflake 1s UV

Η επεξεργασία των μετρήσεων γίνεται ομοίως με εκείνη των ενζυμικών δεικτών όπως αναλυτικά περιγράφηκε στο κεφάλαιο 5.2.10 και τα αποτελέσματα αυτής παρουσιάζονται στον επόμενο Πίνακα και στο Σχήμα 5.61 παρουσιάζεται η απεικόνιση του δείκτη B1_H 1s UV για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR.

Πίνακας 5.50: Προβλεπόμενες και πειραματικές σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη M_7.2U

$T_{\text{eff}} (^{\circ}\text{C})$	$k_{\text{exp}} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}(\text{min})} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}(\text{max})} (\text{d}^{-1})$
7.4	0.207	0.199	0.162	0.245



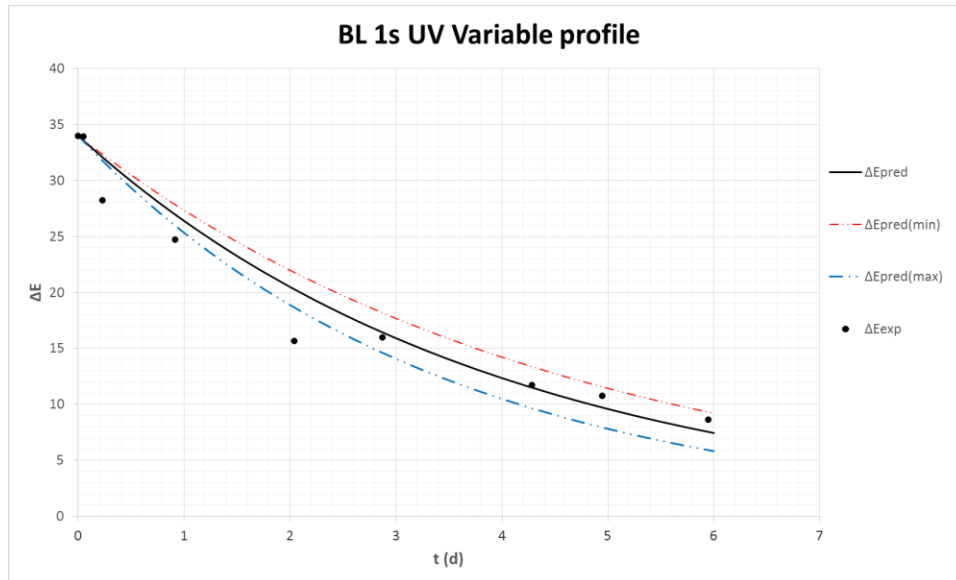
Σχήμα 5.62: Απόκριση του δείκτη B1_Snowflake 1s UV για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

Πείραμα εναλλασσόμενου θερμοκρασιακού χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ για τον φωχημικό δείκτη BL 1s UV

Η επεξεργασία των μετρήσεων γίνεται ομοίως με εκείνη των ενζυμικών δεικτών όπως αναλυτικά περιγράφηκε στο κεφάλαιο 5.2.10 και τα αποτελέσματα αυτής παρουσιάζονται στον επόμενο Πίνακα και στο Σχήμα 5.61 παρουσιάζεται η απεικόνιση του δείκτη B1_H 1s UV για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR.

Πίνακας 5.51: Προβλεπόμενες και πειραματικές σταθερές του ρυθμού για τον ενζυμικό δείκτη M_7.2U

$T_{\text{eff}} (^{\circ}\text{C})$	$k_{\text{exp}} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}(\text{min})} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred}(\text{max})} (\text{d}^{-1})$
7.4	0.246	0.253	0.218	0.294



Σχήμα 5.63: Απόκριση του δείκτη BL 1s UV για το εναλλασσόμενο χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ VAR και για διάστημα εμπιστοσύνης 95%

Όπως παρατηρείται και από τις τιμές των σταθερών αλλά και από τα Σχήματα (5.61-5.63), υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενης και πειραματικής απόκρισης του δείκτη, με μικρό σφάλμα. Η προβλεπόμενη τιμή της σταθεράς είναι ελαφρώς μεγαλύτερη από εκείνη της πειραματικής.

5.4 Διάρκεια ζωής (Response time) των ΤΤΙ

Πέραν των κινητικών χαρακτηριστικών των ΤΤΙ που παρουσιάστηκαν παραπάνω, υπολογίστηκε και η διάρκεια ζωής των μελετημένων ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΤΙ σε όλες τις θερμοκρασίες.

Σημειώνεται ότι το οπτικά παρατηρούμενο τελικό σημείο (όριο λήξης) των ενζυμικών ΤΤΙ αντιστοιχεί στο τέλος της εκθετικής φάσης σε τιμή απόκρισης $X = \text{norm}(a+b) = 0.8$, ενώ το τελικό σημείο των φωτοχημικών ΤΤΙ αντιστοιχεί σε μεταβολή χρώματος $\Delta E = 9$ για τα φωτοχημικά ΤΤΙ B1_C και B1_H, $\Delta E = 11$ για τα φωτοχημικά ΤΤΙ B1_Snowflake και $\Delta E = 10$ για τα φωτοχημικά ΤΤΙ BL. Οι τιμές αυτές υπολογίστηκαν έπειτα από οργανοληπτικό έλεγχο των εκάστοτε δεικτών.

Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται αναλυτικά οι πειραματικοί χρόνοι απόκρισης (διάρκεια ζωής) σε ημέρες όλων των ΤΤΙ στις θερμοκρασίες που διεξήχθησαν τα πειράματα.

Πίνακας 5.52: Πειραματική διάρκεια ζωής των ενζυμικών ΤΤΙ σε όλες τις θερμοκρασίες διεξαγωγής των πειραμάτων

ΕΝΖΥΜΙΚΑ ΤΤΙ τύπου Μ									
Response time (d) (διάρκεια ζωής) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ									
T(°C)	44U	37U	25U	20U	13U	11U	9.6U	7.2U	4.2U
15	0.8	0.9	1.9	2.6	3.6	4.0	5.3	7.6	10.8
10	1.6	1.9	3.1	4.9	5.7	6.7	9.6	12.0	17.8
5	2.8	3.5	4.8	8.5	9.4	12.2	17.6	26.3	31.6
0	5.9	6.8	10.9	17.3	23.3	24.9	36.3	46.0	63.9
-5	12.9	17.4	25.5	35.5	41.6	66.1	82.9	126.4	170.5
-8	28.3	32.6					188.1	248.2	
-9	37.8		60.2	84.0	94.3	147.8			304.0
-10		47.7	73.8	111.3	123.3	193.4	283.3	334.4	395.1
-12	57.9	63.0	116.0	178.1	209.3	268.9	378.1	503.3	583.4
-15	132.4	137.3	214.0	285.7	302.2	554.9	606.7	1083.7	1313.6

Όπως παρατηρείται από τον παραπάνω πίνακα, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ενζύμου στον ενζυμικό δείκτη και όσο αυξάνεται η θερμοκρασία διεξαγωγής του πειράματος, τόσο μειώνεται η διάρκεια ζωής του δείκτη, το οποίο είναι αναμενόμενο γιατί σε υψηλότερες θερμοκρασίες και υψηλότερες συγκεντρώσεις ενζύμου, προχωράει γρηγορότερα η ενζυμική αντίδραση ενζύμου – υποστρώματος.

Πίνακας 5.53: Πειραματική διάρκεια ζωής των φωτοχημικών ΤΤΙ σε όλες τις θερμοκρασίες διεξαγωγής των πειραμάτων

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΑ ΤΤΙ									
Response time (d) (διάρκεια ζωής) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ									
	B1_C			B1_H		B1_Snowflake		BL	
T(°C)	0.6s	1s	2s	1s	2s	1s	2s	1s	2s
15	1.1	1.5	3.1	1.3	3.0	1.2	1.8	1.0	1.2
10	3.4	5.1	10.4	4.6	8.7	2.8	7.4	3.0	7.4
5	8.0	10.8	36.5	9.7	27.7	9.2	20.8	7.4	12.5
0	28.0	42.9	92.4	38.5	81.5	35.3	98.8	26.6	68.0

Όπως παρατηρείται από τον παραπάνω πίνακα, όσο μειώνεται ο χρόνος έκθεσης του φωτοχημικού δείκτη στην υπεριώδη ακτινοβολία και όσο αυξάνεται η θερμοκρασία διεξαγωγής του πειράματος, τόσο μειώνεται η διάρκεια ζωής του δείκτη, το οποίο είναι αναμενόμενο γιατί σε υψηλότερες θερμοκρασίες και σε μικρότερους χρόνους έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία, προχωράει γρηγορότερα η αντίδραση μεταφοράς ριζών που λαμβάνει χώρα.

5.5 Προσδιορισμός συνολικών μαθηματικών μοντέλων της απόκρισης των ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΤΙ

Λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο των αποτελεσμάτων των ενζυμικών και των φωτοχημικών ΤΤΙ προσδιορίστηκε ένα συνολικό μαθηματικό μοντέλο για τα ενζυμικά ΤΤΙ τύπου M, ένα μαθηματικό μοντέλο για τα φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1_C και B1_H, ένα μαθηματικό μοντέλο για τα φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake και ένα μαθηματικό μοντέλο για τα φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου BL.

5.5.1 Προσδιορισμός συνολικού μαθηματικού μοντέλου των ενζυμικών ΤΤΙ τύπου M

Για τα ενζυμικά ΤΤΙ τύπου M το συνολικό μαθηματικό μοντέλο που προσδιορίστηκε περιγράφεται από την εξίσωση 5.6, η οποία προέκυψε έπειτα από αντικατάσταση της σχέσης Arrhenius στη συνάρτηση απόκρισης των ενζυμικών ΤΤΙ.

$$X=F(X_C)=\frac{1}{1+\exp\left[\frac{k_{1\text{ref}(C=1)} \cdot C^{-a} \cdot \exp\left[\frac{E_A}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{\text{ref}}}\right)\right] \cdot t}{k_{2\text{ref}(C=1)} \cdot C^{-b} \cdot \exp\left[\frac{E_A}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{\text{ref}}}\right)\right]}\right]} \quad (5.6)$$

Το συγκεκριμένο μοντέλο περιγράφει την εξάρτηση της απόκρισης των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου Μ από το χρόνο αποθήκευσης t (d), τη θερμοκρασία T (K) και τη συγκέντρωση του ενζύμου C (Units) των ΤΠΙ, $X=\text{norm}(a+b)=f(t, T, C)$.

Χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης SYSTAT 10.2 (Statistics 2002, SPCC Inc., Chicago, Ill, USA) και με τη μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης υπολογίστηκαν οι παράμετροι της εξίσωσης 5.6 και παραθέτονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.54: Εκτίμηση των παραμέτρων του συνολικού μαθηματικού μοντέλου της απόκρισης των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου Μ για $T_{\text{ref}}=0^\circ\text{C}$

ΕΝΖΥΜΙΚΟ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ	
$k_{1\text{ref}(C=1)} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	293.637
a	1.029
$E_A \text{ (kJ/mol)}$	101.99
$k_{2\text{ref}(C=1)} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	125.946
b	1.171
R^2	0.84

Έτσι λοιπόν, η εξίσωση 5.6 γίνεται:

$$X=\frac{1}{1+\exp\left[\frac{293.637 \cdot C^{-1.029} \cdot \exp\left[12267.7 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{273.16}\right)\right] \cdot t}{125.946 \cdot C^{-1.171} \cdot \exp\left[12267.7 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{273.16}\right)\right]}\right]} \quad (5.7)$$

όπου: T : θερμοκρασία που βρίσκεται ο δείκτης (K)

C : συγκέντρωση ενζύμου (Units)

t : χρόνος αποθήκευσης (d)

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΠΙ

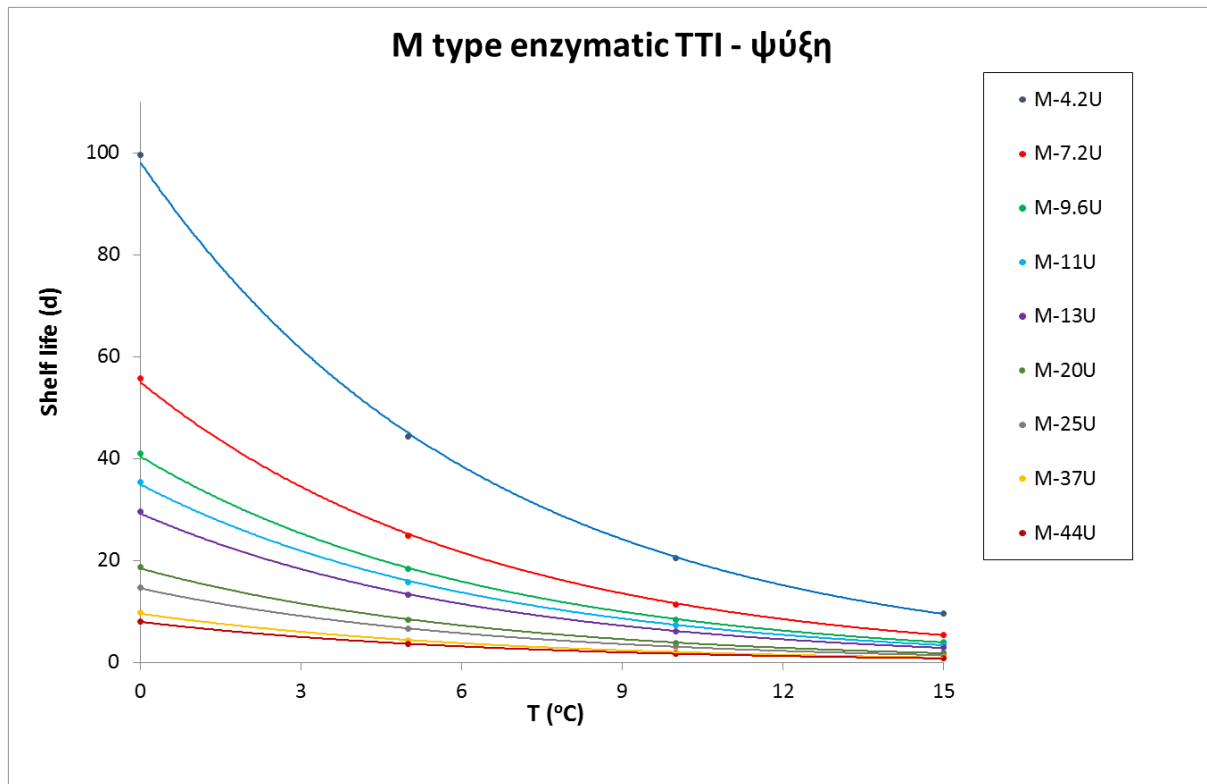
Εφαρμόζοντας την εξίσωση 5.7 για διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης και συγκέντρωσης ενζύμου με τη βοήθεια του προγράμματος Solver στο Excel η θεωρητική διάρκεια ζωής κάθε δείκτη με βάση το μοντέλο που αναπτύχθηκε και παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.55: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των ενζυμικών ΤΠΙ όπως έχουν προκύψει από το μαθηματικό μοντέλο

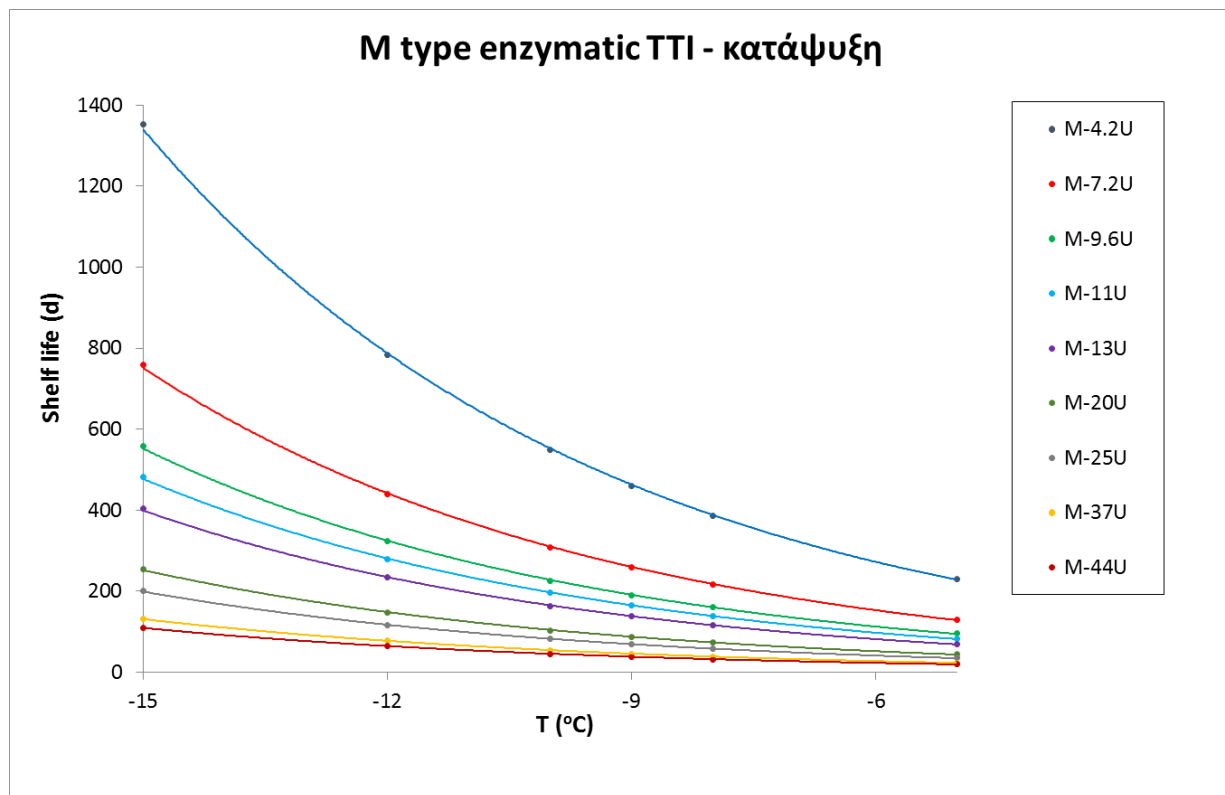
ENZYMΙΚΑ ΤΠΙ τύπου M									
Response time (d) (διάρκεια ζωής) ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ									
T(°C)	44U	37U	25U	20U	13U	11U	9.6U	7.2U	4.2U
15	0.8	0.9	1.4	1.8	2.9	3.4	4.0	5.4	9.6
10	1.6	2.0	3.0	3.8	6.1	7.3	8.4	11.4	20.4
5	3.6	4.3	6.6	8.3	13.2	15.8	18.3	24.9	44.4
0	8.1	9.7	14.7	18.7	29.6	35.4	41.0	55.8	99.6
-5	18.6	22.4	34.0	43.2	68.5	81.9	94.7	129.0	230.1
-8	31.2	37.6	57.1	72.5	114.9	137.4	158.9	216.4	386.1
-9	37.2	44.8	68.0	86.3	136.9	163.7	189.4	257.8	460.0
-10	44.4	53.4	81.1	103.0	163.3	195.2	225.9	307.6	548.7
-12	63.4	76.3	116.0	147.2	233.3	279.0	322.8	439.5	784.2
-15	109.5	131.7	200.2	254.0	402.7	481.6	557.2	758.6	1353.6

Στο επόμενο διάγραμμα παρουσιάζονται συνολικά οι χρόνοι ζωής όλων των μελετώμενων ενζυμικών ΤΠΙ στις μελετώμενες θερμοκρασίες και στα σημεία κάθε δείκτη έχει προσαρμοστεί εκθετική καμπύλη.

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ



Σχήμα 5.64: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των ενζυμικών ΤΤΙ σε θερμοκρασιακό εύρος από 0 έως 15°C



Σχήμα 5.65: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των ενζυμικών ΤΤΙ σε θερμοκρασιακό εύρος από -15°C έως -5°C

5.5.2 Προσδιορισμός συνολικού μαθηματικού μοντέλου των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου OnVu B1 και BL.

Για τα φωτοχημικά ΤΤΙ το μαθηματικό μοντέλο που προσδιορίστηκε περιγράφεται από την ακόλουθη εξίσωση που προκύπτει με αντικατάσταση της σχέσης Arrhenius στη συνάρτηση απόκρισης των φωτοχημικών ΤΤΙ.

$$\Delta E = \Delta E_{(t_c=1s)} \cdot t_c^b \cdot \exp \left(- \left(k_{ref(T_{ref}, t_c=1s)} \cdot t_c^{-a} \cdot \exp \left(- \frac{E_A}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right) \right) \right) \cdot t \quad (5.8)$$

Το συγκεκριμένο μαθηματικό μοντέλο περιγράφει την εξάρτηση του ρυθμού απόκρισης των φωτοχημικών ΤΤΙ από τη θερμοκρασία T (K) και το χρόνο έκθεσης του δείκτη στην υπεριώδη ακτινοβολία t_c (sec).

5.5.2.1 Προσδιορισμός συνολικού μαθηματικού μοντέλου των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1

Για τον προσδιορισμό των παραμέτρων της εξίσωσης 5.8 για τα ΤΤΙ τύπου OnVu B1 έγινε χρήση του συνόλου των αποτελεσμάτων που προέκυψαν έπειτα από έκθεση των δεικτών στην υπεριώδη ακτινοβολία σε χρόνους 0.6s, 1s και 2s και περιλήφθηκαν και τα αποτελέσματα των δεικτών μετά από ενεργοποίηση από το Bizerba Desktop charger (B1_C) αλλά και από το OnVu handcharger (B1_H).

Με τη μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης στο πρόγραμμα SYSTAT 10.2 (Statistics 2002, SPCC Inc., Chicago, III, USA) προσδιορίστηκαν οι παράμετροι της εξίσωσης 5.8 και παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.56: Εκτίμηση των παραμέτρων του συνολικού μαθηματικού μοντέλου της απόκρισης των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1 για $T_{ref}=5^{\circ}C$

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΟ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ	
$\Delta E_{(t_c=1)}$	31.728
b	0.102
$k_{ref} (d^{-1})$	0.096
a	0.935
E_A (kJ/mol)	147.8
R^2	0.901

Έτσι λοιπόν, η εξίσωση 5.8 γίνεται:

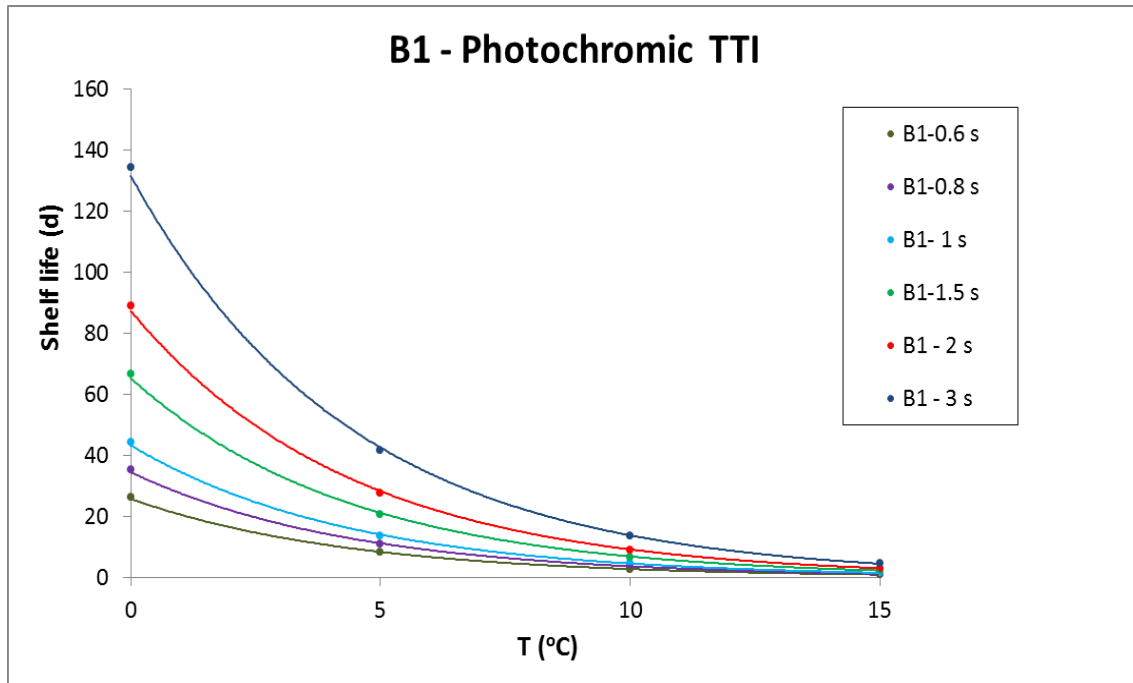
$$\Delta E = 31.728 \cdot t_C^{0.102} \cdot \exp\left(-\left(0.096 \cdot t_C^{-0.935} \cdot \exp\left(-17777.6 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{278.16}\right)\right)\right)\right) \cdot t \quad (5.9)$$

Εναλλάσσοντας λοιπόν, το χρόνο έκθεσης (t_c) του ΤΠΙ στην εξίσωση 5.9 για κάθε θερμοκρασία προέκυψαν με τη βοήθεια του προγράμματος Solver στο Excel η θεωρητική διάρκεια ζωής κάθε δείκτη με βάση το μοντέλο που αναπτύχθηκε και παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.57: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1 όπως έχουν προκύψει από το μαθηματικό μοντέλο

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΑ ΤΠΙ			
Response time (d) (διάρκεια ζωής) ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ			
T(°C)	B1		
	0.6s	1s	2s
15	0.89	1.49	3.02
10	2.64	4.44	8.97
5	8.14	13.70	27.65
0	26.23	44.12	89.09

Στο επόμενο διάγραμμα παρουσιάζονται συνολικά οι χρόνοι ζωής όλων των μελετώμενων φωτοχημικών ΤΠΙ στις μελετώμενες θερμοκρασίες και στα σημεία κάθε δείκτη έχει προσαρμοστεί εκθετική καμπύλη.



Σχήμα 5.66: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1 σε θερμοκρασιακό εύρος από 0°C έως 15°C

5.5.2.2 Προσδιορισμός συνολικού μαθηματικού μοντέλου των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake

Για τον προσδιορισμό των παραμέτρων της εξίσωσης 5.8 για τα ΤΤΙ τύπου OnVu B1_Snowflake έγινε χρήση του συνόλου των αποτελεσμάτων που προέκυψαν έπειτα από έκθεση των δεικτών στην υπεριώδη ακτινοβολία σε χρόνους 1s και 2s.

Με τη μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης στο πρόγραμμα SYSTAT 10.2 (Statistics 2002, SPCC Inc., Chicago, III, USA) προσδιορίστηκαν οι παράμετροι της εξίσωσης 5.8 και παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.58: Εκτίμηση των παραμέτρων του συνολικού μαθηματικού μοντέλου της απόκρισης των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake για $T_{ref}=5^{\circ}C$

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΟ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ	
$\Delta E_{(tc=1)}$	31.479
b	0.034
$k_{ref} (d^{-1})$	0.11
a	0.123
$E_A (kJ/mol)$	158.7
R^2	0.891

Έτσι λοιπόν, η εξίσωση 5.8 γίνεται:

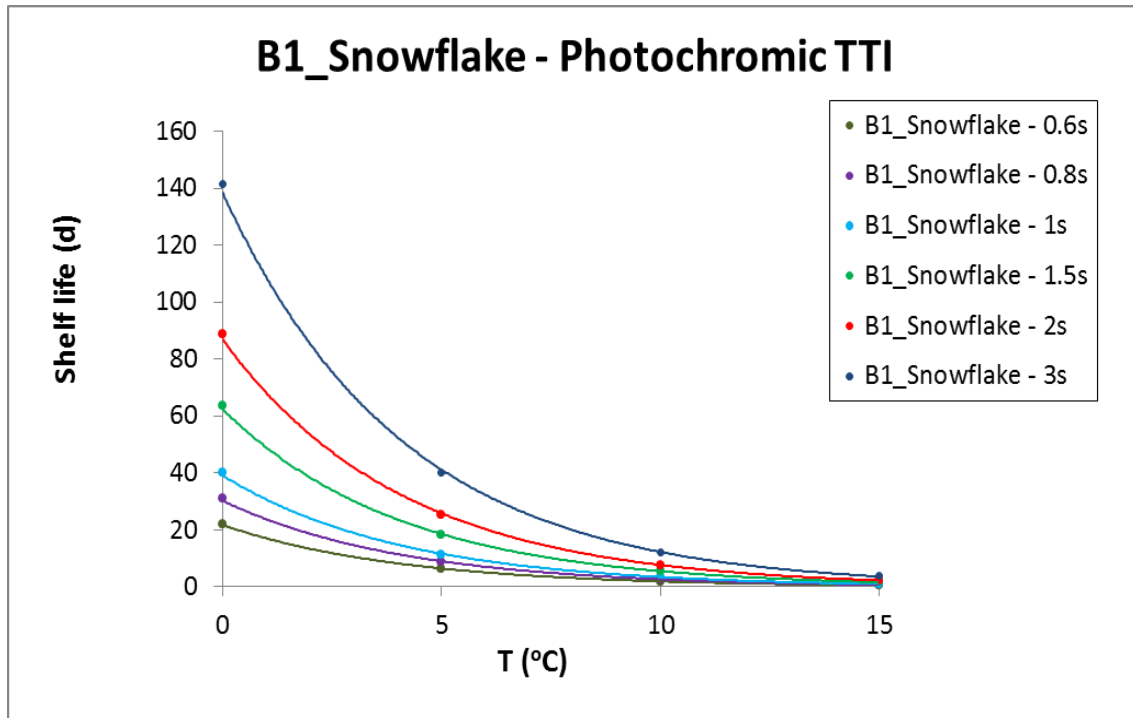
$$\Delta E = 31.479 \cdot t_C^{0.034} \cdot \exp\left(-\left(0.11 \cdot t_C^{-0.123} \cdot \exp\left(-19088.9 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{278.16}\right)\right)\right)\right) \cdot t \quad (5.10)$$

Εναλλάσσοντας λοιπόν, το χρόνο έκθεσης (t_c) του ΤΤΙ στην εξίσωση 5.10 για κάθε θερμοκρασία προέκυψαν με τη βοήθεια του προγράμματος Solver στο Excel η θεωρητική διάρκεια ζωής κάθε δείκτη με βάση το μοντέλο που αναπτύχθηκε και παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.59: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake όπως έχουν προκύψει από το μαθηματικό μοντέλο

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΑ ΤΤΙ		
Response time (d) (διάρκεια ζωής) ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ		
B1_Snowflake		
T(°C)	1s	2s
15	1.05	2.34
10	3.40	7.54
5	11.38	25.26
0	39.97	88.70

Στο επόμενο διάγραμμα παρουσιάζονται συνολικά οι χρόνοι ζωής όλων των μελετώμενων φωτοχημικών ΤΤΙ στις μελετώμενες θερμοκρασίες και στα σημεία κάθε δείκτη έχει προσαρμοστεί εκθετική καμπύλη.



Σχήμα 5.67: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake σε θερμοκρασιακό εύρος από 0°C έως 15°C

5.5.2.3 Προσδιορισμός συνολικού μαθηματικού μοντέλου των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου BL

Για τον προσδιορισμό των παραμέτρων της εξίσωσης 5.8 για τα ΤΤΙ τύπου OnVu BL έγινε χρήση του συνόλου των αποτελεσμάτων που προέκυψαν έπειτα από έκθεση των δεικτών στην υπεριώδη ακτινοβολία σε χρόνους 1s και 2s.

Με τη μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης στο πρόγραμμα SYSTAT 10.2 (Statistics 2002, SPCC Inc., Chicago, III, USA) προσδιορίστηκαν οι παράμετροι της εξίσωσης 5.8 και παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.60: Εκτίμηση των παραμέτρων του συνολικού μαθηματικού μοντέλου της απόκρισης των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου BL για $T_{ref}=5^{\circ}\text{C}$

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΟ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ	
$\Delta E_{(t_c=1)}$	31.834
b	0.026
$k_{ref} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	0.15
a	0.993
$E_A \text{ (kJ/mol)}$	155.6
R^2	0.888

Έτσι λοιπόν, η εξίσωση 5.8 γίνεται:

$$\Delta E = 31.834 \cdot t_C^{0.026} \cdot \exp\left(-\left(0.15 \cdot t_C^{-0.993} \cdot \exp\left(-18715.5 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{278.16}\right)\right)\right) \cdot t\right) \quad (5.11)$$

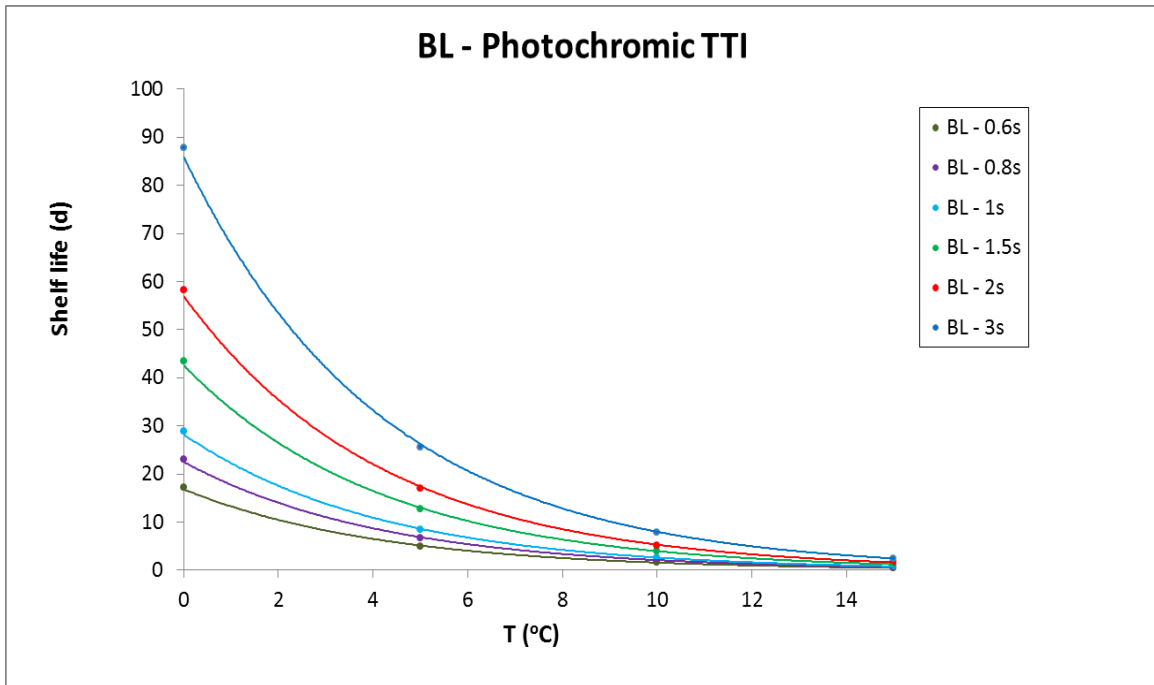
Εναλλάσσοντας λοιπόν, το χρόνο έκθεσης (t_c) του ΤΠΙ στην εξίσωση 5.11 για κάθε θερμοκρασία προέκυψαν με τη βοήθεια του προγράμματος Solver στο Excel η θεωρητική διάρκεια ζωής κάθε δείκτη με βάση το μοντέλο που αναπτύχθηκε και παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 5.61: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου BL όπως έχουν προκύψει από το μαθηματικό μοντέλο

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΑ ΤΠΙ		
Response time (d) (διάρκεια ζωής) ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ		
BL		
T(°C)	1s	2s
15	0.82	1.65
10	2.57	5.19
5	8.42	17.00
0	28.86	58.26

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ

Στο επόμενο διάγραμμα παρουσιάζονται συνολικά οι χρόνοι ζωής όλων των μελετώμενων φωτοχημικών ΤΤΙ στις μελετώμενες θερμοκρασίες και στα σημεία κάθε δείκτη έχει προσαρμοστεί εκθετική καμπύλη.



Σχήμα 5.68: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου BL σε θερμοκρασιακό εύρος από 0°C έως 15°C

5.6 Μελέτη αξιοπιστίας των μαθηματικών μοντέλων - στατιστική επεξεργασία

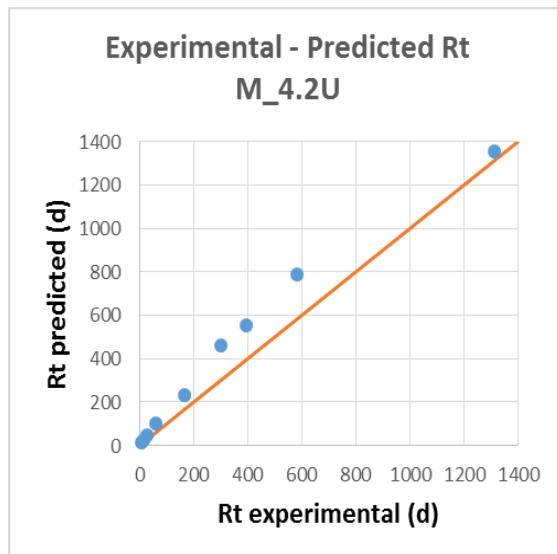
Προκειμένου να γίνει σύγκριση μεταξύ των πειραματικών και των θεωρητικών χρόνων ζωής (Rt) των ΤΠΙ σε κάθε συγκέντρωση κατασκευάζονται τα διαγράμματα σύγκρισής τους. Σημειώνεται ότι όσο περισσότερο τείνουν τα σημεία στην διχοτόμο ευθεία του 1ου και του 3ου τεταρτημορίου του καρτεσιανού επιπέδου $y=x$, τόσο λιγότερο αποκλίνουν οι θεωρητικές από τις πειραματικές τιμές.

Επιπλέον, υπολογίστηκε ο παράγοντας ακρίβειας (accuracy factor), πάνω στον οποίο βασίστηκε η σύγκριση μεταξύ των πειραματικών χρόνων ζωής (πραγματικοί) και των προβλεπόμενων (θεωρητικών, όπως υπολογίστηκαν από το μαθηματικό μοντέλο που αναπτύχθηκε παραπάνω). Όταν ο παράγοντας ακρίβειας (accuracy factor) ισούται με 1, τότε υπάρχει τέλεια συμφωνία μεταξύ των πειραματικών και των θεωρητικών χρόνων ζωής (Ross, 1996).

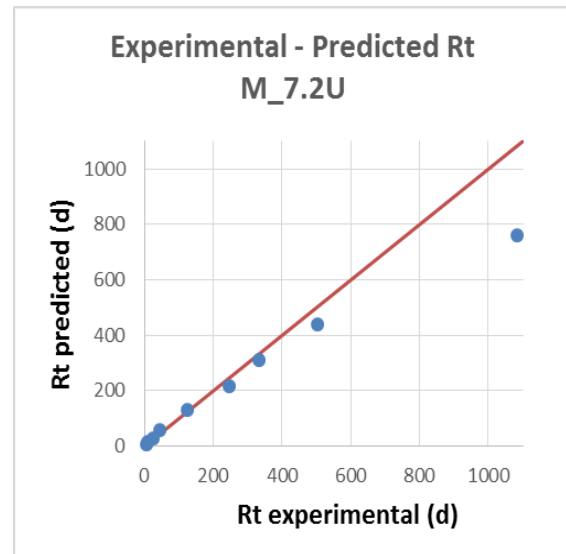
$$\text{accuracy factor} = 10^{\frac{\sum \left| \log \left(\frac{y_{\text{predicted}}}{y_{\text{experimental}}} \right) \right|}{n}} \quad (5.12)$$

όπου: n είναι ο αριθμός των παρατηρήσεων

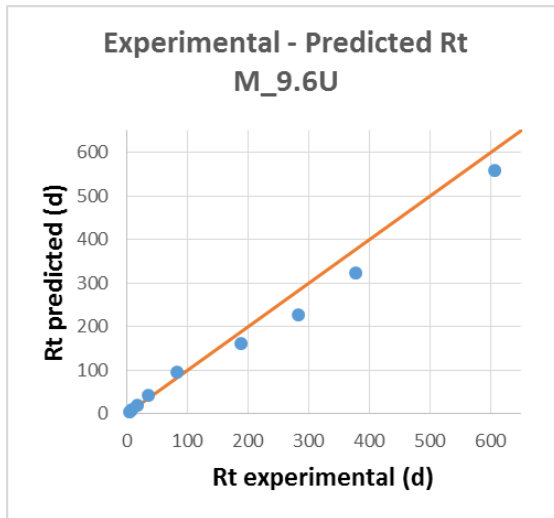
5.6.1 Ενζυμικά ΤΠΙ τύπου M



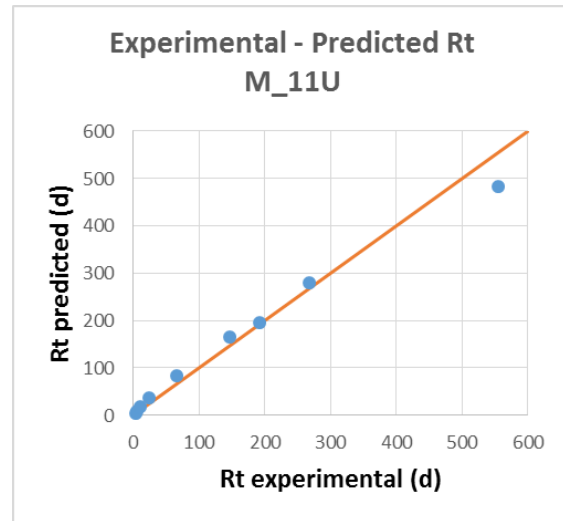
Σχήμα 5.69: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_4.2U (accuracy factor=1.013)



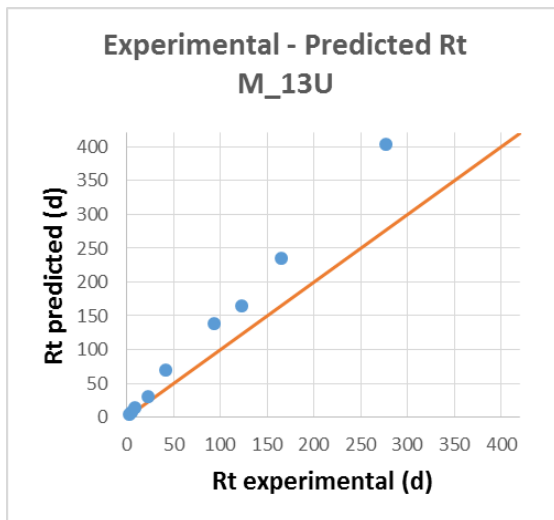
Σχήμα 5.70: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_7.2U (accuracy factor=1.038)



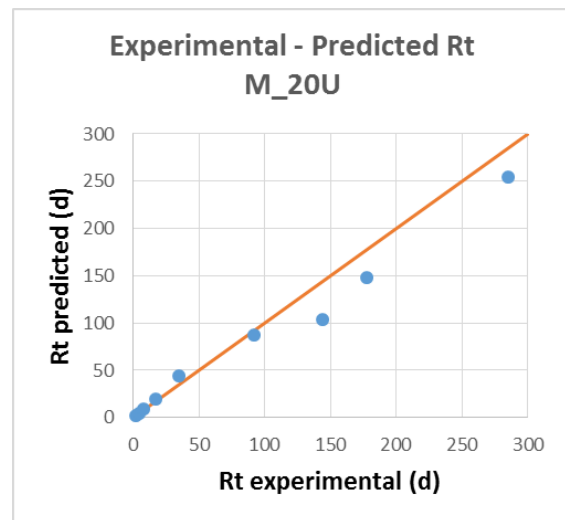
Σχήμα 5.71: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_9.6U (accuracy factor=1.034)



Σχήμα 5.72: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_11U (accuracy factor=1.017)

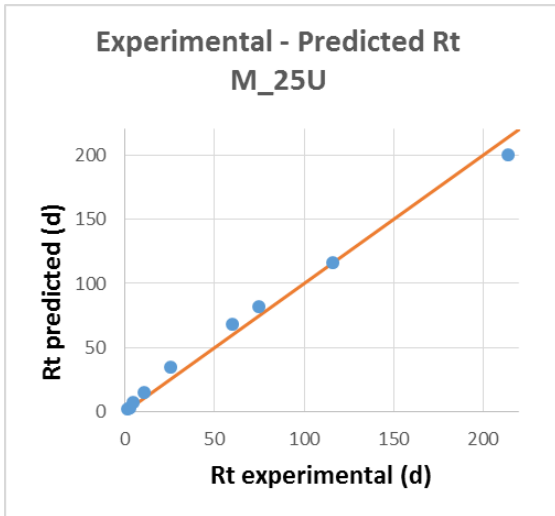


Σχήμα 5.73: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_13U (accuracy factor=1.027)

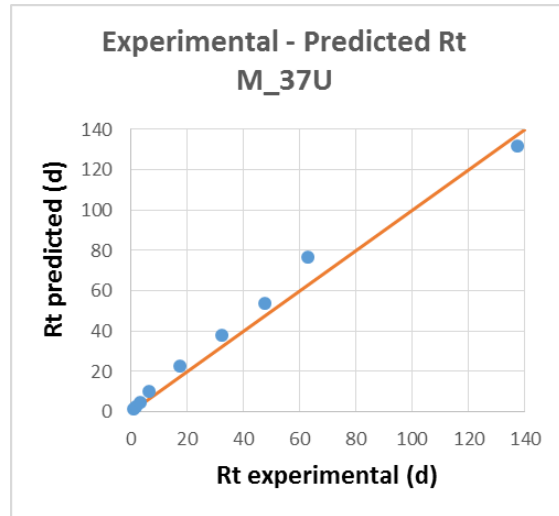


Σχήμα 5.74: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_20U (accuracy factor=1.040)

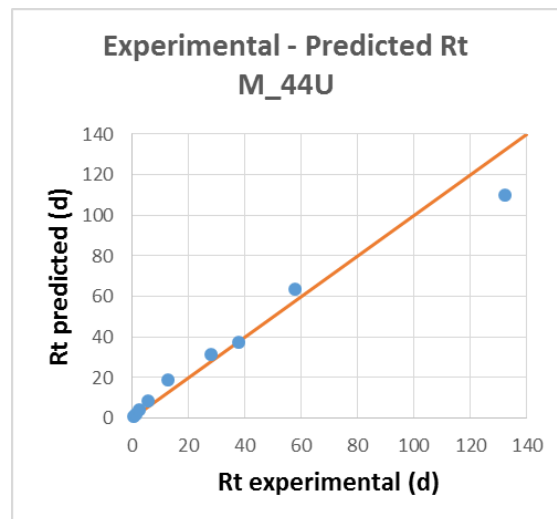
Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ



Σχήμα 5.75: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_25U (accuracy factor=1.031)



Σχήμα 5.76: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_37U (accuracy factor=1.003)



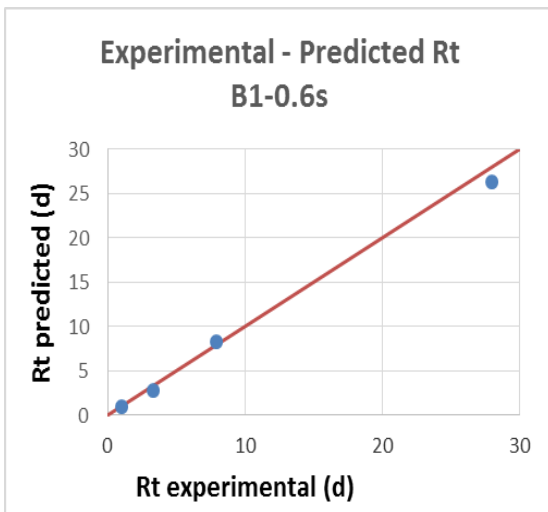
Σχήμα 5.77: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του ενζυμικού δείκτη M_44U (accuracy factor=1.001)

Πίνακας 5.62: Οι παράγοντες ακρίβειας (accuracy factors) που συσχετίζουν τους πειραματικούς με τους θεωρητικού χρόνους ζωής στα ενζυμικά ΤΤΙ.

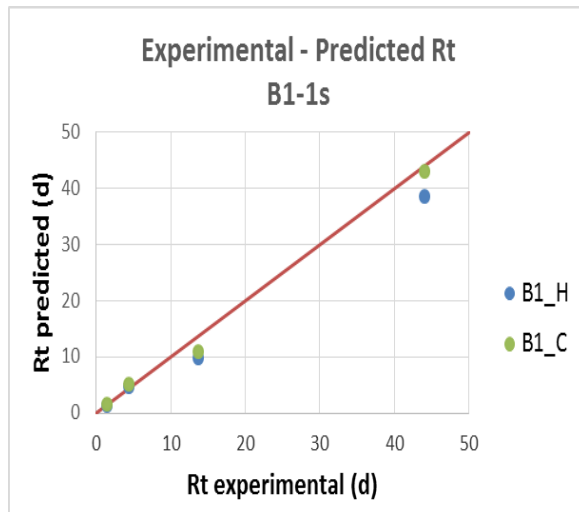
accuracy factor								
M_44U	M_37U	M_25U	M_20U	M_13U	M_11U	M_9.6U	M_7.2U	M_4.2U
1.001	1.003	1.031	1.040	1.027	1.017	1.034	1.038	1.013

5.6.2 Φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1

Για την κατάστρωση του μαθηματικού μοντέλου των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1, χρησιμοποιήθηκαν τα πειραματικά δεδομένα τόσο των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1 που ενεργοποιήθηκαν από το Bizerba Desktop charger (B1_C), όσο και εκείνα που ενεργοποιήθηκαν από το OnVu handcharger (B1_H). Για το λόγο αυτό, γίνεται συσχέτιση μεταξύ των θεωρητικών σημείων τόσο με εκείνα των πειραματικών των φωτοχημικών ΤΤΙ τύπου B1 που ενεργοποιήθηκαν από το Bizerba Desktop charger (B1_C), όσο και εκείνων που ενεργοποιήθηκαν από το OnVu handcharger (B1_H).

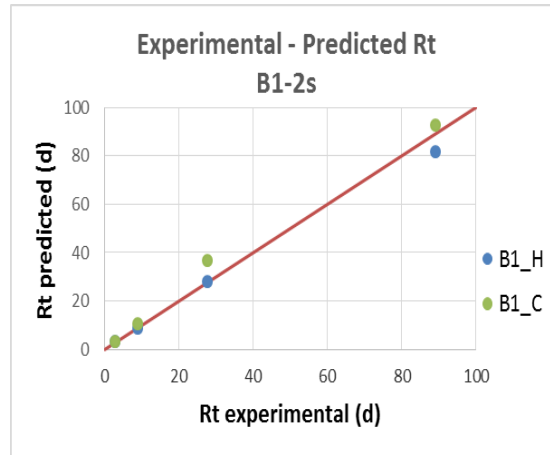


Σχήμα 5.78: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του φωτοχημικού δείκτη B1 – 0.6s (accuracy factor=1.049)



Σχήμα 5.79: Συσχέτιση πειραματικών (B1_C και B1_H) και θεωρητικών χρόνων ζωής του φωτοχημικού δείκτη B1 – 1s (ως προς το B1_C accuracy factor=1.009 και ως προς το B1_C accuracy factor=1.030)

Κεφάλαιο 5: Μελέτη απόκρισης των ΤΤΙ

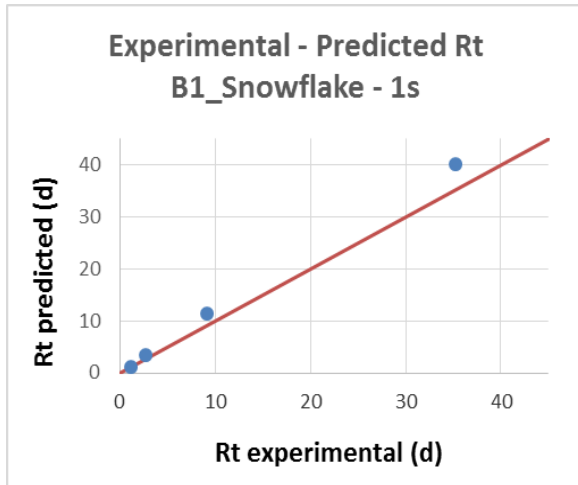


Σχήμα 5.80: Συσχέτιση πειραματικών (B1_C και B1_H) και θεωρητικών χρόνων ζωής του φωτοχημικού δείκτη B1 – 2s (ως προς το B1_C accuracy factor=1.008 και ως προς το B1_C accuracy factor=1.004)

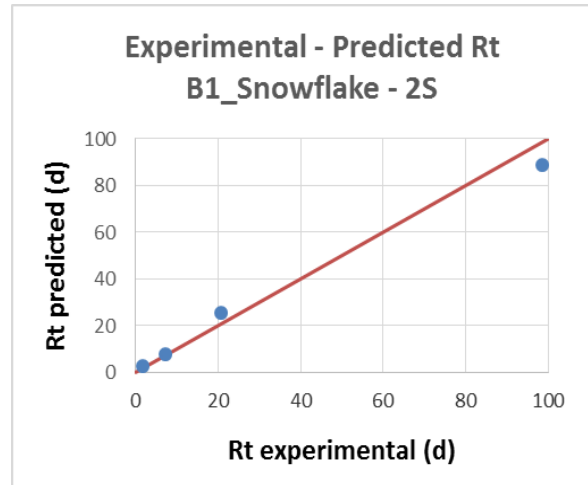
Πίνακας 5.63: Οι παράγοντες ακρίβειας (accuracy factors) που συσχετίζουν τους πειραματικούς με τους θεωρητικού χρόνους ζωής στα φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1

accuracy factor				
B1 – 0.6s	B1_C – 1s	B1_C – 2s	B1_H – 1s	B1_H – 2s
1.049	1.009	1.008	1.030	1.004

5.6.3 Φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake



Σχήμα 5.81: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake – 1s (accuracy factor=1.032)

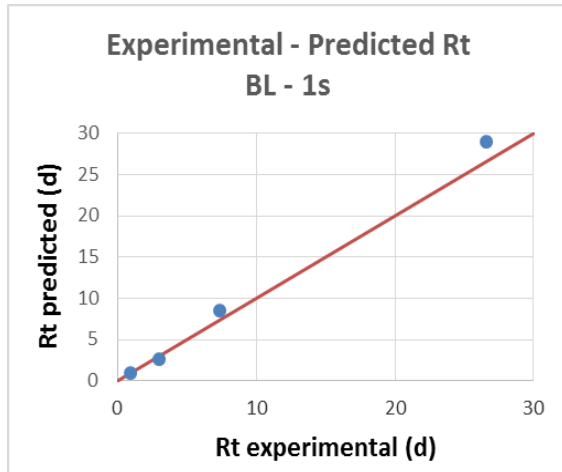


Σχήμα 5.82: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του φωτοχημικού δείκτη B1_Snowflake – 2s (accuracy factor=1.064)

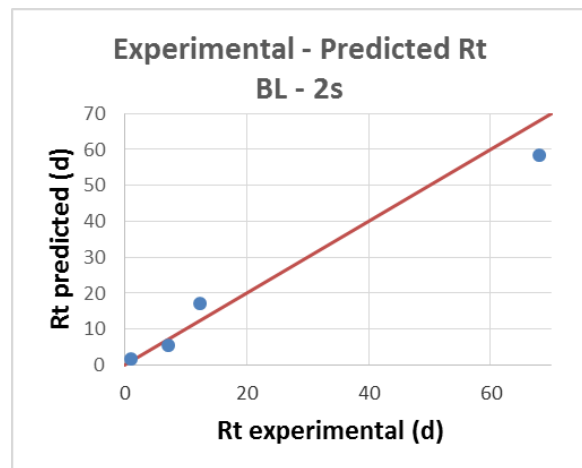
Πίνακας 5.64: Οι παράγοντες ακρίβειας (accuracy factors) που συσχετίζουν τους πειραματικούς με τους θεωρητικούς χρόνους ζωής στα φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου B1_Snowflake

accuracy factor	
B1_Snowflake – 1s	B1_Snowflake – 2s
1.032	1.064

5.6.4 Φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου BL



Σχήμα 5.83: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του φωτοχημικού δείκτη BL- 1s (accuracy factor=1.038)



Σχήμα 5.84: Συσχέτιση πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του φωτοχημικού δείκτη BL- 2s (accuracy factor=1.088)

Πίνακας 5.65: Οι παράγοντες ακρίβειας (accuracy factors) που συσχετίζουν τους πειραματικούς με τους θεωρητικού χρόνου ζωής στα φωτοχημικά ΤΤΙ τύπου BL

accuracy factor	
BL – 1s	BL – 2s
1.038	1.088

Όπως παρατηρείται όλες οι τιμές των παραγόντων ακρίβειας που υπολογίστηκαν παραπάνω, πλησιάζουν πολύ κοντά στο 1 και επομένως, υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των πειραματικών και των θεωρητικών χρόνων ζωής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

6.1 Εισαγωγή

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 4 έγιναν 2 σειρές πειραμάτων.

Στην πρώτη σειρά πειραμάτων, έγινε μελέτη διατηρησιμότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά, δύο διαφορετικών προελεύσεων κρέατος (Γαλλίας και Βελγίου), συσκευασμένου υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας MAP (80% O₂, 12% CO₂, 8% N₂).

Πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε ισοθερμοκρασιακές (2.5, 5, 10°C) και σε μεταβαλλόμενες συνθήκες. Το πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες είχε σαν στόχο την επιβεβαίωση του μοντέλου που προέκυψε από τα ισοθερμοκρασιακά πειράματα.

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες ψύξης επιλέχθηκε το παρακάτω θερμοκρασιακό προφίλ:

- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία 5°C για 5 ώρες.
- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία 8°C για 5 ώρες.
- Διατήρηση των δεικτών σε θερμοκρασία 10°C για 2 ώρες.

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων, πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης της υπερκείμενης αέριας φάσης (head space) της συσκευασίας στη διατηρησιμότητα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν δείγματα των 100g, των 250g και των 500g νωπού βόειου κιμά. Η συσκευασία και στις τρεις περιπτώσεις αυτές ήταν η ίδια και άλλαζε μόνο η υπερκείμενη αέρια φάση, δηλαδή όσο μειωνόταν η ποσότητα του φρέσκου βόειου κιμά, αυξανόταν η υπερκείμενη αέρια φάση. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε για δείγματα που προέρχονταν από 4 διαφορετικούς παραγωγούς Α, Β, Γ και Δ, ενώ όλα είχαν ως χώρα προέλευσης τη Γαλλία. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ισοθερμοκρασιακές συνθήκες.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Για κάθε προγραμματισμένη δειγματοληψία και στις δύο σειρές πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες μετρήσεις:

- Μέτρηση μικροβιακού φορτίου
- Μέτρηση pH
- Μέτρηση αέριας σύστασης συσκευασίας
- Μέτρηση χρώματος των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά
- Οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων

Για την αλλοίωση στον νωπό κιμά, συγκεκριμένα μετρήθηκαν:

- Η ολική μικροβιακή χλωρίδα (TVC)
- Ο πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων (MRS)

6.2 Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στην ποιότητα και τη διάρκεια ζωής βόειου κιμά διαφορετικής προέλευσης (Βελγίου και Γαλλίας) – (Α σειρά πειραμάτων)

6.2.1 Συνθήκες αποθήκευσης

Η παραλαβή των δειγμάτων βόειου κιμά πραγματοποιήθηκε από έναν παραγωγό. Συνολικά παραλείφθηκαν δύο σειρές δειγμάτων, Α και Β. Ως δείγματα Α κωδικοποιήθηκαν τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά Γαλλίας και ως δείγματα Β τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου. Συνολικά παραλήφθηκαν 36 συσκευασίες ανά κατηγορία δείγματος (Α και Β). Η παραλαβή πραγματοποιήθηκε μια ημέρα μετά την ημερομηνία παραγωγής.

Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων υπό ψύξη, αποθηκεύτηκαν σε τρεις σταθερές θερμοκρασίες αποθήκευσης, 2,5, 5 και 10 °C, και σε ένα θάλαμο μεταβαλλόμενης θερμοκρασίας με στόχο την προσομοίωση των θερμοκρασιακών συνθηκών της πραγματικής ψυκτικής αλυσίδα. Σημειώνεται ότι στον θάλαμο αποθήκευσης σταθερής θερμοκρασίας 10°C αποθηκεύτηκαν και μελετήθηκαν προϊόντα βόειου κιμά προέλευσης Βελγίου μόνο.

Πίνακας 6.1: Συνθήκες αποθήκευσης των δειγμάτων που μελετήθηκαν

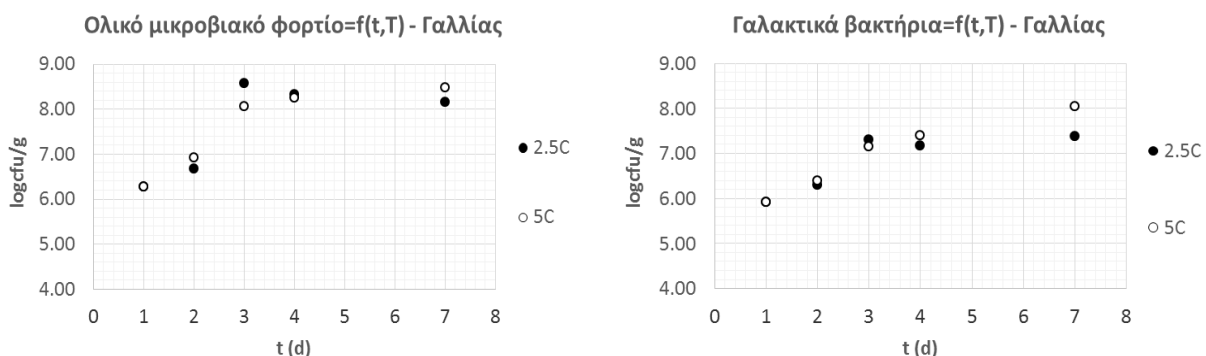
Δείγματα	Θερμοκρασία αποθήκευσης (°C)
Προέλευσης Γαλλίας	2.5, 5, VAR
Προέλευσης Βελγίου	2.5, 5, 10, VAR

6.2.2 Επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης στους επιλεγμένους δείκτες ποιότητας

Μέτρηση μικροβιακού φορτίου

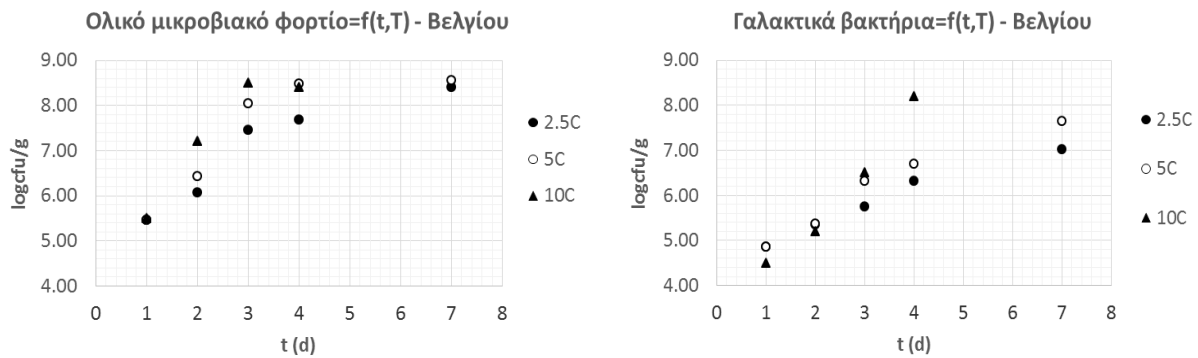
Για την αλλοίωση των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά μελετήθηκαν η ολική μικροβιακή χλωρίδα, τα γαλακτικά βακτήρια, ο πληθυσμός των *Pseudomonas* sp. (CFSC) καθώς και ο πληθυσμός των *Enterobacteriaceae* (VRBD). Εντούτοις, διαπιστώθηκε ότι ο κυρίαρχος αλλοιωγόνος μικροοργανισμός ήταν τα γαλακτικά βακτήρια. Η πλούσια σε CO₂ ατμόσφαιρα, παρεμπόδισε μερικώς την ανάπτυξη των ψευδομονάδων που άγγιξαν χαμηλά επίπεδα πληθυσμών. Γι' αυτό το λόγο, μελετήθηκαν εκτενέστερα η κινητική των γαλακτικών βακτηρίων και των ολικών. Η επικράτηση των γαλακτικών βακτηρίων στο κρέας και τα προϊόντα του στις πλούσιες σε CO₂ ατμόσφαιρες, έχει αναφερθεί επανειλημμένως στη βιβλιογραφία (Borch et al., 1996, Devlieghere et al., 1998b, Devlieghere et al., 2000a, Guerrero και Chabela, 1999, Luño et al., 2000, Nychas και Drosinos, 1999, Nychas et al., 2008, Patsias et al., 2006, Patsias et al., 2008, Samelis et al., 2000, Soldatou et al., 2009, Sørheim et al., 1997, Βαϊκούση, 2009, Γαβριήλ, 2009, Gogou et al., 2006, Καραμπέρη, 2010).

Στα διαγράμματα που ακολουθούν απεικονίζονται οι μετρήσεις των μικροβιολογικών αναλύσεων τόσο της ολικής μικροβιακής χλωρίδας όσο και των γαλακτικών βακτηρίων.



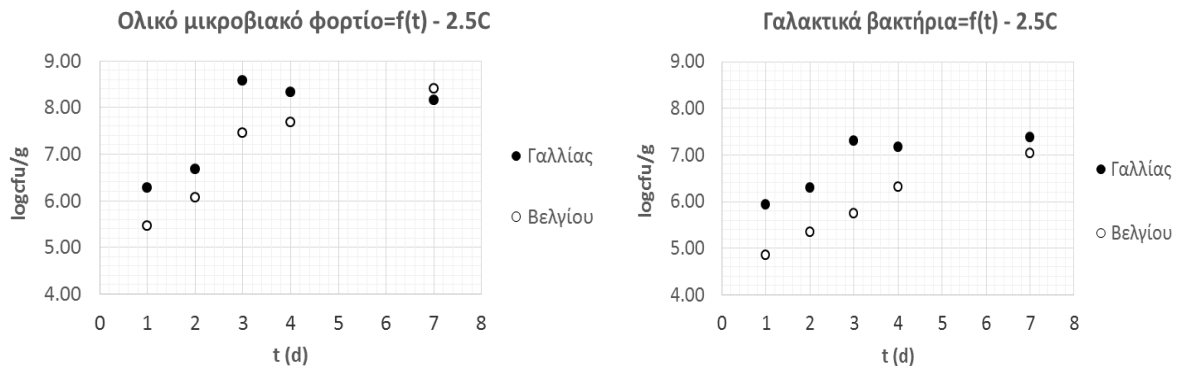
Σχήμα 6.1: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας στις θερμοκρασίες αποθήκευσής τους.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

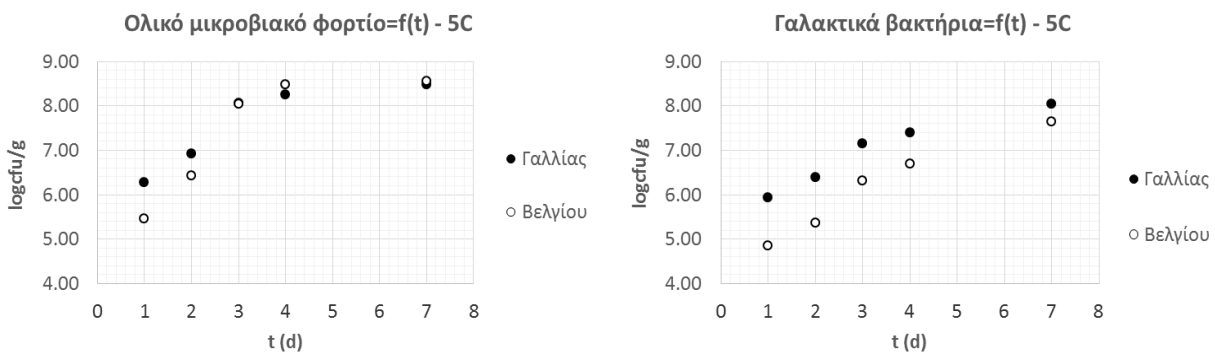


Σχήμα 6.2: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά Βελγίου στις θερμοκρασίες αποθήκευσής τους.

Στις θερμοκρασίες όπου μελετήθηκαν και τα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας αλλά και Βελγίου (2.5 και 5°C), κατασκευάζονται τα διαγράμματα σύγκρισης της μικροβιολογικής χλωρίδας των δύο διαφορετικών αυτών προελεύσεων και παρουσιάζονται παρακάτω.



Σχήμα 6.3: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου στους 2.5°C.



Σχήμα 6.4: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου στους 5°C.

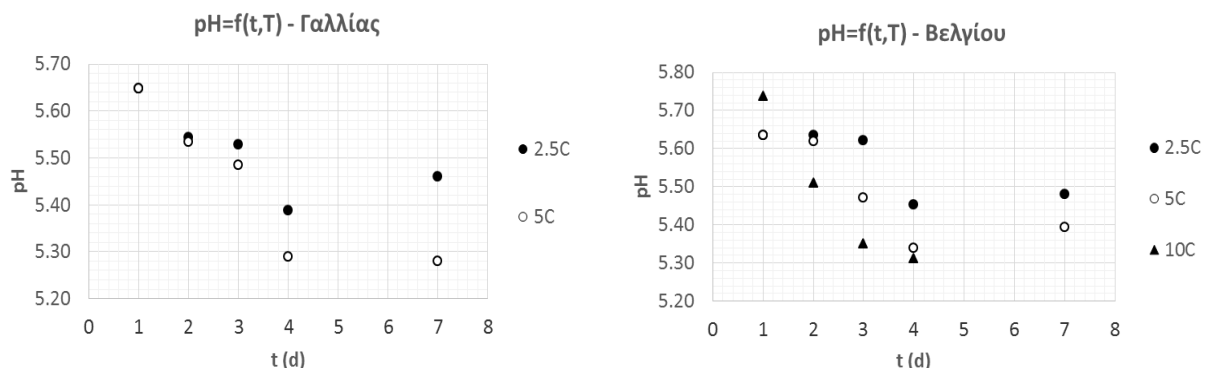
Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρούνται τα εξής:

- Η υψηλότερη θερμοκρασία οδήγησε και σε ταχύτερη ανάπτυξη μικροοργανισμών, όπως ήταν αναμενόμενο.
- Επιβεβαιώνεται η επικράτηση των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα του κρέατος συσκευασμένα υπό MAP.
- Στα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου η ανάπτυξη των μικροοργανισμών ξεκινάει από χαμηλότερο φορτίο και έτσι συνεχίζεται συγκριτικά με εκείνα της Γαλλίας. Εντούτοις, παρατηρείται ότι τόσο τα δείγματα Γαλλικής, όσο και τα δείγματα Βέλγικης εκτροφής έχουν παραπλήσιο τελικό μικροβιακό φορτίο.

Μέτρηση pH

Στο υποκεφάλαιο αυτό δίνεται η μεταβολή του pH με το χρόνο στα μελετώμενα δείγματα. Οι διαφορετικοί ρυθμοί καταβολισμού που λαμβάνουν χώρα (καταβολισμός γλυκόζης, γαλακτικού οξέος και πρωτεϊνών) καταλήγουν στην παραγωγή διαφορετικών μεταβολιτών. Ο καταβολισμός της γλυκόζης και του γαλακτικού οξέος έχουν συνδεθεί με την παραγωγή οργανικών οξέων (όπως είναι το οξικό, το φορμικό και το γλυκονικό), ενώ η πρωτεόλυση οδηγεί στην παραγωγή αμινοξέων, τα οποία στη συνέχεια αποτελούν το υπόστρωμα για την παραγωγή αμμωνίας, βιογενών αμινών και άλλων μεταβολιτών. Τα πρώτα (οργανικά οξέα) αποτελούν ενώσεις, οι οποίες μειώνουν το pH του κρέατος, ενώ από τα προϊόντα της πρωτεόλυσης, κυρίως η αμμωνία, αλλά και το υπόλοιπα προκαλούν την αύξηση του pH. Οι μεταβολές αυτές στις συγκεντρώσεις των μεταβολιτών και των πρόδρομων μορίων τους, αντανακλώνται στο pH, το οποίο μεταβάλλεται ανάλογα (Καραμπέρη, 2010).

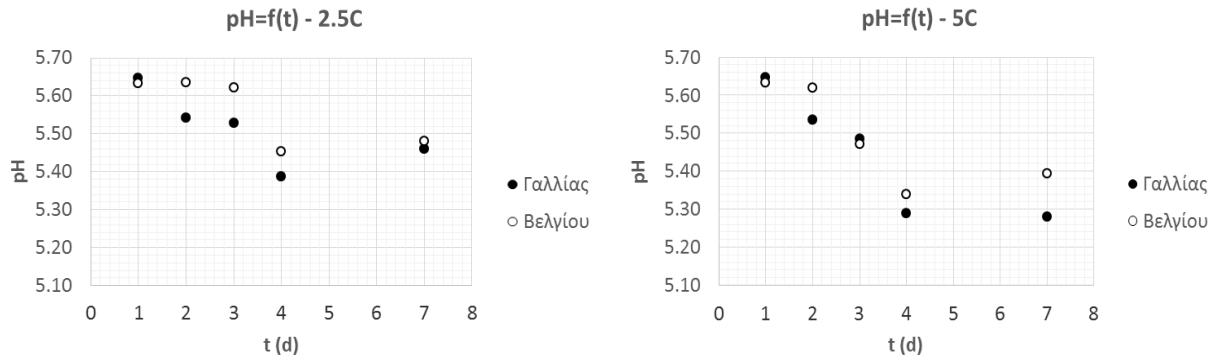
Στα διαγράμματα που ακολουθούν απεικονίζονται οι μετρήσεις του pH στα δείγματα που μελετήθηκαν.



Σχήμα 6.5: Εξέλιξη του pH στα προϊόντα βόειου κιμά (α) Γαλλίας και (β) Βελγίου στις θερμοκρασίες αποθήκευσής τους.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Στις θερμοκρασίες όπου μελετήθηκαν και τα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας αλλά και Βελγίου (2.5 και 5°C), κατασκευάζονται τα διαγράμματα σύγκρισης του pH των δύο διαφορετικών αυτών προελεύσεων και παρουσιάζονται παρακάτω.



Σχήμα 6.6: Εξέλιξη του pH στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου (α) στους 2.5°C και (β) στους 5°C.

Οι διακυμάνσεις στις τιμές του pH οφείλονται στις διαφοροποιήσεις μεταξύ των συσκευασιών που ανοίγονταν κάθε φορά για τη διεξαγωγή των μετρήσεων.

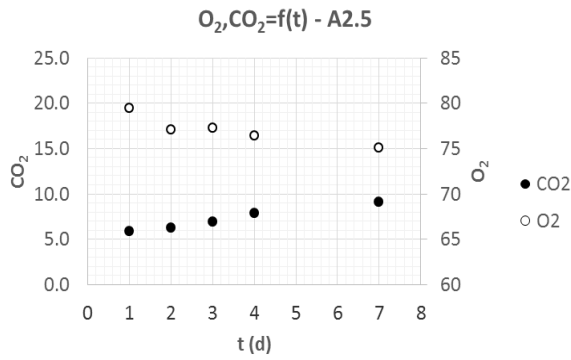
Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρούνται τα εξής:

- Υπάρχει μια τάση μείωσης του pH με το χρόνο συντήρησης που οφείλεται στην παραγωγή γαλακτικού οξέος από τα γαλακτικά βακτήρια, που είναι ο κύριος αλλοιωγόνος μικροοργανισμός. Ακόμη, σε υψηλότερες θερμοκρασίες συντήρησης παρουσιάζεται εντονότερη μείωση του pH.
- Παρατηρείται ότι στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας το pH παίρνει μικρότερες τιμές συγκριτικά με εκείνα του Βελγίου.

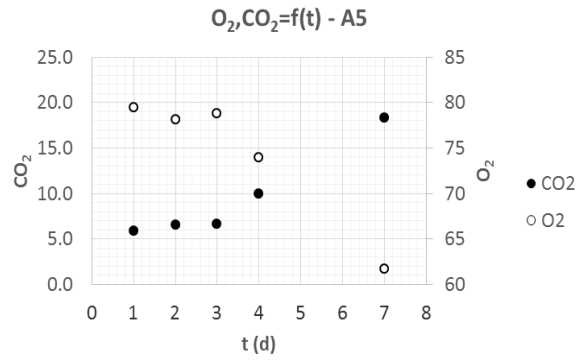
Μέτρηση αέριας σύστασης συσκευασίας

Ο μέσος όρος της αρχικής σύστασης των αερίων των συσκευασιών του κιμά ήταν 80% O₂, 8% CO₂, 12% N₂. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της αέριας σύστασης στα δείγματα που ήταν αποθηκευμένα στους 2.5, 5 και 10°C και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν.

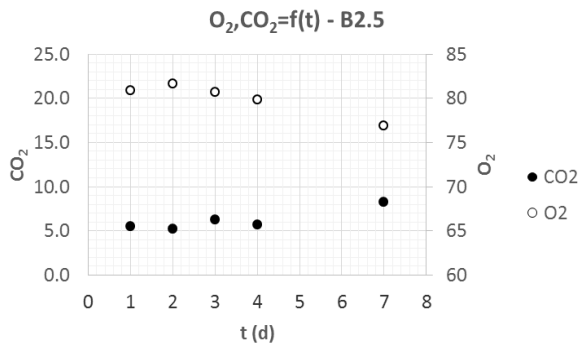
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



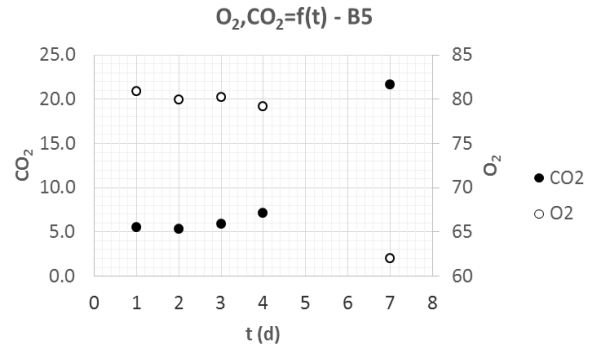
Σχήμα 6.7: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας αποθηκευμένα στους 2.5°C.



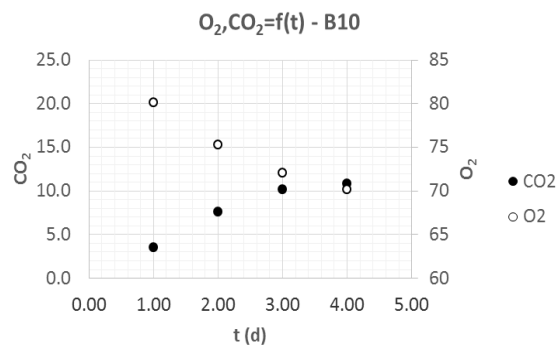
Σχήμα 6.8: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας αποθηκευμένα στους 5°C.



Σχήμα 6.9: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά Βελγίου αποθηκευμένα στους 2.5°C.



Σχήμα 6.10: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά Βελγίου αποθηκευμένα στους 5°C.



Σχήμα 6.11: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά Βελγίου αποθηκευμένα στους 10°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρούνται τα εξής:

- Με την πάροδο του χρόνου, μειώνεται σταδιακά το O_2 με ταυτόχρονη αύξηση του CO_2 . Η σταδιακή μείωση του O_2 με ταυτόχρονη αύξηση του CO_2 αποτελεί ένδειξη της μικροβιακής αλλοίωσης του κιμά λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών (κατανάλωση O_2 και παραγωγή CO_2). Ακόμη, γίνεται αντιληπτό ότι η μεταβολή της σύστασης των αερίων είναι ταχύτερη και εντονότερη στις υψηλότερες θερμοκρασίες.
- Η μείωση του O_2 και η αύξηση του CO_2 στα δείγματα κιμά Βέλγικης προέλευσης είναι λιγότερο έντονη από τα δείγματα Γαλλικής προέλευσης.

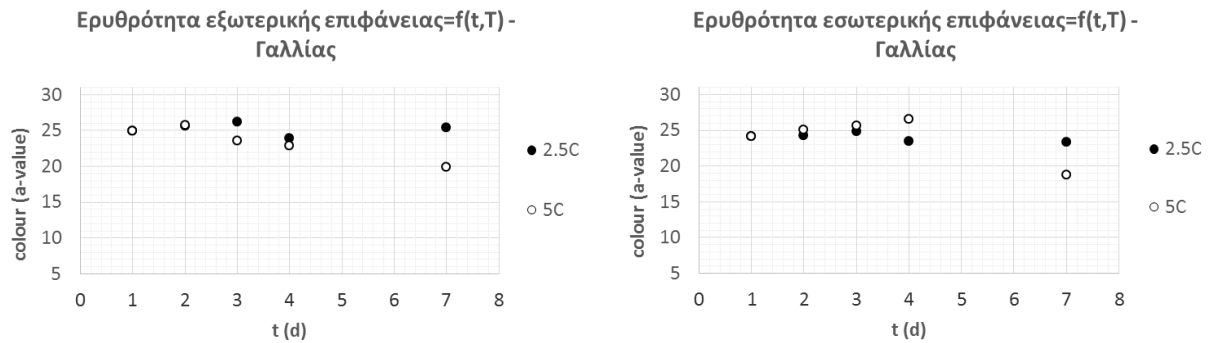
Μέτρηση χρώματος

Η διατήρηση του ελκυστικού προς τους καταναλωτές χρώματος είναι μεγάλης σημασίας, αφού το χρώμα είναι το πρώτο χαρακτηριστικό το οποίο χρησιμοποιείται από τους καταναλωτές προκειμένου να αξιολογήσουν την ποιότητα του κρέατος, επηρεάζοντας την απόφαση αγοράς (Kennedy et al., 1969, Luno et al., 2000, Viana et al., 2005). Σύμφωνα με τους Stringer et al. (1969), Labadie (1999) και Robach and Costilow (1961), υπεύθυνα για τον αποχρωματισμό του κρέατος θεωρούνται τα βακτήρια, τα οποία καταναλώνοντας το οξυγόνο, μειώνουν τη μερική πίεση του αερίου αυτού στην επιφάνεια του κρέατος, με αποτέλεσμα να ευνοείται ο σχηματισμός της μεταμυογλοβίνης και να εμφανίζεται αποχρωματισμός.

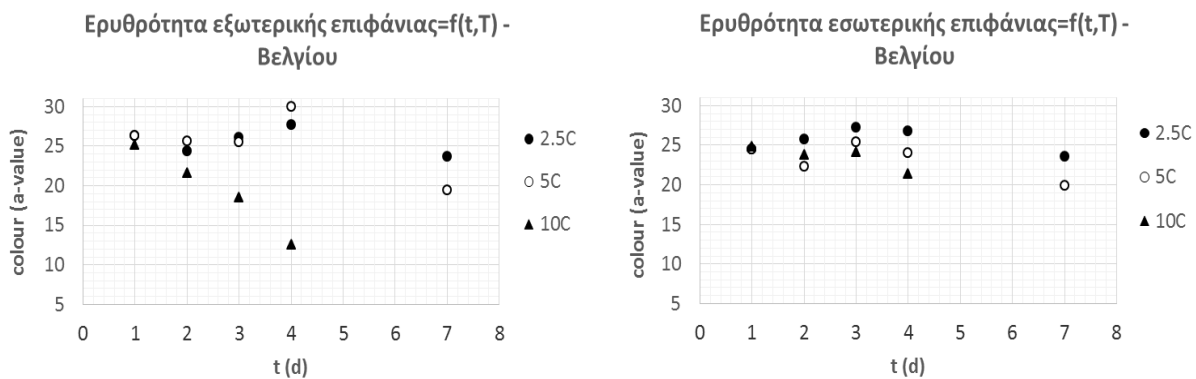
Στα μελετώμενα δείγματα, το χρώμα μετρήθηκε με το χρωματόμετρο CR - 200 της εταιρείας Konica – Minolta. Το συγκεκριμένο χρωματόμετρο αποδίδει τις τιμές των χρωματικών παραμέτρων L, a, b, βάσει του συστήματος CIELAB. Επειδή υπήρξε ενδιαφέρον για το επιθυμητό κόκκινο χρώμα του κιμά, μελετήθηκε εκτενέστερα ο παράγοντας a. Η ενόργανη μέτρηση χρώματος πραγματοποιήθηκε τόσο στην εξωτερική επιφάνεια της κρεατόμαζας όσο και στο εσωτερικό μέρος της κρεατόμαζας.

Στα διαγράμματα που ακολουθούν απεικονίζονται οι μετρήσεις του χρώματος (εξωτερική και εσωτερική επιφάνεια κρεατόμαζας) στα δείγματα που μελετήθηκαν.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

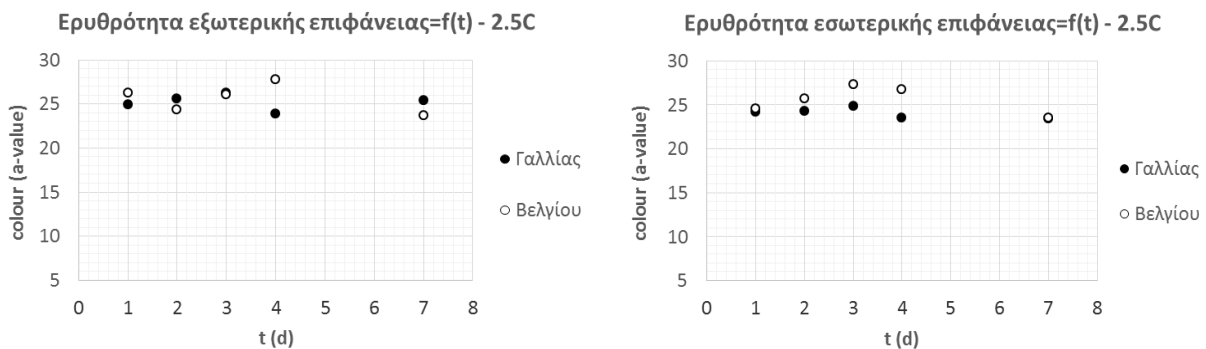


Σχήμα 6.12: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας κατά την αποθήκευσή τους σε διάφορες θερμοκρασίες συντήρησης (α) στο εξωτερικό και (β) στο εσωτερικό της κρεατόμαζας.



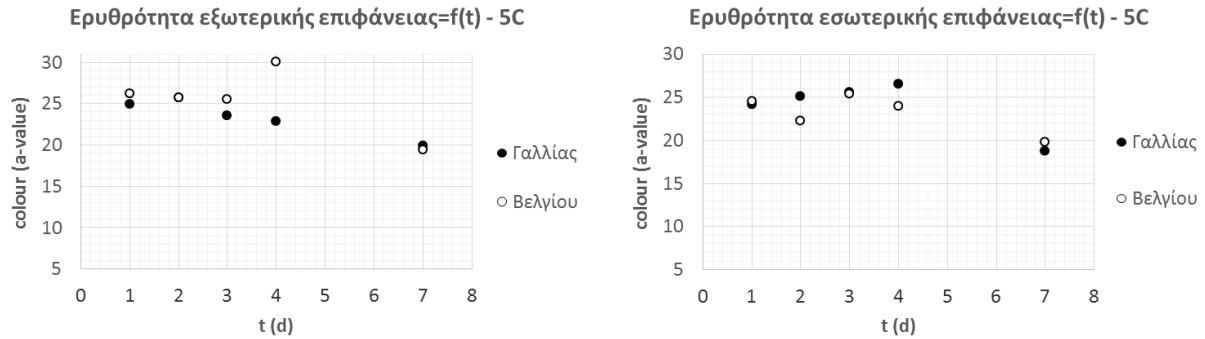
Σχήμα 6.13: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους σε διάφορες θερμοκρασίες συντήρησης (α) στο εξωτερικό και (β) στο εσωτερικό της κρεατόμαζας.

Στις θερμοκρασίες όπου μελετήθηκαν και τα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας αλλά και Βελγίου (2.5 και 5°C), κατασκευάζονται τα διαγράμματα σύγκρισης του χρώματος των δύο διαφορετικών αυτών προελεύσεων και παρουσιάζονται παρακάτω.



Σχήμα 6.14: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους στους 2.5°C (α) στο εξωτερικό και (β) στο εσωτερικό της κρεατόμαζας.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 6.15: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους στους 5°C (α) στο εξωτερικό και (β) στο εσωτερικό της κρεατόμαζας.

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρούνται τα εξής:











- Με την πάροδο του χρόνου, μειώνεται σταδιακά η ερυθρότητα του κρέατος. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω υπεύθυνα για τον αποχρωματισμό του κρέατος θεωρούνται τα βακτήρια, τα οποία καταναλώνοντας το οξυγόνο, μειώνουν τη μερική πίεση του αερίου αυτού στην επιφάνεια του κρέατος, με αποτέλεσμα να ευνοείται ο σχηματισμός της μεταμυογλοβίνης και να εμφανίζεται αποχρωματισμός.
- Ακόμη, παρατηρείται ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας συντήρησης, η υποβάθμιση του χρώματος γίνεται πιο έντονη.
- Διαπιστώθηκε ότι η ερυθρότητα στο εξωτερικό και το εσωτερικό της κρεατόμαζας διέφεραν, σε κάποιες περιπτώσεις σημαντικά. Συγκεκριμένα, ο αποχρωματισμός της κρεατόμαζας είναι συγκριτικά πιο έντονος στο εξωτερικό της, ενώ, όσο πιο υψηλή είναι η θερμοκρασία συντήρησης, τόσο πιο έντονη είναι η διαφορά ερυθρότητας μεταξύ εξωτερικής και εσωτερικής επιφάνειας.
- Τέλος, γίνεται αντιληπτό πως η ερυθρότητα στα προϊόντα βόειου κρέατος Βελγίου είναι σε γενικές γραμμές μεγαλύτερη, δηλαδή η κρεατόμαζα έχει πιο έντονο κόκκινο χρώμα, συγκριτικά με των προϊόντων βόειου κρέατος Γαλλίας.

Το φαινόμενο υποβάθμισης του χρώματος απεικονίζεται στις φωτογραφίες που ακολουθούν.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

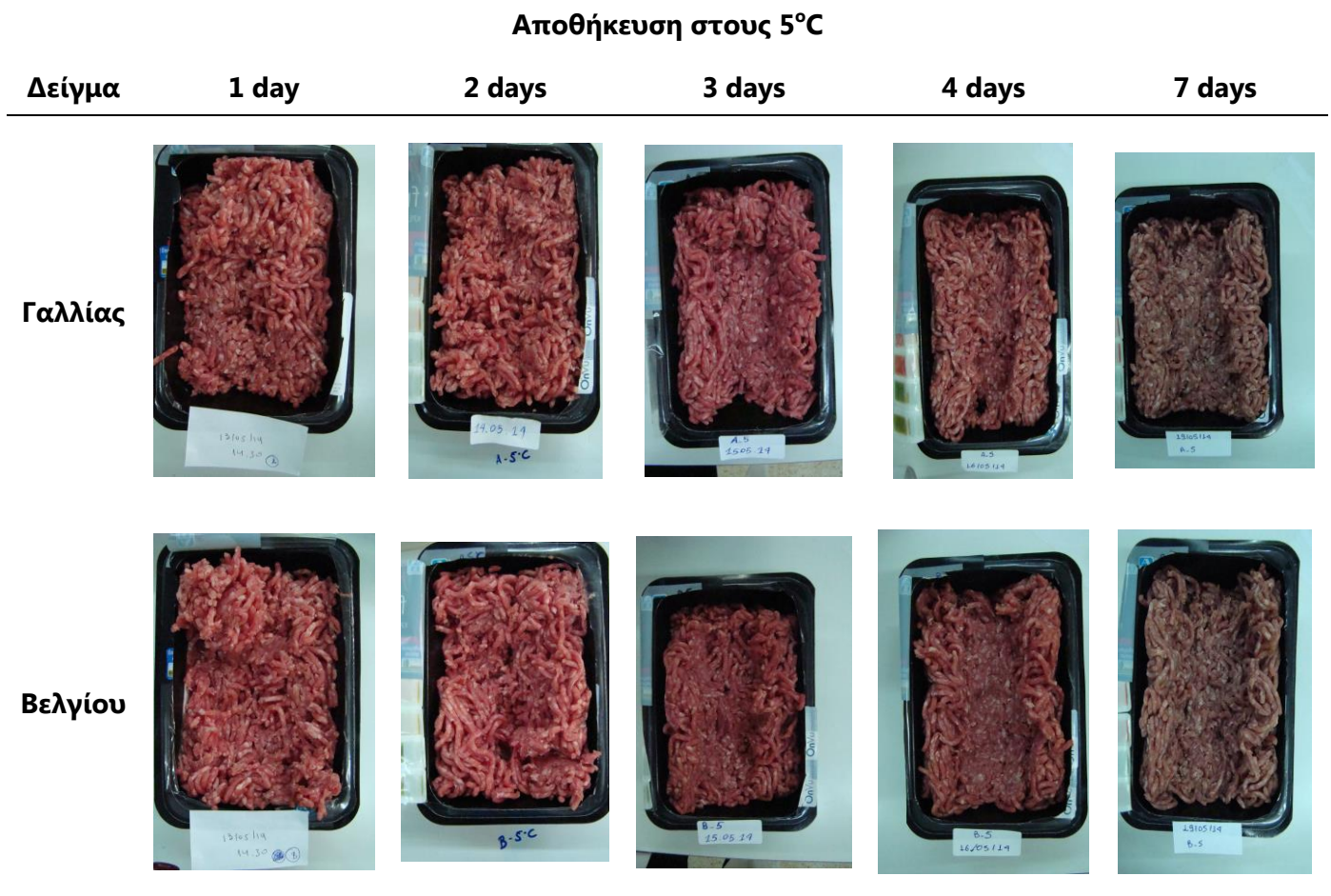
Εικόνα 6.1: Δείγματα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους στους 2.5°C

Δείγματα αποθηκευμένα στους 2.5°C

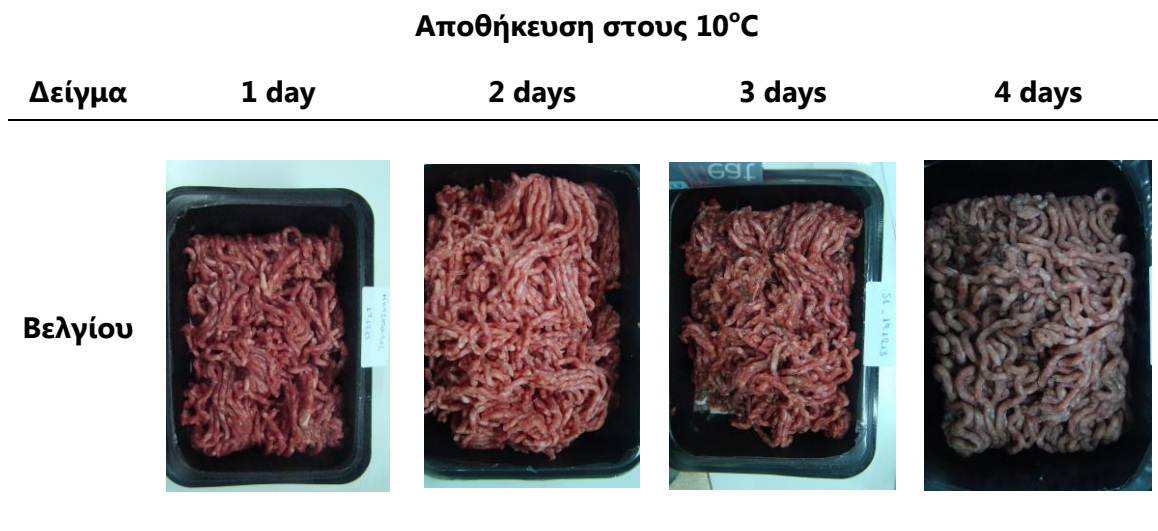
Δείγμα	1 day	2 days	3 days	4 days	7 days
Γαλλίας					
Βελγίου					

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Εικόνα 6.2: Δείγματα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους στους 5°C



Εικόνα 6.3: Δείγματα βόειου κιμά Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους στους 10°C



Οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων

Όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 4, πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος με βάση την αρέσκεια κατά τον οποίο μια μικρή ομάδα εκπαιδευμένων δοκιμαστών εξέτασε και βαθμολόγησε τα δείγματα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά ως προς διάφορα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Για τη βαθμολόγηση χρησιμοποιήθηκε κλίμακα από το 1 έως το 9, όπου 9:φρέσκο και 1:εμφανείς αλλοιώσεις, και ορίστηκε ως όριο αποδοχής ο βαθμός 5.

Χαρακτηριστική για το μη αποδεκτό προϊόν ήταν η όξινη ή υπόξινη γεύση και δριμεία οσμή, ενώ επίσης σε μερικές περιπτώσεις αναφέρθηκε η ανίχνευση οσμής και γεύσης τυριού, προς το τέλος της διάρκειας συντήρησης.

Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε επιλεγμένες θερμοκρασίες και δειγματοληψίες για να επαληθευτεί το όριο απόρριψης των προϊόντων βόειου κρέατος. Βρέθηκε λοιπόν, πως το όριο απόρριψης για τα γαλακτικά βακτήρια (LAB) είναι οι 7 λογάριθμοι ($\log_{cfu/g}=7$) και για το ολικό μικροβιακό φορτίο (TVC) οι 8 λογάριθμοι ($\log_{cfu/g}=8$).

Παρόμοια επίπεδα πληθυσμών στο τέλος της διάρκειας ζωής έχουν καταγραφεί και για άλλα προϊόντα κρέατος συσκευασμένα υπό κενό ή τροποποιημένες ατμόσφαιρες, που αλλοιώνονται από τα γαλακτικά βακτήρια (Borch et al., 1996, Devlieghere et al., 1998b, Devlieghere et al., 2000a, Fernández-López et al., 2008, Korkeala et al., 1987, Koutsoumanis et al., 2005, Mataragas et al., 2006, Nychas et al., 2008, Samelis et al., 2000, Βαϊκούση 2009, Γαβριήλ, 2009, Gogou et al., 2006, Καραμπέρη, 2010).

6.3 Επίδραση της αναλογίας μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) στην εμπορική διάρκεια ζωής του προϊόντος

6.3.1 Συνθήκες αποθήκευσης

Στόχος της συγκεκριμένης σειράς πειραμάτων ήταν να μελετηθεί εάν και πόσο επιδρά η αναλογία μάζας κρέατος προς τον όγκο τροποποιημένης ατμόσφαιρας στην ποιότητα και εμπορική διάρκεια ζωής προϊόντων βόειου κιμά. Για αυτό το λόγο ζητήθηκε από 4 προμηθευτές (Α, Β, Γ και Δ) ενός καταστήματος σουπερμάρκετ να παρασκευάσουν προϊόντα βόειου κιμά και να συσκευαστούν σε ίδιο μέγεθος συσκευασίας για 3 διαφορετικές μάζες προϊόντος. Ως δείγματα Α κωδικοποιήθηκαν τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά παραγωγού Α, ως δείγματα Β τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά παραγωγού Β, ως δείγματα Γ τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά παραγωγού Γ και ως δείγματα Δ τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά παραγωγού Δ.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Κάθε παραγωγός συσκευάσε σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα 3 ομάδες δειγμάτων, η 1^η περιείχε 500 g, η 2^η 250 g και η 3^η 100 g βόειου κιμά. Η εμπορικά διαθέσιμη συσκευασία είναι αυτή των 500 g.

Τα δείγματα των παραγωγών Α, Γ και Δ αποθηκεύθηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας 2°C και τα δείγματα του παραγωγού Β αποθηκεύθηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας 5°C.

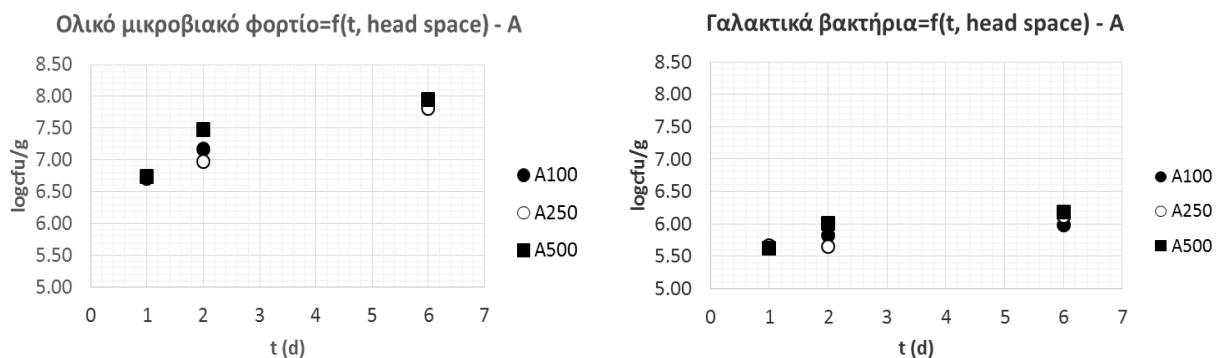
Πίνακας 6.2: Συνθήκες αποθήκευσης των δειγμάτων που μελετήθηκαν

Δείγματα	Θερμοκρασία αποθήκευσης (°C)
Παραγωγός Α (100,250,500 g)	2
Παραγωγός Β (100,250,500 g)	5
Παραγωγός Γ (100,250,500 g)	2
Παραγωγός Δ (100,250,500 g)	2

6.3.2 Επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης στους επιλεγμένους δείκτες ποιότητας

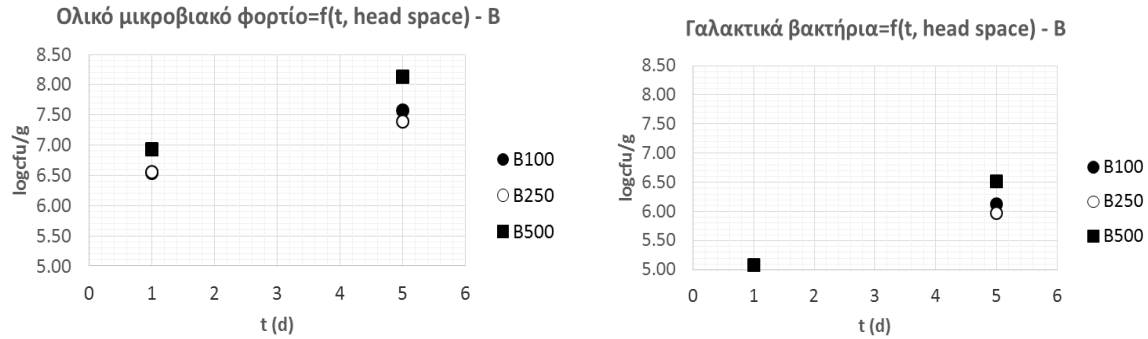
Μέτρηση μικροβιακού φορτίου

Στα διαγράμματα που ακολουθούν απεικονίζονται οι μετρήσεις των μικροβιολογικών αναλύσεων τόσο της ολικής μικροβιακής χλωρίδας όσο και των γαλακτικών βακτηρίων. Σημειώνεται ότι σε μερικά σημεία δεν ήταν δυνατή η μέτρηση των μικροοργανισμών λόγω επιμολύνσεων των τρυβλίων, οπότε παρουσιάζονται παρακάτω μόνο τα σημεία στα οποία ήταν δυνατή η μέτρηση μικροοργανισμών.

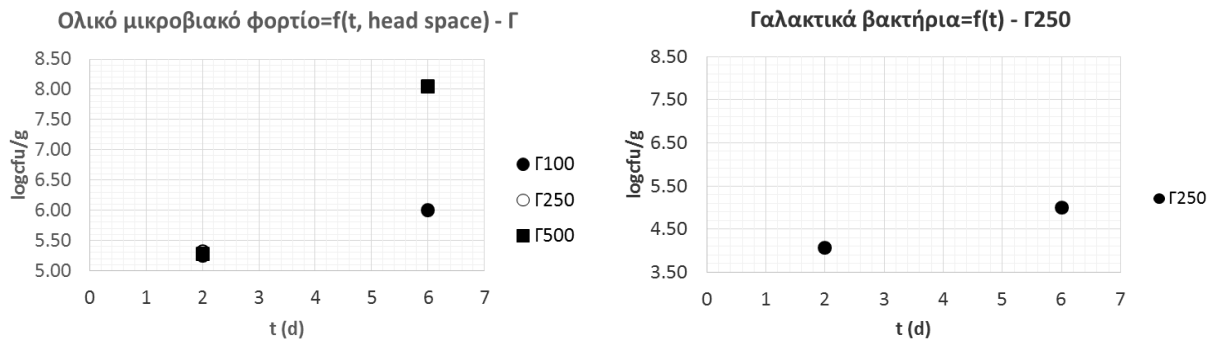


Σχήμα 6.16: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Α και με ποσότητα κρεατόμαζας ίση με 100, 250 και 500g ($T_{\text{αποθ.}}=2^{\circ}\text{C}$).

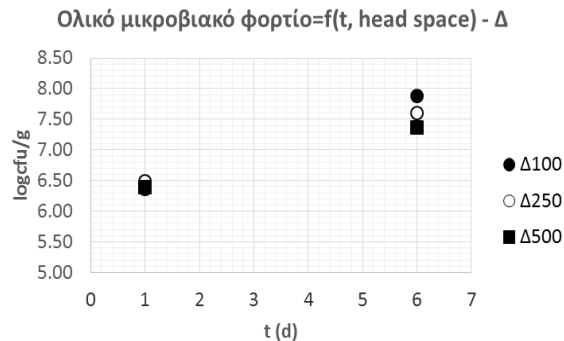
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 6.17: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Β και με ποσότητα κρεατόμαζας ίση με 100, 250 και 500g ($T_{\text{αποθ.}}=5^{\circ}\text{C}$).



Σχήμα 6.18: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Γ και με ποσότητα κρεατόμαζας ίση με 100, 250 και 500g ($T_{\text{αποθ.}}=2^{\circ}\text{C}$).



Σχήμα 6.19: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Δ και με ποσότητα κρεατόμαζας ίση με 100, 250 και 500g ($T_{\text{αποθ.}}=2^{\circ}\text{C}$).

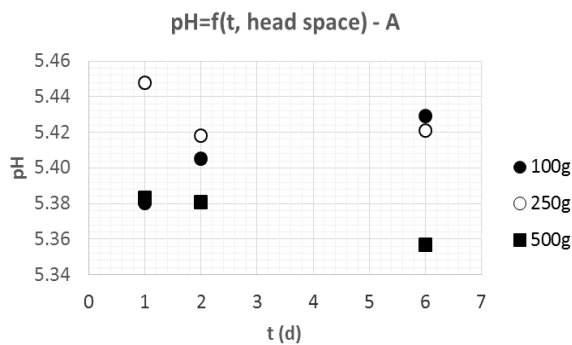
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) δεν επιδρά σημαντικά στην μικροβιολογική αλλοίωση του τροφίμου. Συγκεκριμένα, φάνηκε ότι εφόσον εξασφαλιστεί μια τροποποιημένη ατμόσφαιρα MAP που είναι ικανή να εξασφαλίσει την απαιτούμενη διάρκεια ζωής του συγκεκριμένου προϊόντος, οι μεταβολές της υπερκείμενης αέριας φάσης δεν επιφέρουν σημαντικές διαφορές στην μικροβιολογική αλλοίωση του τροφίμου.

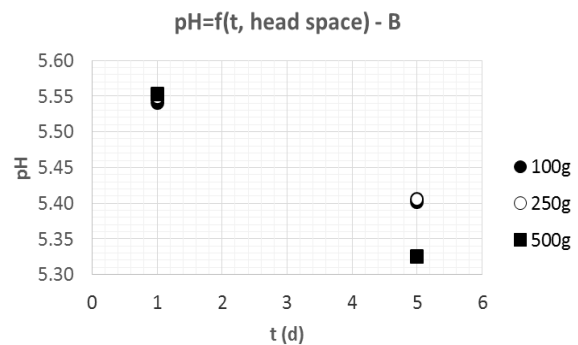
Παρατηρήθηκε εντούτοις μια πολύ μικρή τάση μείωσης της μικροβιολογικής αλλοίωσης του προϊόντος με αύξηση της υπερκείμενης αέριας φάσης σε κάποια δείγματα. Αυτή όμως η τάση είναι πολύ μικρή, μη επαναλαμβανόμενη.

Μέτρηση pH

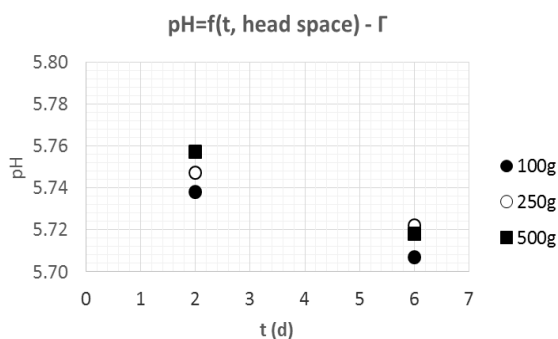
Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζεται η εξέλιξη του pH στα μελετώμενα προϊόντα βόειου κιμά.



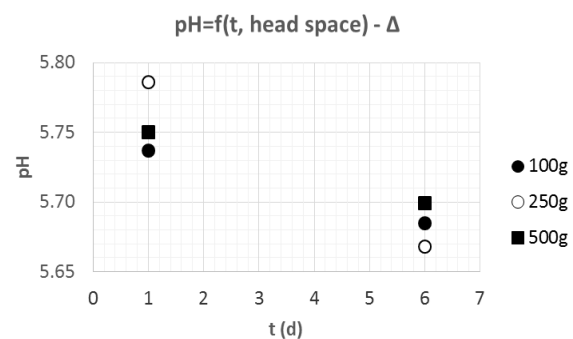
Σχήμα 6.20: Εξέλιξη του pH στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού A και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g.



Σχήμα 6.21: Εξέλιξη του pH στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού B και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g.



Σχήμα 6.22: Εξέλιξη του pH στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Γ και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g.



Σχήμα 6.23: Εξέλιξη του pH στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Δ και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g.

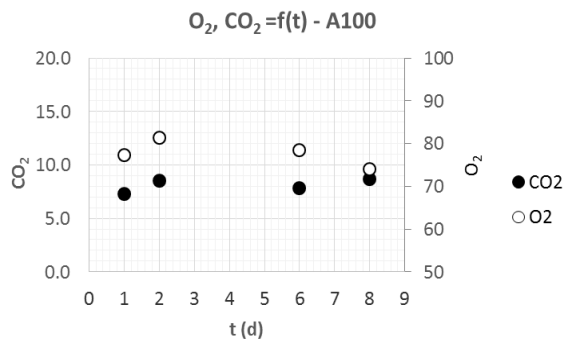
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Οι διακυμάνσεις στις τιμές του pH οφείλονται στις διαφοροποιήσεις μεταξύ των συσκευασιών που χρησιμοποιήθηκαν κάθε φορά για τη διεξαγωγή των μετρήσεων.

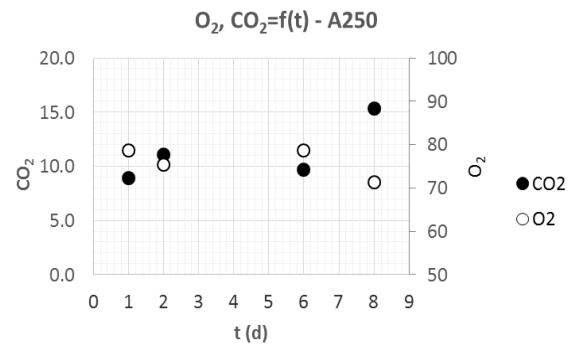
Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται, όπως και προηγουμένως, ότι η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) δεν επιδρά σημαντικά στην μεταβολή του pH του συγκεκριμένου προϊόντος.

Μέτρηση αέριας σύστασης συσκευασίας

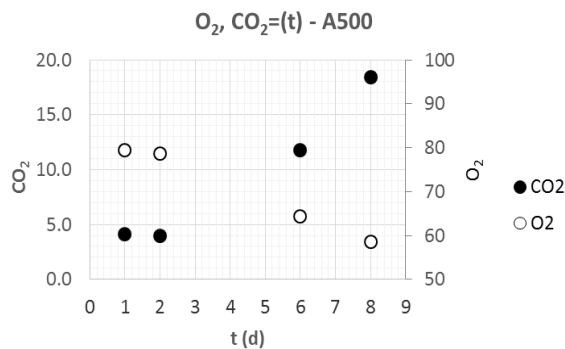
Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζεται η εξέλιξη της αέριας σύστασης στα μελετώμενα προϊόντα βόειου κιμά.



Σχήμα 6.24: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού A και ποσότητας κρεατόμαζας 100g.

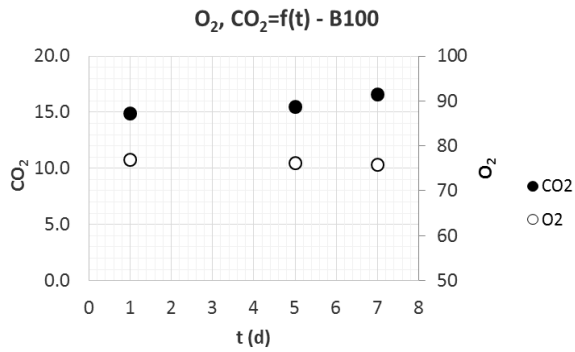


Σχήμα 6.25: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού A και ποσότητας κρεατόμαζας 250g.

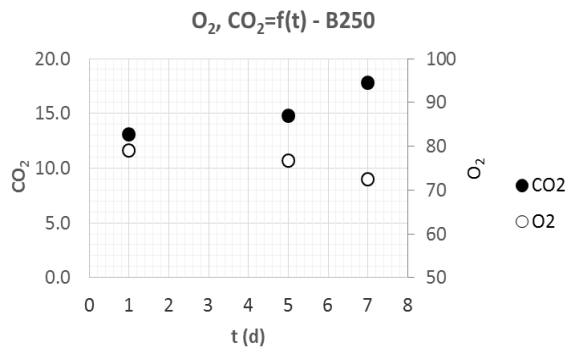


Σχήμα 6.26: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού A και ποσότητας κρεατόμαζας 500g.

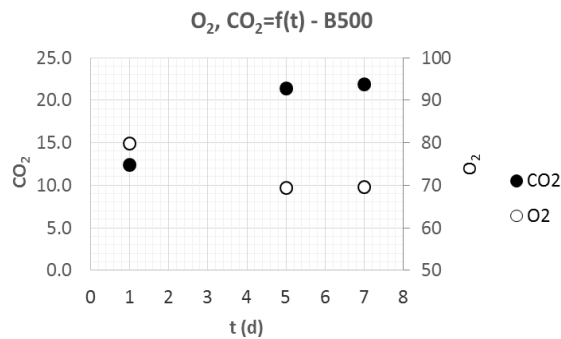
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



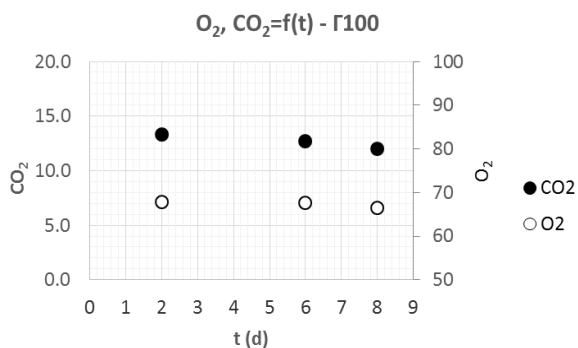
Σχήμα 6.27: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Β και ποσότητας κρεατόμαζας 100g.



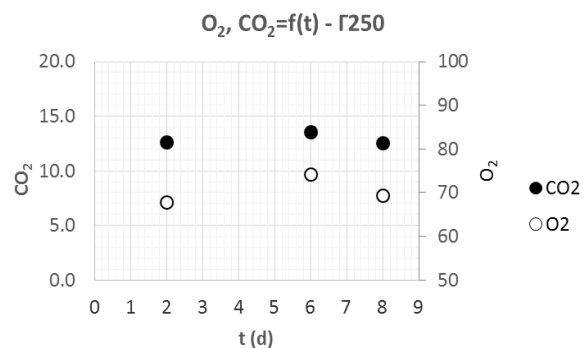
Σχήμα 6.28: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Β και ποσότητας κρεατόμαζας 250g.



Σχήμα 6.29: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Β και ποσότητας κρεατόμαζας 500g.

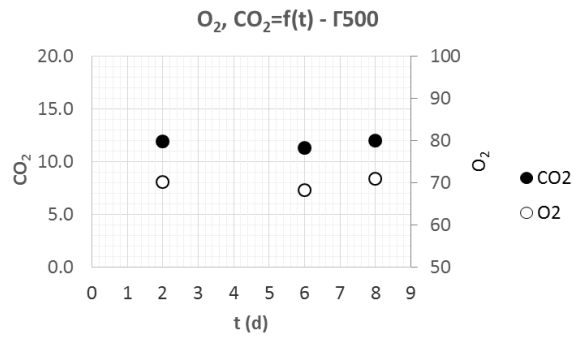


Σχήμα 6.30: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Γ και ποσότητας κρεατόμαζας 100g.

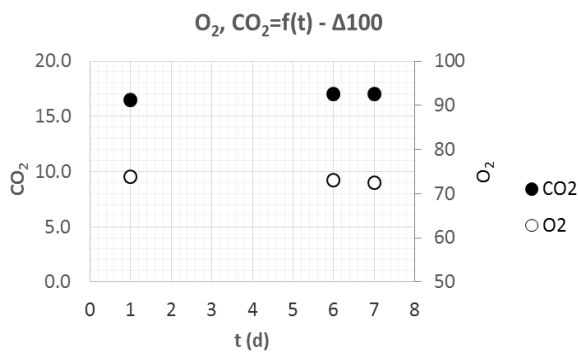


Σχήμα 6.31: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Γ και ποσότητας κρεατόμαζας 250g.

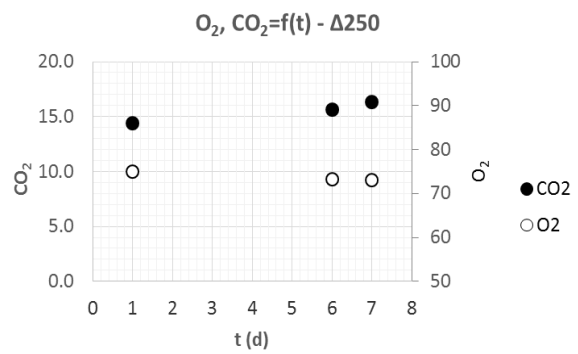
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 6.32: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού 5 και ποσότητας κρεατόμαζας 500g.

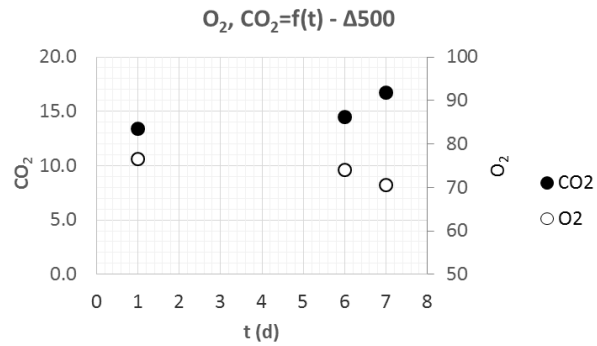


Σχήμα 6.33: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Δ και ποσότητας κρεατόμαζας 100g.



Σχήμα 6.34: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Δ και ποσότητας κρεατόμαζας 250g.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

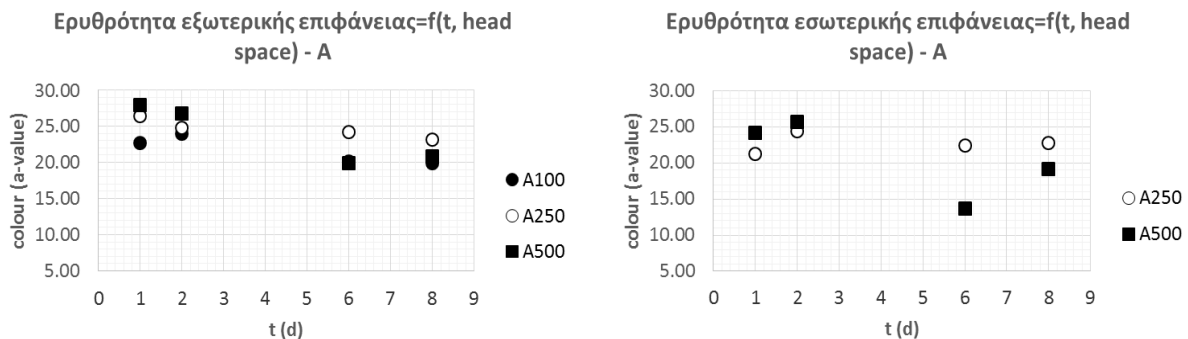


Σχήμα 6.35: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Δ και ποσότητας κρεατόμαζας 500g.

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι σε κάποια δείγματα, στην εμπορικά διαθέσιμη συσκευασία των 500g (μικρότερη υπερκείμενη αέρια φάση), η εξέλιξη της αέριας σύστασης ξεκινάει από μικρότερο ποσοστό CO₂ συγκριτικά με τις άλλες δύο συσκευασίες (100 και 250g) αλλά καταλήγουν όλες στο ίδιο τελικό ποσοστό CO₂. Αυτή η παρατήρηση όμως, κρίνεται στατιστικά μη αποδεκτή. Έτσι, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι όπως και προηγουμένως, η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) δεν επιδρά σημαντικά στην μεταβολή της αέριας σύστασης του συγκεκριμένου προϊόντος.

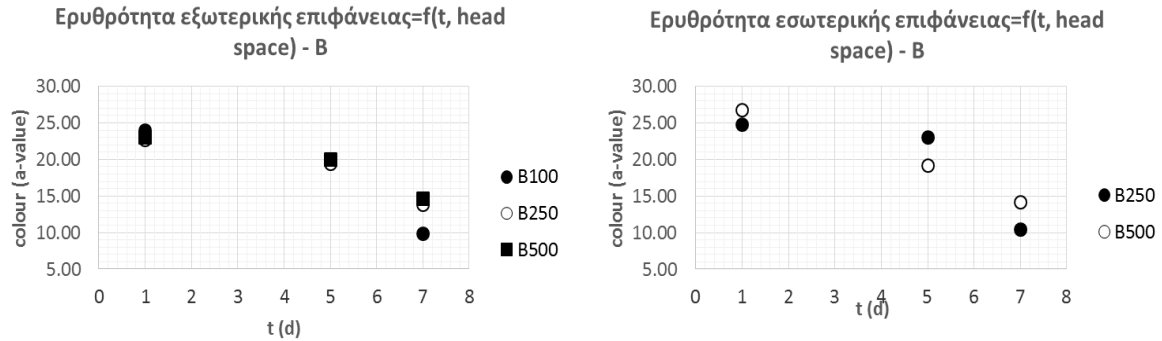
Μέτρηση χρώματος

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζεται η εξέλιξη του χρώματος της εξωτερικής και της εσωτερικής επιφάνειας της κρεατόμαζας στα μελετώμενα προϊόντα βόειου κιμά.

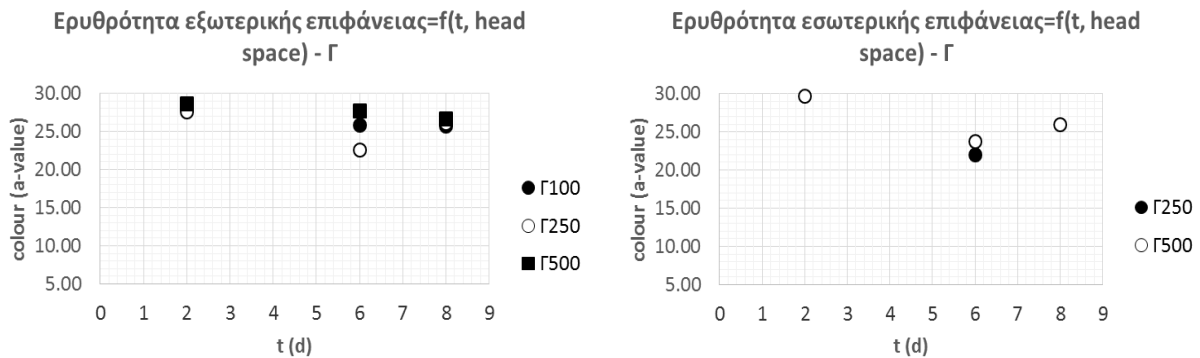


Σχήμα 6.36: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Α διαφόρων ποσοτήτων κρεατόμαζας (α) στο εξωτερικό και στο εσωτερικό της.

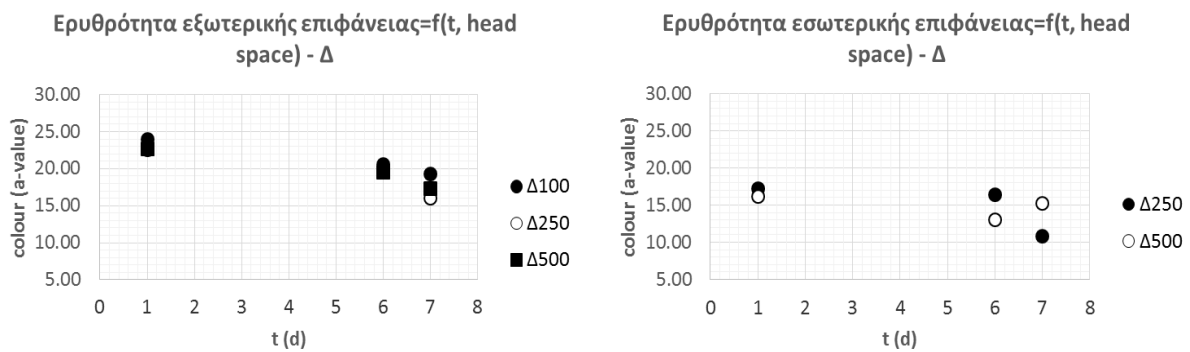
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 6.37: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού β διαφόρων ποσοτήτων κρεατόμαζας (α) στο εξωτερικό και στο εσωτερικό της.



Σχήμα 6.38: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Γ διαφόρων ποσοτήτων κρεατόμαζας (α) στο εξωτερικό και στο εσωτερικό της.



Σχήμα 6.39: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά παραγωγού Δ διαφόρων ποσοτήτων κρεατόμαζας (α) στο εξωτερικό και στο εσωτερικό της.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται, όπως και προηγουμένως, ότι η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) δεν επιδρά σημαντικά στην μεταβολή του χρώματος του συγκεκριμένου προϊόντος.













Εντούτοις, αξίζει να σημειωθεί ότι βρέθηκαν σημαντικές διαφορές του χρώματος τόσο της εξωτερικής όσο και της εσωτερικής επιφάνειας της κρεατόμαζας του φρέσκου βόειου κιμά μεταξύ των παραγωγών. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι η αρχική μέτρηση της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος (a-value) κυμαινόταν στα ίδια περίπου επίπεδα τιμών για τα δείγματα των παραγωγών Α, Β και Γ ενώ είχε υψηλότερη τιμή για τα δείγματα του παραγωγού Δ. Η υψηλή αυτή τιμή της ερυθρότητας δεν μειώθηκε σημαντικά με το χρόνο, παρά την σημαντική μικροβιολογική αλλοίωση του τροφίμου.

Τέλος, παρατηρήθηκε έντονη διαφορά της ερυθρότητας μεταξύ εσωτερικής και εξωτερικής επιφάνειας της κρεατόμαζας ορισμένων παραγωγών (πιο έντονα στον παραγωγό Δ). το φαινόμενο της αμαύρωσης του κρεατοσκευάσματος στο εσωτερικό του αποδίδεται στην απουσία O_2 . Προφανώς, η απουσία O_2 αποδίδεται στην διαδικασία και στον εξοπλισμό της άλεσης. Όταν η διεργασία της άλεσης οδηγεί στην παραγωγή ενός κρεατοσκευάσματος με μεγάλη συνοχή, το διαλυμένο O_2 ελαχιστοποιείται, με αποτέλεσμα την αμαύρωση.

Το φαινόμενο υποβάθμισης του χρώματος απεικονίζεται στις φωτογραφίες που ακολουθούν.










Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Εικόνα 6.4: Δείγματα βόειου κιμά παραγωγού Α και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g κατά την αποθήκευσή τους στους 2°C

Δείγματα παραγωγού Α (T_{αποθήκ.}=2°C)				
Περιγραφή	1 day	2 days	6 days	8 days
100 g				
250 g				
500 g				

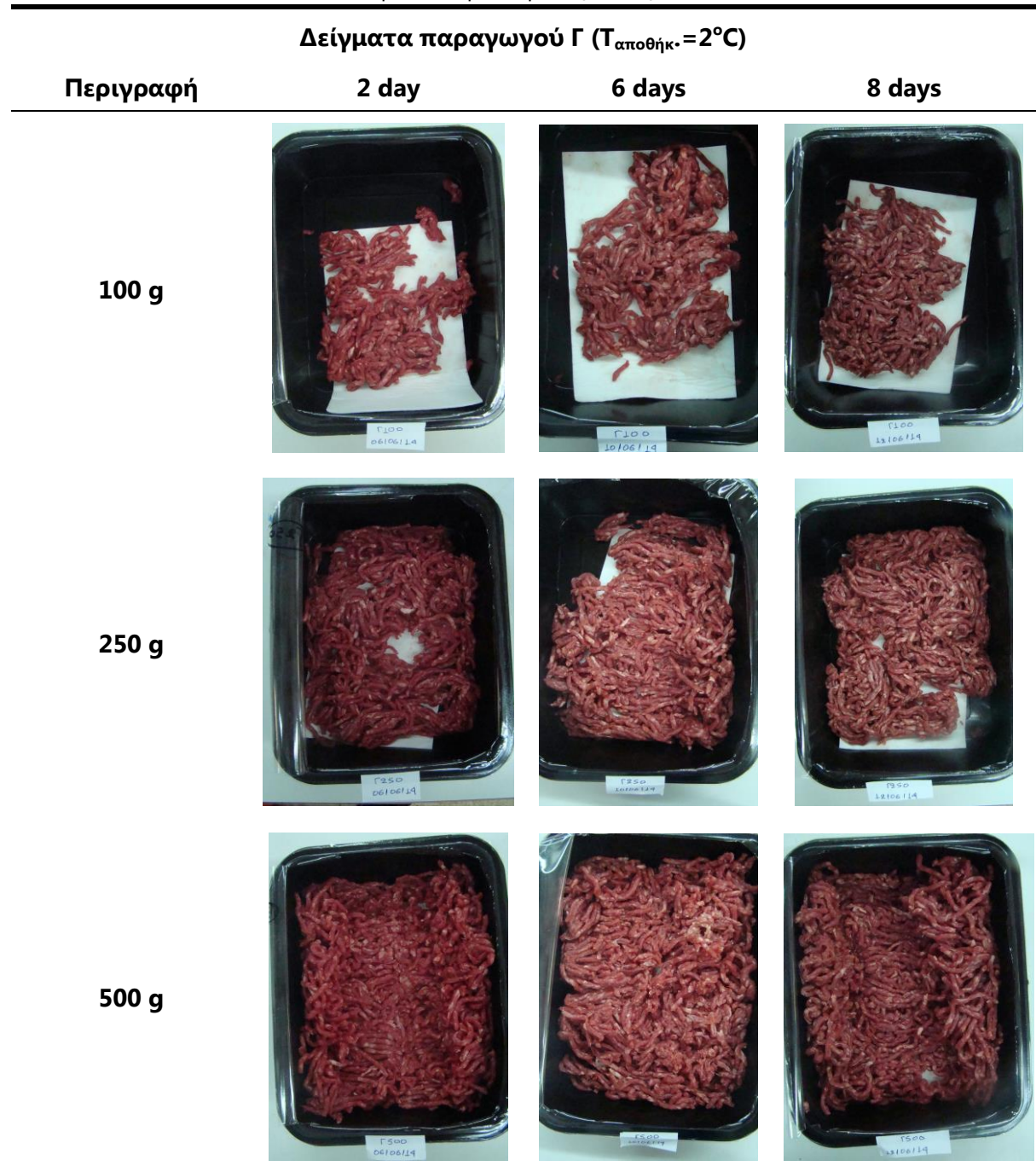
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Εικόνα 6.5: Δείγματα βόειου κιμά παραγωγού Β και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g κατά την αποθήκευσή τους στους 5°C

Δείγματα παραγωγού Β (T_{αποθήκ.} = 5°C)			
Περιγραφή	1 day	5 days	7 days
100 g			
250 g			
500 g			










Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Εικόνα 6.6: Δείγματα βόειου κιμά παραγωγού Γ και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g κατά την αποθήκευσή τους στους 2°C



Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Εικόνα 6.7: Δείγματα βόειου κιμά παραγωγού Δ και ποσότητας κρεατόμαζας 100, 250 και 500g κατά την αποθήκευσή τους στους 2°C

Δείγματα παραγωγού Δ (T_{αποθήκ.} = 2°C)			
Περιγραφή	1 day	5 days	7 days
100 g			
250 g			
500 g			

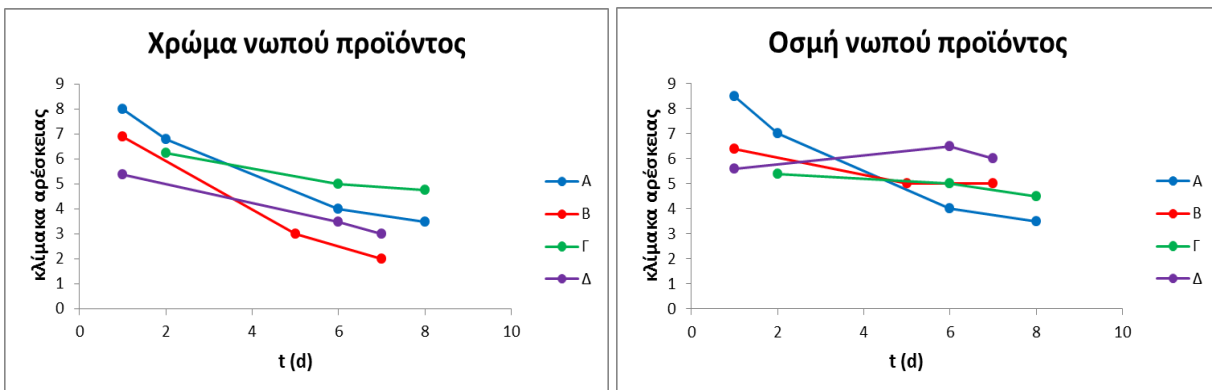
Οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων

Επειδή υπήρχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την οργανοληπτική μελέτη των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν για την εύρεση της επίδρασης της αναλογίας μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) στην εμπορική διάρκεια ζωής του προϊόντος, αποφασίστηκε να πραγματοποιηθεί εκτεταμένη οργανοληπτική μελέτη, τα αποτελέσματα της οποίας παρουσιάζονται παρακάτω.

Όπως παρατηρήθηκε και αναλύθηκε παραπάνω, η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης (headspace) δεν επιδρά σημαντικά στην εμπορική διάρκεια ζωής του τροφίμου. Για το λόγο αυτό, αποφασίστηκε η ανάλυση του οργανοληπτικού ελέγχου να περιοριστεί στη συσκευασία φρέσκου βόειου κιμά των 500g, που είναι και η εμπορικά διαθέσιμη συσκευασία, για κάθε παραγωγό Α, Β, Γ και Δ.

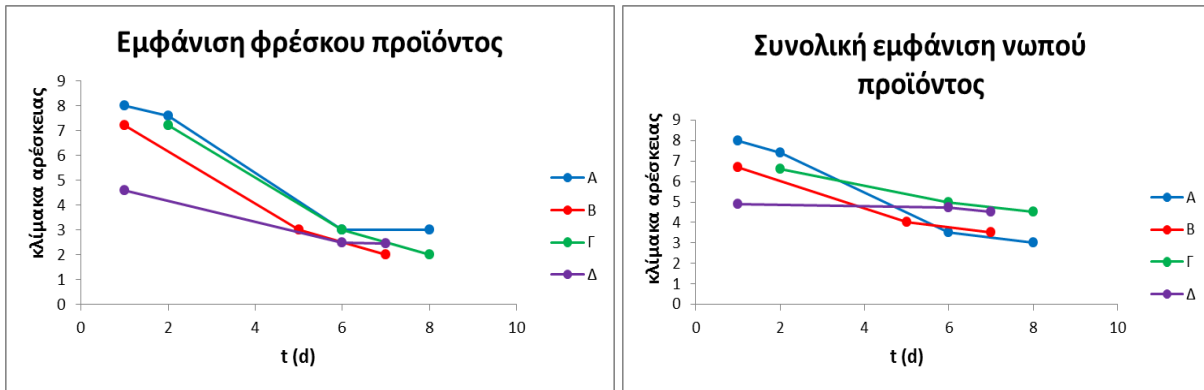
Όπως φαίνεται και στο οργανοληπτικό έντυπο που βρίσκεται στο Παράρτημα, σε κάθε νωπό δείγμα φρέσκου βόειου κιμά μελετήθηκαν το χρώμα του, η οσμή του, η εμφάνιση φρέσκου προϊόντος (δηλαδή πόσο φρέσκο φαίνεται το τρόφιμο) και η συνολική του εμφάνιση. Αντίστοιχα, σε κάθε δείγμα μαγειρεμένου φρέσκου βόειου κιμά μελετήθηκαν το χρώμα του, η οσμή του, η γεύση του, η μετάγευσή του και η συνολικά εντύπωση που άφησε στον δοκιμαστή. Για τη βαθμολόγηση χρησιμοποιήθηκε κλίμακα από το 1 έως το 9, όπου 9:φρέσκο και 1:εμφανείς αλλοιώσεις, και ορίστηκε ως όριο αποδοχής ο βαθμός 5.

Επειδή οι μετρήσεις που έγιναν δεν ήταν αρκετές και τα σημεία που προέκυψαν είναι λίγα, δεν προσαρμόζεται σε αυτά γραμμική συνάρτηση αλλά τα δείγματα εξετάζονται ποιοτικά για κάθε παραγωγό.

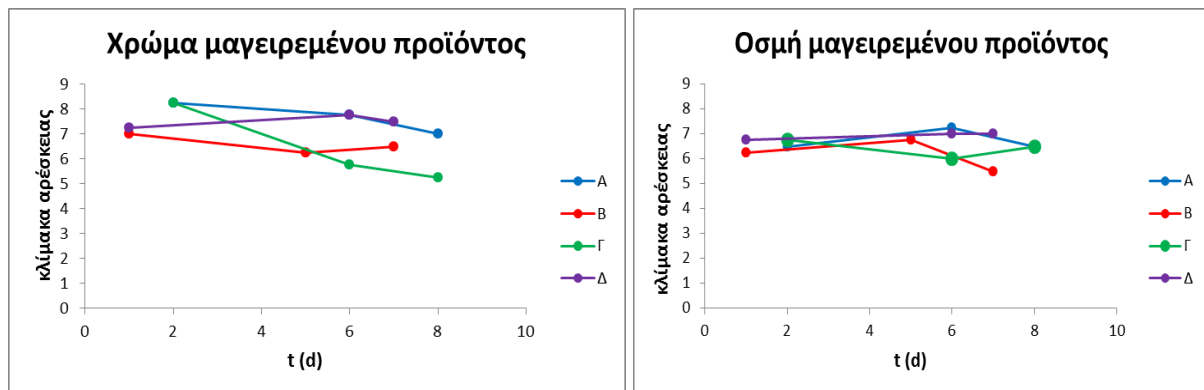


Σχήμα 6.40: Διαγράμματα βαθμολογίας (α) χρώματος και (β) οσμής των νωπών προϊόντων κιμά των παραγωγών Α, Β, Γ και Δ (συσκευασίας 500g).

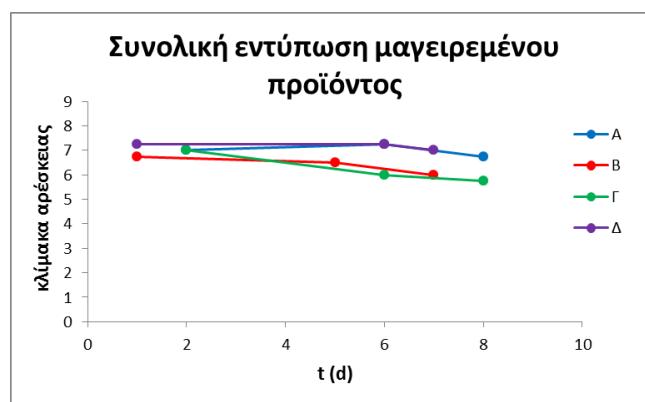
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 6.41: Διαγράμματα βαθμολογίας (α) εμφάνισης φρέσκου προϊόντος και (β) συνολικής εμφάνισης (αρέσκειας) των νωπών προϊόντων κιμά των παραγωγών Α, Β, Γ και Δ (συσσκευασίας 500g).



Σχήμα 6.42: Διαγράμματα βαθμολογίας (α) χρώματος και (β) οσμής των μαγειρεμένων προϊόντων κιμά των παραγωγών Α, Β, Γ και Δ (συσσκευασίας 500g).



Σχήμα 6.43: Διάγραμμα βαθμολογίας συνολικής εντύπωσης των μαγειρεμένων προϊόντων κιμά των παραγωγών Α, Β, Γ και Δ (συσσκευασίας 500g).

Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά των νωπών δειγμάτων που μελετήθηκαν παρατηρούνται τα εξής:

- Το χρώμα των νωπών δειγμάτων (ερυθρότητα φρέσκου βόειου κιμά), το οποίο αποτελεί και καθοριστικό παράγοντα επιλογής των προϊόντων από τους καταναλωτές, υποβαθμίστηκε με το χρόνο, όπως ήταν αναμενόμενο και όπως παρατηρήθηκε και από τα σχήματα 6.36 – 6.39. Παρατηρήθηκε όμως μεγάλη διαφορά μεταξύ δειγμάτων διαφορετικών παραγωγών. Δηλαδή, ενώ από τις μικροβιολογικές αναλύσεις βρέθηκε ότι τα δείγματα κυμαίνονταν σε ίδια επίπεδα μικροβιολογικής αλλοίωσης, εντούτοις, η υποβάθμιση του χρώματος ανά παραγωγό διέφερε.
- Η εξέλιξη της οσμής των νωπών προϊόντων επίσης είχε μια καθοδική πορεία (σε άλλους παραγωγούς περισσότερο και σε άλλους λιγότερο έντονη) με εξαίρεση του παραγωγού Δ. Στα δείγματα του παραγωγού Δ, από τη στιγμή της παραλαβής των δειγμάτων η οσμή αξιολογήθηκε αρκετά χαμηλά, με μικρές διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια της συντήρησής του.
- Η εξέλιξη της εμφάνισης φρέσκου προϊόντος και της συνολικής εμφάνισης των νωπών προϊόντων όλων των παραγωγών έχει καθοδική πορεία. Παρατηρείται ότι τα δείγματα του παραγωγού Α και εκείνα του παραγωγού Δ θεωρήθηκαν ποιοτικά ανώτερα και κατώτερα αντίστοιχα από του δοκιμαστές.

Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά των μαγειρεμένων δειγμάτων που μελετήθηκαν παρατηρούνται τα εξής:

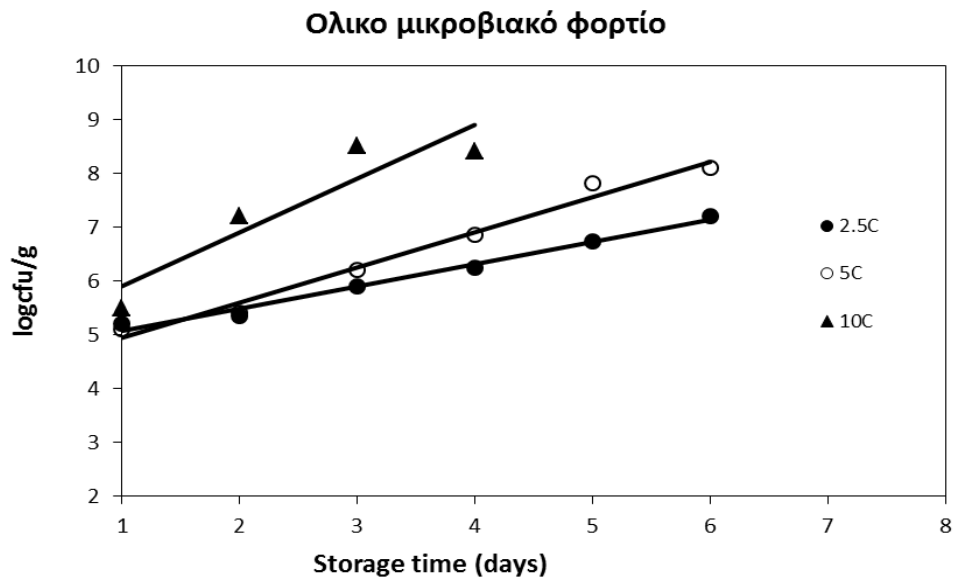
- Το χρώμα και η οσμή των προϊόντων αξιολογήθηκαν σχετικά υψηλά με μικρές διακυμάνσεις σε κάποια δείγματα.
- Αξιολογήθηκαν επίσης και η γεύση και η μετάγευση των δειγμάτων. Επειδή όμως έγιναν πολύ λίγες μετρήσεις, δεν παρουσιάστηκαν σε διάγραμμα. Αξίζει να σημειωθεί όμως ότι τα δείγματα του παραγωγού Δ αξιολογήθηκαν ως τα καλύτερα και του παραγωγού Β ως τα χειρότερα.
- Η συνολική μαγειρεμένου προϊόντος των δειγμάτων αξιολογήθηκε σε σχετικά υψηλά επίπεδα για όλους τους παραγωγούς. Σημειώνεται ότι τα δείγματα του παραγωγού Δ είχαν τις μεγαλύτερες τιμές, το οποίο είναι αρκετά παράδοξο, αφού στην συνολική αξιολόγηση των νωπών δειγμάτων είχαν τις χαμηλότερες τιμές. Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι το κρεατοσκεύασμα του παραγωγού Δ είχε μεγάλη συνοχή, λόγω της διεργασίας άλεσής του, με αποτέλεσμα όπως σημειώνεται και παραπάνω να ελαχιστοποιείται το διαλυμένο O_2 στο εσωτερικό του και να αμαυρώνεται, πράγμα το οποίο απώθησε τους δοκιμαστές.

6.4 Ανάπτυξη μαθηματικού μοντέλου πρόβλεψης της μικροβιολογικής αλλοίωσης προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

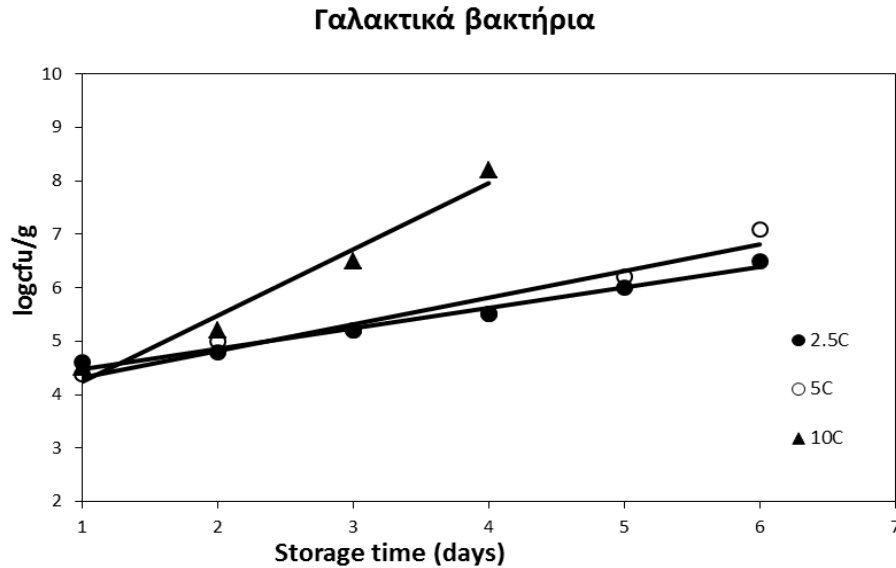
6.4.1 Ισοθερμοκρασιακές συνθήκες αποθήκευσης-Ανάπτυξη κινητικού μοντέλου

Παρακάτω παρουσιάζονται οι καμπύλες ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα νωπού βόειου κιμά συσκευασμένων υπό συνθήκες MAP, Βέλγικης προέλευσης. Από αυτά προκύπτει η επίδραση της θερμοκρασίας συντήρησης, καθώς και του χρόνου αποθήκευσης των δειγμάτων στο μικροβιακό φορτίο του νωπού βόειου κιμά.

Πραγματοποιήθηκε προσαρμογή των μετρήσεων στο μοντέλο Baranyi, από όπου και προέκυψαν οι εκθετικοί ρυθμοί ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Τα σημεία είναι οι πειραματικές μετρήσεις και οι συνεχείς καμπύλες προκύπτουν από την προσαρμογή στο μοντέλο Baranyi.



Σχήμα 6.44: Καμπύλη ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας σε δείγματα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά συντηρημένου υπό MAP σε θερμοκρασίες 2.5, 5 και 10°C.



Σχήμα 6.45: Καμπύλη ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων σε δείγματα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά συντηρημένου υπό MAP σε θερμοκρασίες 2.5, 5 και 10°C.

Όπως παρατηρείται από τα παραπάνω διαγράμματα, όσο αυξάνεται η θερμοκρασία αποθήκευσης των δειγμάτων, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Από την προσομοίωση των μετρήσεων στο μοντέλο Baranyi προέκυψαν οι εκθετικοί ρυθμοί ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και των γαλακτικών βακτηρίων στα δείγματα που μελετήθηκαν σε θερμοκρασίες 2.5, 5 και 10°C. Οι ρυθμοί αυτοί ορίζονται από την παρακάτω σχέση:

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = k \cdot t \quad (6.1)$$

όπου N: ο αριθμός των μικροοργανισμών σε χρόνο t και N₀: το αρχικό μικροβιακό φορτίο.

Τα αποτελέσματα των υπολογισμών δίνονται στον πίνακα 6.10.

Πίνακας 6.3: Εκθετικοί ρυθμοί ανάπτυξης ολικής μικροβιακής χλωρίδας και γαλακτικών βακτηρίων των δειγμάτων προϊόντων φρέσκου κιμά συσκευασμένα υπό MAP και στις μελετώμενες θερμοκρασίες.

Θερμοκρασία συντήρησης (°C)	2.5	5	10
k _{ολικής μικροβιακής χλωρίδας} (d ⁻¹)	0.310	0.654	1.500
k _{γαλακτικών βακτηρίων} (d ⁻¹)	0.383	0.499	1.240

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Όπως παρατηρείται, με αύξηση της θερμοκρασίας συντήρησης, αυξάνεται και ο εκθετικός ρυθμός ανάπτυξης τόσο της ολικής μικροβιακής χλωρίδας, όσο και των γαλακτικών βακτηρίων, δηλαδή το τρόφιμο αλλοιώνεται πιο γρήγορα.

Επιβεβαιώνεται και εδώ ότι τα γαλακτικά βακτήρια είναι ο κύριος αλλοιογόνος μικροοργανισμός. Για το λόγο αυτό, για την εκτίμηση της διατηρησιμότητας των προϊόντων βόειου κιμά Βελγίου θα λάβουμε υπόψη μας τα γαλακτικά βακτήρια (LAB).

Προσδιορισμός της διάρκειας ζωής

Με χρήση των πειραματικών δεδομένων του ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων στην εξίσωση 6.1, υπολογίστηκε η διάρκεια ζωής (Shelf life) των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου για όλες τις θερμοκρασίες διεξαγωγής των πειραμάτων.

Σημειώνεται ότι για τους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε ως αρχικό μικροβιακό φορτίο $\log N_0=4.3$ cfu/g (που είναι ο μέσος όρος των μετρήσεων των αρχικών μικροβιακών φορτίων στις μελετώμενες θερμοκρασίες) και ως τελικό φορτίο (όριο απόρριψης) $\log N_f=7$ cfu/g. Παρόμοιες τιμές αναφέρονται και στη βιβλιογραφία (Borch et al., 1996, Devlieghere et al., 1998b, Devlieghere et al., 2000a, Fernández-López et al., 2008, Korkeala et al., 1987, Koutsoumanis et al., 2005, Mataragas et al., 2006, Nychas et al., 2008, Samelis et al., 2000, Βαϊκούση 2009, Γαβριήλ, 2009, Gogou et al., 2006, Καραμπέρη, 2010).

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζεται η διάρκεια ζωής του φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου στις μελετώμενες θερμοκρασίες.

Πίνακας 6.4: Χρόνοι ζωής των δειγμάτων

T (°C)	$k_{\text{γαλακτικών βακτηρίων}} (d^{-1})$	Διάρκεια ζωής (d)
2.5	0.383	7.0
5	0.499	5.4
10	1.240	2.2

Τα παραπάνω αποτελέσματα του Πίνακα 6.10 προσαρμόστηκαν στην εξίσωση Arrhenius, με σκοπό τον υπολογισμό της ενέργειας ενεργοποίησης E_A . Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε η γραμμικοποιημένη μορφή της εξίσωσης Arrhenius:

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

όπου: k : η σταθερά του ρυθμού ανάπτυξης των μικροοργανισμών (d^{-1})

k_{ref} : η αντίστοιχη σταθερά στη θερμοκρασία αναφοράς (d^{-1})

E_A : η ενέργεια ενεργοποίησης (J/mol)

R : η παγκόσμια σταθερά των αερίων (8,314 J/mol*K)

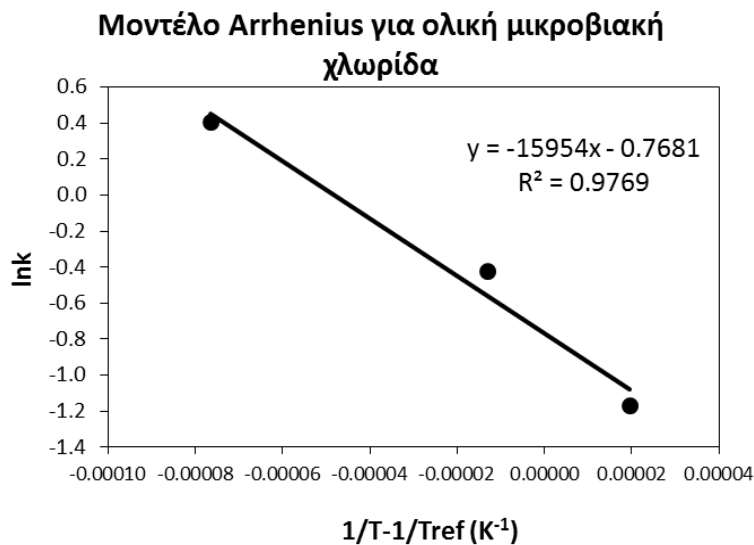
T: η απόλυτη θερμοκρασία (K).

Ως θερμοκρασία αναφοράς τέθηκε η τιμή 4°C.

Με χρήση της εξίσωσης Arrhenius, της εξίσωσης 6.1, προκύπτει η κινητική εξίσωση ανάπτυξης γαλακτικών βακτηρίων σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά.

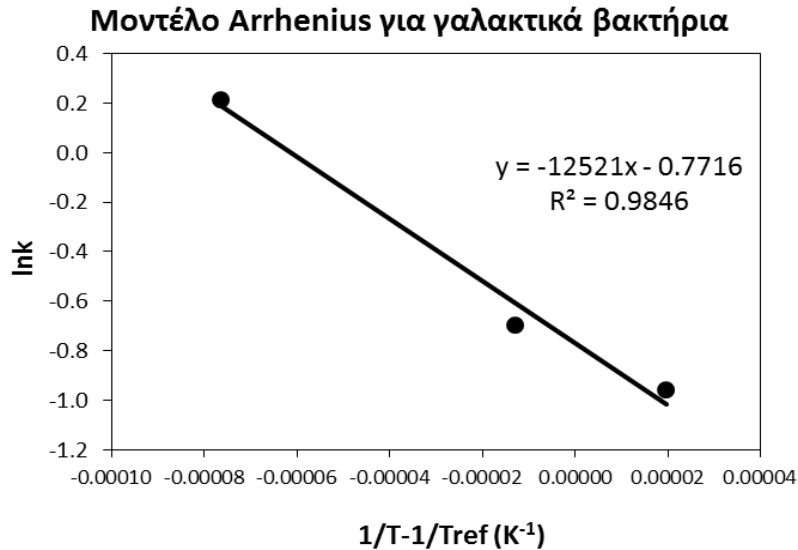
$$\log N = \log N_0 + \left(k_{\text{ref}} + \exp \left(\frac{E_A}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{\text{ref}}} - \frac{1}{T} \right) \right) \right) \cdot t$$

Τα αποτελέσματα της εφαρμογής του μοντέλου Arrhenius στους ρυθμούς ανάπτυξης τόσο της ολικής μικροβιακής χλωρίδας όσο και των γαλακτικών βακτηρίων στα δείγματα νωπού βόειου κιμά συσκευασμένων υπό συνθήκες MAP, προέλευσης από το Βέλγιο παρουσιάζονται στα επόμενα διαγράμματα.



Σχήμα 6.46: Εφαρμογή του μοντέλου Arrhenius στους ρυθμούς ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά στις θερμοκρασίες 2.5, 5 και 10°C.

Από το παραπάνω διάγραμμα προκύπτει ότι η ενέργεια ενεργοποίησης E_A με βάση την ανάπτυξη της ολικής μικροβιακής χλωρίδας ισούται με 132.6 kJ/mol και ο ρυθμός ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας k_{ref} στη θερμοκρασία αναφοράς ($T_{\text{ref}}=4^\circ\text{C}$) ισούται με 0.464 d^{-1} .



Σχήμα 6.47: Εφαρμογή του μοντέλου Arrhenius στους ρυθμούς ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά στις θερμοκρασίες 2.5, 5 και 10°C.

Από το παραπάνω διάγραμμα προκύπτει ότι η ενέργεια ενεργοποίησης E_A με βάση την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων ισούται με 104.1 kJ/mol και ο ρυθμός ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων k_{ref} στη θερμοκρασία αναφοράς ($T_{ref}=4^\circ\text{C}$) ισούται με 0.462 d^{-1} .

Πίνακας 6.5: Τιμές E_A και k_{ref} στους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν στα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά για $T_{ref}=4^\circ\text{C}$

Μικροοργανισμοί	E_A (kJ/mol)	k_{ref} (d^{-1})
Ολική μικροβιακή χλωρίδα	132.6	0.464
Γαλακτικά βακτήρια	104.1	0.462

Έτσι λοιπόν, πλέον η εξίσωση ανάπτυξης γαλακτικών βακτηρίων σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά γίνεται:

$$\log N = 4.3 + \left(0.462 + \exp \left(12521 \cdot \left(\frac{1}{277.16} - \frac{1}{T} \right) \right) \right) \cdot t \quad (6.2)$$

όπου, $\log N$: αριθμός γαλακτικών βακτηρίων τη χρονική στιγμή t ($\log \text{cfu/g}$)

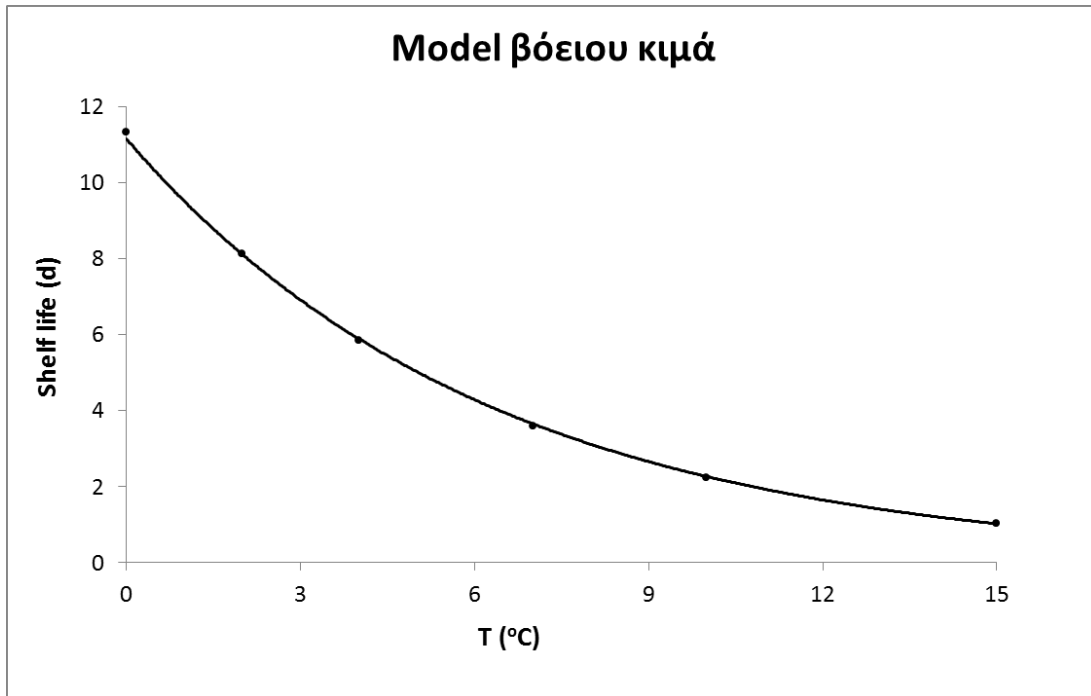
T : απόλυτη θερμοκρασία διεξαγωγής του πειράματος (K)

t : χρόνος μέτρησης των γαλακτικών βακτηρίων (days)

Τέλος, με βάση το θεωρητικό μαθηματικό μοντέλο πρόβλεψης χρόνου ζωής του φρέσκου βόειου κιμά, το οποίο προέκυψε από τις κινητικές σταθερές (Πίνακας 6.12), ως προς την

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων, κατασκευάζεται το διάγραμμα των θεωρητικών χρόνων ζωής σε διάφορες θερμοκρασίες και στα σημεία προσαρμόζεται εκθετική καμπύλη.



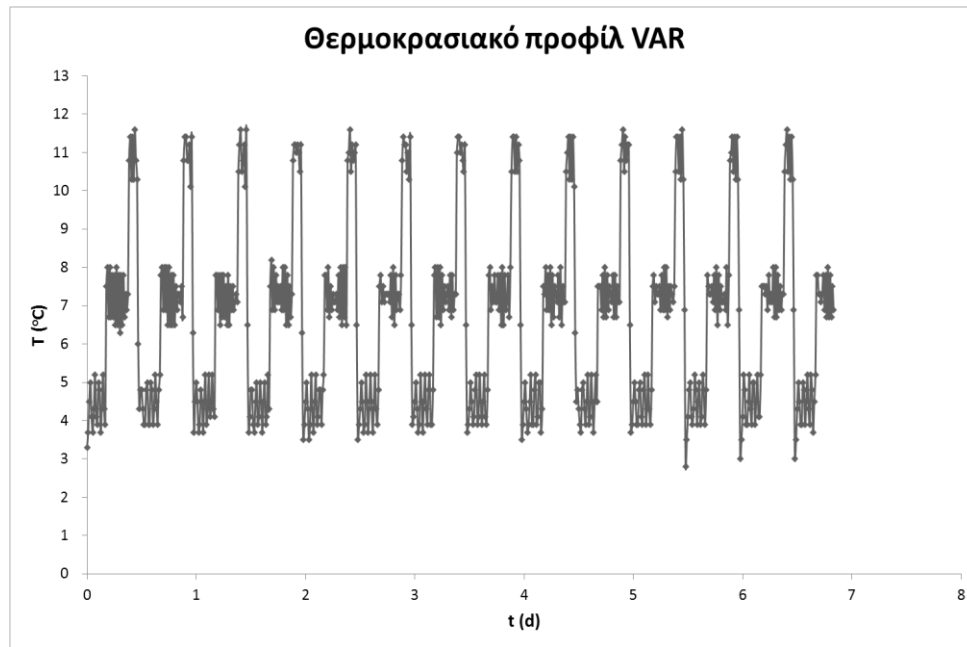
Σχήμα 6.48: Θεωρητικοί χρόνοι ζωής προϊόντων βόειου κιμά Βελγίου σε θερμοκρασίες ψύξης.

6.4.2 Επαλήθευση μαθηματικού μοντέλου σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες

Για τον έλεγχο της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε και ένα πείραμα σε μη ισοθερμοκρασιακές συνθήκες, που είχε το χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ που περιγράφηκε στο 6.1.

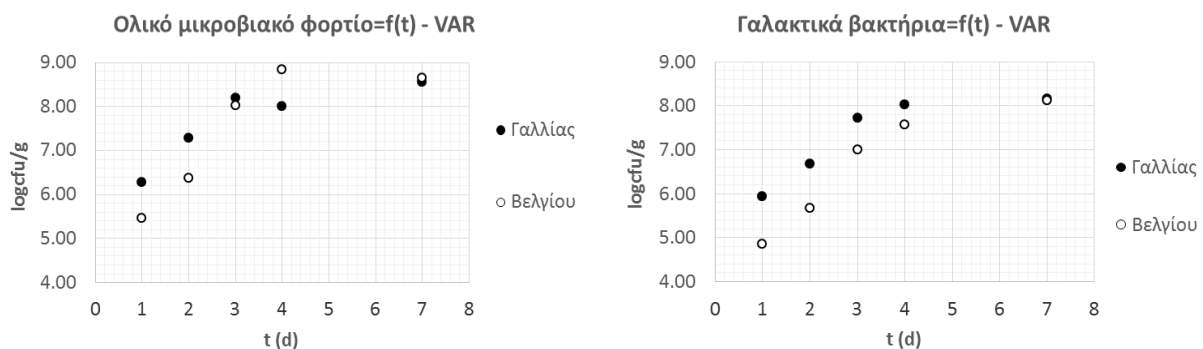
Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται η μέση θερμοκρασιακή κατανομή (VAR) που κατέγραψε το καταγραφικό θερμοκρασίας (data logger) κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος εναλλασσόμενου χρονο-θερμοκρασιακού προφίλ.

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



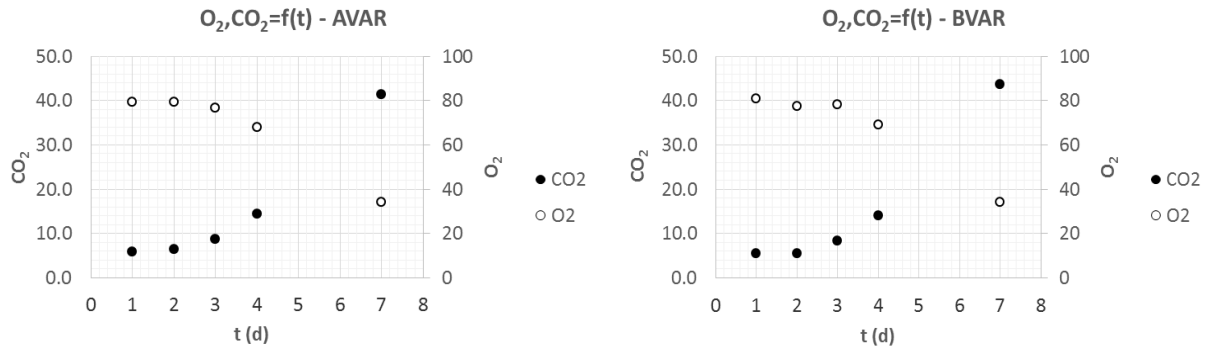
Σχήμα 6.49: Συνθήκες θερμοκρασίας αποθήκευσης κατά τη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης σε μεταβαλλόμενες συνθήκες

Όπως στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε σταθερή θερμοκρασία, έτσι και εδώ στα δείγματα (Γαλλίας και Βελγίου), μετρήθηκαν το μικροβιακό φορτίο, το pH, η αέρια σύσταση της συσκευασίας και το χρώμα της εξωτερικής και της εσωτερικής επιφάνειας της κρεατόμαζας και παρουσιάζονται στα επόμενα διαγράμματα.

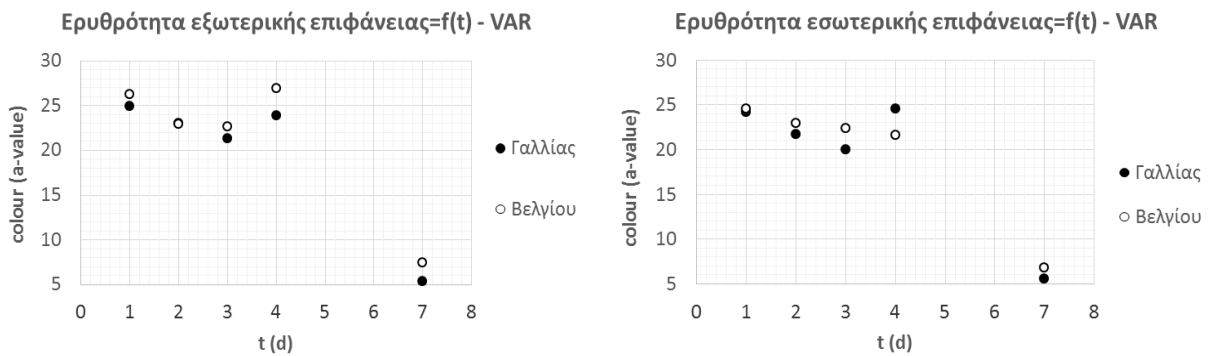


Σχήμα 6.50: Εξέλιξη (α) του ολικού μικροβιακού φορτίου και (β) των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους σε μεταβαλλόμενη θερμοκρασία.

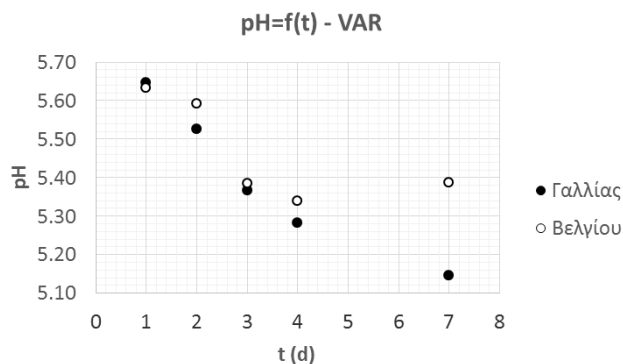
Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 6.51: Εξέλιξη της αέριας σύστασης στα προϊόντα βόειου κιμά (α) Γαλλίας και (β) Βελγίου αποθηκευμένα σε μεταβαλλόμενη θερμοκρασία.



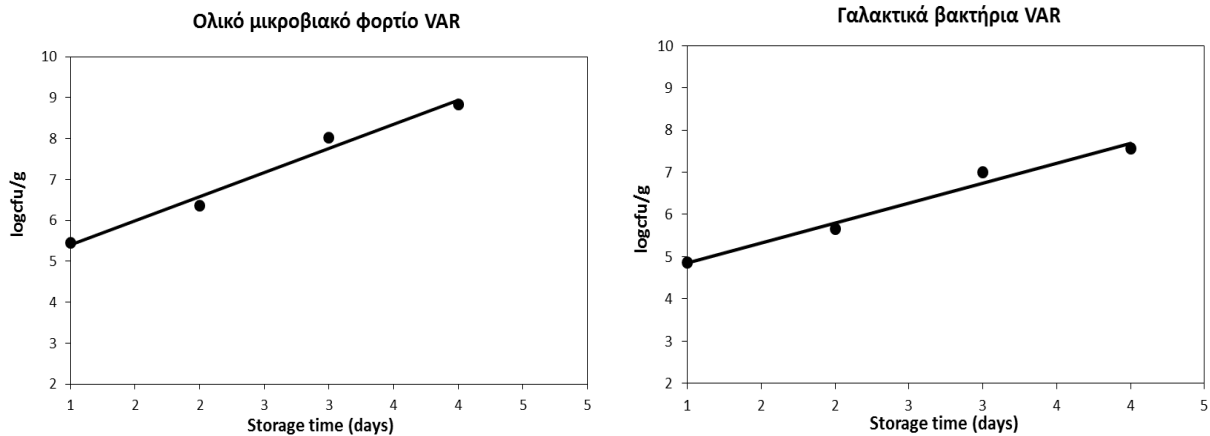
Σχήμα 6.52: Εξέλιξη της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου κατά την αποθήκευσή τους σε διάφορες θερμοκρασίες συντήρησης (α) στο εξωτερικό και (β) στο εσωτερικό της κρεατόμαζας.



Σχήμα 6.53: Εξέλιξη του pH στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας και Βελγίου αποθηκευμένα σε μεταβαλλόμενη θερμοκρασία

Κεφάλαιο 6: Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά

Στα επόμενα διαγράμματα πραγματοποιήθηκε προσαρμογή των μετρήσεων ανάπτυξης των ολικών και των γαλακτικών βακτηρίων στο μοντέλο Baranyi, από όπου και προέκυψαν οι εκθετικοί ρυθμοί ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Τα σημεία είναι οι πειραματικές μετρήσεις και οι συνεχείς καμπύλες προκύπτουν από την προσαρμογή στο μοντέλο Baranyi. Μελετήθηκαν και εδώ τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου.



Σχήμα 6.54: Καμπύλη ανάπτυξης (α) της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και (β) των γαλακτικών βακτηρίων σε δείγματα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου συντηρημένου υπό MAP σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες ($T_{\text{eff}}=7.3^{\circ}\text{C}$).

Με βάση το χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ του Διαγράμματος 6.49 υπολογίστηκε η δραστική θερμοκρασία T_{eff} , η οποία βρέθηκε ίση με 7.3°C , και μέσω αυτής υπολογίστηκαν στη συνέχεια οι προβλεπόμενοι ρυθμοί ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα νωπού βόειου κιμά συσκευασμένου υπό συνθήκες MAP, μέσω της εξίσωσης 5.6.

Πίνακας 6.6: Πειραματικοί και προβλεπόμενοι ρυθμοί ανάπτυξης ολικών και γαλακτικών βακτηρίων σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες.

VAR ($T_{\text{eff}}=7.3^{\circ}\text{C}$)		
	$k_{\text{exp.}} (\text{d}^{-1})$	$k_{\text{pred.}} (\text{d}^{-1})$
Ολική μικροβιακή χλωρίδα	1.178	0.913
Γαλακτικά βακτήρια	0.944	0.787

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά στην ψυκτική αλυσίδα

7.1 Εισαγωγή

Αντικείμενο του κεφαλαίου αυτού αποτέλεσε η μελέτη για την επιλογή των κατάλληλων ΤΠΙ για την παρακολούθηση της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά στην ψυκτική αλυσίδα.

Στα προηγούμενα κεφάλαια προσδιορίστηκαν τα συνολικά μαθηματικά μοντέλα, με βάση τα οποία βρέθηκαν τα κινητικά χαρακτηριστικά, καθώς και οι χρόνοι ζωής, τόσο των ΤΠΙ, όσο και των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά. Με βάση λοιπόν αυτά, πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των χρόνων απόκρισης των μελετηθέντων ενζυμικών και φωτοχημικών δεικτών με τον χρόνο ζωής του τροφίμου για την επιλογή του κατάλληλου ΤΠΙ.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μελέτης διατηρησιμότητας, ο κύριος παράγοντας αλλοίωσης των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά θεωρήθηκε η ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων.

Στη συνέχεια, αφού επιλεγούν τα κατάλληλα ΤΠΙ και επισυναφθούν στις συσκευασίες του τροφίμου, γίνεται μελέτη της συσχέτισης των πειραματικών αποκρίσεων των ΤΠΙ με τις θεωρητικές (υπολογισμένες από το μαθηματικό μοντέλο) για επαλήθευση της αξιοπιστίας των ΤΠΙ.

Έπειτα, στόχο αποτέλεσε η μετάφραση της ένδειξης του ΤΠΙ σε ποιότητα και σε εναπομένονσα διάρκεια ζωής του τροφίμου.

Τέλος, έγινε συσχέτιση της θεωρητικής απόκρισης των ΤΠΙ με την θεωρητική απόκριση του φρέσκου βόειου κιμά, υπολογισμένες από το μαθηματικό μοντέλο των ΤΠΙ και του τροφίμου αντίστοιχα σε χρονο-θερμοκρασιακές συνθήκες της πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας (προσομοίωση).

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

7.2 Επιλογή κατάλληλων ΤΠΙ για την παρακολούθηση της ποιότητας των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

Για να επιλεγούν οι κατάλληλοι ΤΠΙ για την παρακολούθηση της ποιότητας του μελετώμενου τροφίμου, πρέπει να γίνει η συσχέτιση των χρόνων ζωής των ΤΠΙ με εκείνων του τροφίμου. Για να πραγματοποιηθεί η συσχέτιση μεταξύ της απόκρισης των ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ και του χρόνου ζωής του φρέσκου βόειου κιμά, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η Ενέργεια ενεργοποίησης και οι χρόνοι ζωής του τροφίμου και των ΤΠΙ να έχουν παραπλήσιες τιμές ($E_{A(ΤΠΙ)} \approx E_{A(ΤΡΟΦ)}$ και $k_{ref(ΤΠΙ)} \approx k_{ref(ΤΡΟΦ)}$). Έχει διαπιστωθεί ότι σε περίπτωση που η διαφορά των $E_{A(ΤΡΟΦ)}$ και $E_{A(ΤΠΙ)}$ είναι μικρότερη από 40kJ/mol, τότε το σφάλμα στην εκτίμηση της ποιότητας θα είναι λιγότερο από 15%, το οποίο σε αρκετές περιπτώσεις είναι αποδεκτό (Taoukis and Labuza, 1989a).

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά οι τιμές των E_A του φρέσκου βόειου κιμά (με βάση την ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων), των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου Μ και των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου Β1, όπως υπολογίστηκαν από τα μαθηματικά μοντέλα σε προηγούμενα κεφάλαια.

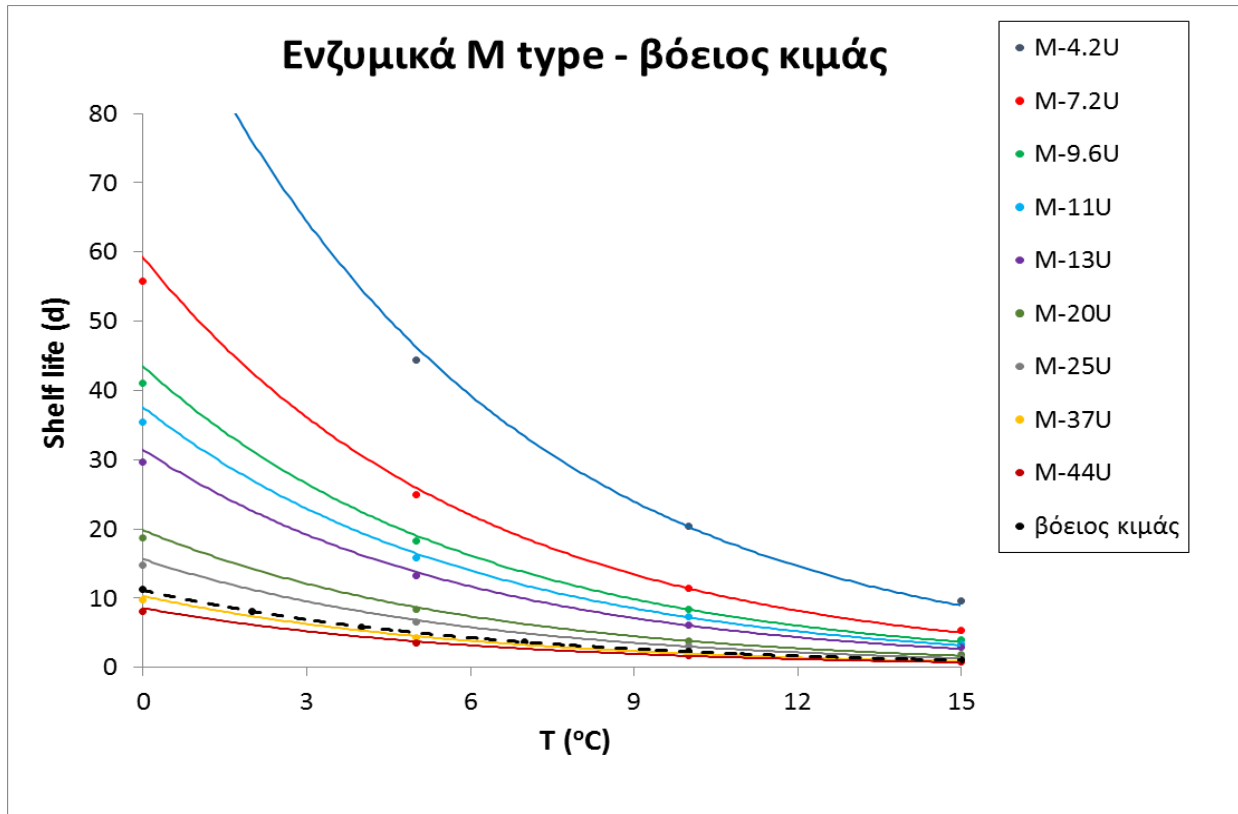
Πίνακα; 7.1: Ενέργεια ενεργοποίησης των ΤΠΙ και των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

	Φρέσκος βόειος κιμάς	Ενζυμικά ΤΠΙ τύπου Μ	Φωτοχημικά ΤΠΙ τύπου Β1
E_A (kJ/mol)	104.1	101.9	147.8

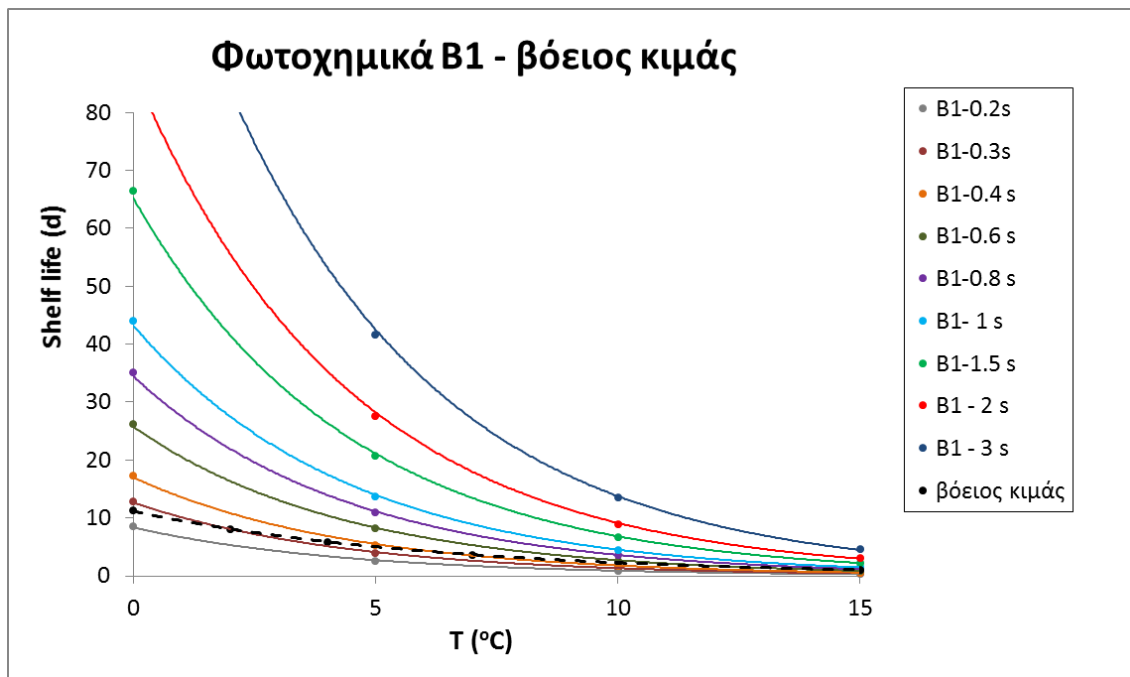
Όπως γίνεται αντιληπτό από τον Πίνακα 7.1, η ενέργεια ενεργοποίησης του τροφίμου είναι σχεδόν ίση με εκείνη των ενζυμικών ΤΠΙ. Υπάρχει όμως μια διαφορά μεταξύ της ενέργειας ενεργοποίησης του τροφίμου και των φωτοχημικών ΤΠΙ περίπου 40 kJ/mol και έτσι προκύπτει σφάλμα στην εκτίμηση ποιότητας λιγότερο από 15%, που το θεωρούμε οριακά αποδεκτό.

Έτσι λοιπόν, γίνεται πλέον η συσχέτιση των χρόνων ζωής των ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ με εκείνους του τροφίμου και παρουσιάζονται στα επόμενα διαγράμματα. Με συνεχείς γραμμές παρουσιάζονται οι χρόνοι ζωής των διαφόρων μελετώμενων ΤΠΙ και με μαύρη διακεκομμένη γραμμή οι χρόνοι ζωής του τροφίμου.

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά



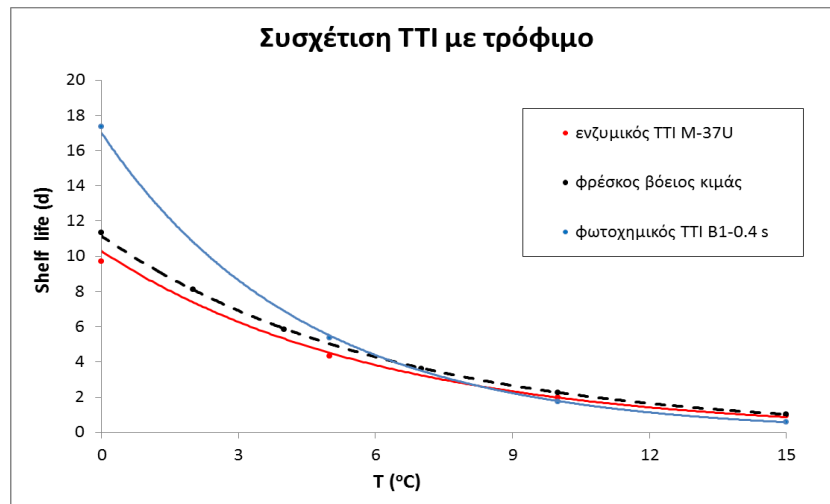
Σχήμα 7.1: Συσχέτιση θεωρητικού χρόνου ζωής ενζυμικών ΤΠΙ με το χρόνο ζωής προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά σε θερμοκρασίες ψύξης.



Σχήμα 7.2: Συσχέτιση θεωρητικού χρόνου ζωής των φωτοχημικών ΤΠΙ B1 με το χρόνο ζωής προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά σε θερμοκρασίες ψύξης.

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΤΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

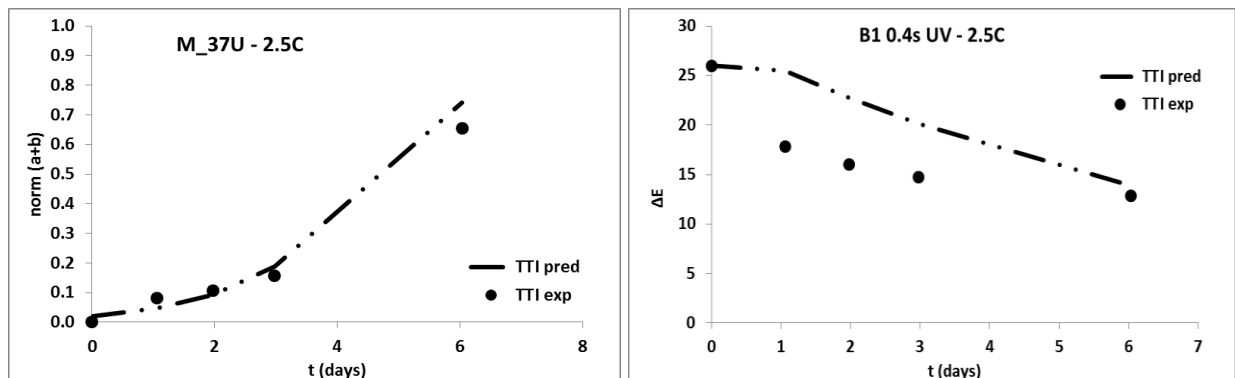
Όπως γίνεται αντιληπτό από τα παραπάνω δύο διαγράμματα, παρατηρείται ότι με τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά θα μπορούσαν να συσχετιστούν καλύτερα ο ενζυμικός δείκτης M_37U και ο φωτοχημικός δείκτης B1 0.4s UV. Σημειώνεται ότι στις κρίσιμες θερμοκρασιακές περιοχές ($>5^{\circ}\text{C}$) συνίσταται να επιλέγεται χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης που να δρα συντηρητικά για την προστασία του καταναλωτή, δηλαδή να το τρόφιμο να έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από τον δείκτη, ενώ στις χαμηλές θερμοκρασίες ($<5^{\circ}\text{C}$) ο χρόνος ζωής καθορίζεται από την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στη συσκευασία του τροφίμου



Σχήμα 7.3: Συσχέτιση θεωρητικού χρόνου ζωής του φωτοχημικού ΤΤΙ B1-0.4s UV και του ενζυμικού M_37U με το χρόνο ζωής προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά σε θερμοκρασίες ψύξης.

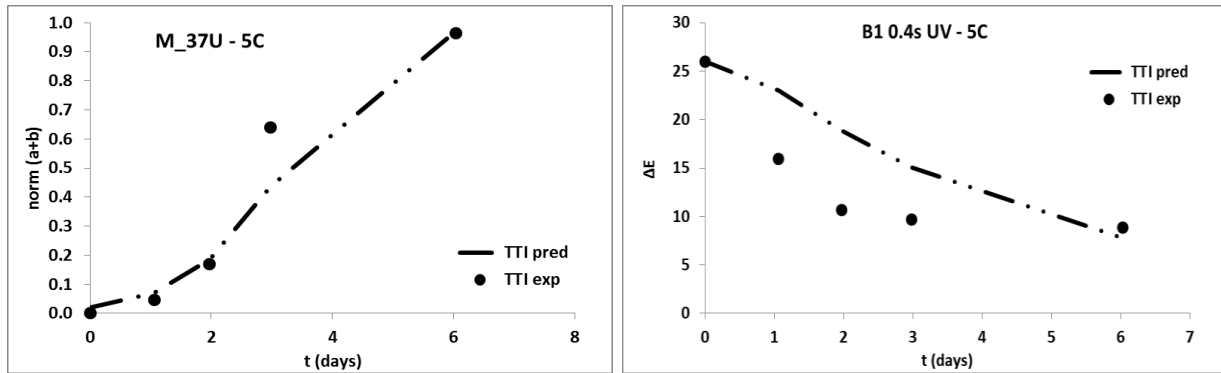
7.3 Επαλήθευση εφαρμοσιμότητας δεικτών ΤΤΙ στην παρακολούθηση ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

Οι πειραματικές αποκρίσεις των ΤΤΙ που τοποθετήθηκαν στη συσκευασία του κιμά συγκρίνονται με τις θεωρητικές αποκρίσεις των ΤΤΙ όπως προκύπτουν από τα κινητικά μοντέλα που υπολογίστηκαν στο Κεφάλαιο 4 και παρουσιάζονται στα επόμενα διαγράμματα.

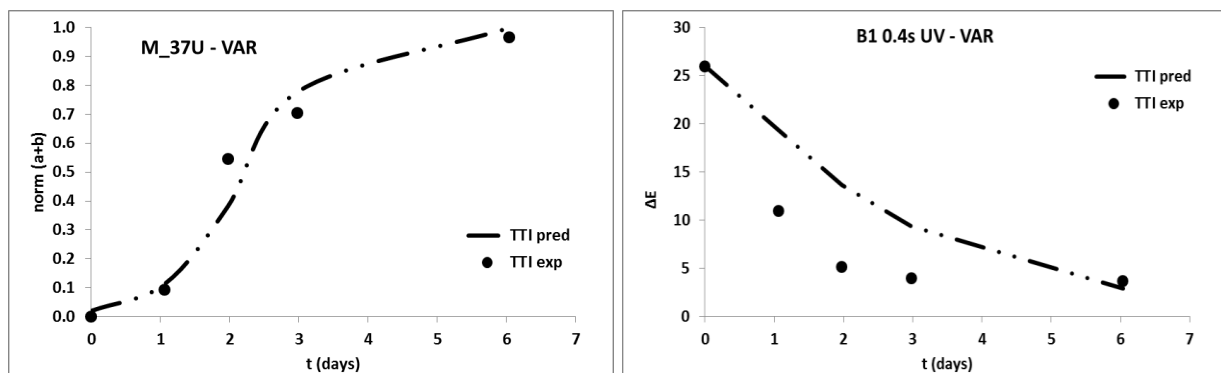


Σχήμα 7.4: Πειραματικές (TTI exp) και θεωρητικές (TTI pred) τιμές απόκρισης (α) του ενζυμικού δείκτη M_37U και (β) του φωτοχημικού δείκτη B1 0.4s UV για θερμοκρασία 2.5°C .

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΤΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 7.5: Πειραματικές (TTI exp) και θεωρητικές (TTI pred) τιμές απόκρισης (α) του ενζυμικού δείκτη M_37U και (β) του φωτοχημικού δείκτη B1 0.4s UV για θερμοκρασία 5°C.



Σχήμα 7.6: Πειραματικές (TTI exp) και θεωρητικές (TTI pred) τιμές απόκρισης (α) του ενζυμικού δείκτη M_37U και (β) του φωτοχημικού δείκτη B1 0.4s UV για θερμοκρασία 10°C.

Όπως παρατηρείται από τα παραπάνω διαγράμματα, οι πειραματικά προσδιορισμένες τιμές προσεγγίζουν σε μεγάλο βαθμό τις θεωρητικά προσδιορισμένες τιμές της απόκρισης του ενζυμικού ΤΤΙ. Αντίθετα, στην περίπτωση του φωτοχημικού δείκτη, η προσέγγιση δεν είναι τόσο καλή.

Η απόκλιση των τιμών αυτών πιθανόν υπάρχει επειδή για το κινητικό μοντέλο που υπολογίστηκε για τους φωτοχημικούς δείκτες B1 είχαν πραγματοποιηθεί πειράματα σε χρόνους έκθεσης σε UV από 0.6 έως 2s και εδώ, ο χρόνος έκθεσης του ΤΤΙ που χρησιμοποιήθηκε στην περίπτωση του φρέσκου βόειου κιμά είναι 0.4s (προεκβολή). Ένας άλλος πιθανός λόγος για τον οποίο υπάρχει απόκλιση μεταξύ θεωρητικών και πειραματικών τιμών απόκρισης είναι ο διαφορετικός συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας των υλικών πάνω στα οποία προσκολλώνται οι δείκτες. Συγκεκριμένα, όταν πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα για την εύρεση του μαθηματικού κινητικού μοντέλου της απόκρισης των ΤΤΙ (TTI pred), οι δείκτες είχαν προσκολληθεί πάνω σε γυάλινες πλάκες ενώ στην περίπτωση του τροφίμου (TTI exp), οι δείκτες τοποθετήθηκαν πάνω σε μια λεπτή μεμβράνη πλαστικού της συσκευασίας. Όπως είναι γνωστό, ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας του γυαλιού είναι μεγαλύτερος.

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

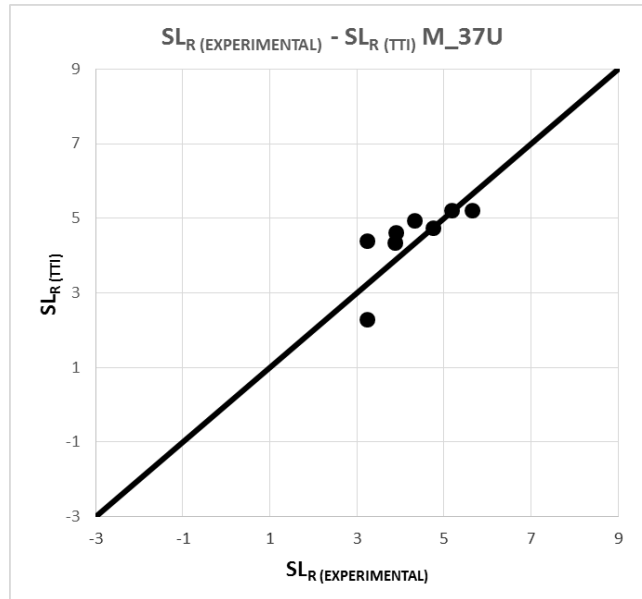
7.4 Εφαρμογή των Χρονο-θερμοκρασιακών Δεικτών για την πρόβλεψη της εναπομένουσας διάρκειας ζωής κατά τη διακίνηση των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

Ο στόχος σε αυτό το σημείο της μελέτης ήταν ο έλεγχος της ορθότητας του αλγορίθμου εφαρμογής των ΤΠΙ (Σχήμα 3.1), ο εντοπισμός των πιθανών σφαλμάτων, προκειμένου να αποτιμηθεί τελικά η δυνατότητα και η αξιοπιστία χρήσης τους ως εργαλεία πρόβλεψης της εναπομένουσας ζωής του τροφίμου σε οποιοδήποτε σημείο της ψυκτικής αλυσίδας.

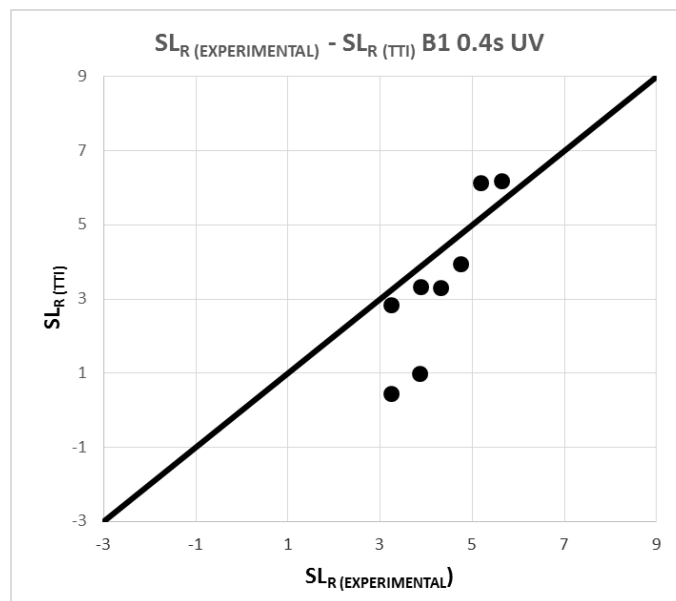
Η μεθοδολογία που υιοθετήθηκε για το σκοπό αυτό αφορούσε στην προσομοίωση διαφορετικών, αντιπροσωπευτικών συνθηκών συντήρησης του τροφίμου, δύο ισοθερμοκρασιακά σενάρια και ένα μεταβαλλόμενο. Με βάση το σχήμα του αλγορίθμου χρήσης της απόκρισης των ΤΠΙ, με ενδιάμεσα απαραίτητα στοιχεία εισαγωγής τα κινητικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, την κρίσιμη παράμετρο ποιότητας που σηματοδοτεί τη λήξη του (πληθυσμός γαλακτικών βακτηρίων) και τα όρια αποδεκτότητας για το κάθε δείκτη, η ένδειξη του ΤΠΙ μεταφράζεται τελικά σε ποιότητα και σε εναπομένουσα ζωή του τροφίμου. Η αρχή της προσέγγισης αυτής είναι η σύγκριση της προβλεπόμενης, με βάση το ΤΠΙ, εναπομένουσας ζωής του τροφίμου ($SL_{R(TPI)}$), με την πραγματική εναπομένουσα διάρκεια ζωής ($SL_{R(EXPERIMENTAL)}$) σε οποιοδήποτε σημείο της αλυσίδας διακίνησης, όπως αυτή υπολογίζεται από το πραγματικό χρονοθερμοκρασιακό ιστορικό του τροφίμου και τα επαληθευμένα κινητικά μοντέλα της ποιοτικής παραμέτρου αναφοράς (στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκε ο υπολογισμός της εναπομένουσας ζωής του τροφίμου βάσει του κινητικού μοντέλου της ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων με αρχικό μικροβιακό φορτίο ίσο με $\log N_0=4.3$ cfu/g και τελικό ίσο με $\log N_f=7$ cfu/g).

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζονται οι εναπομείναντες χρόνοι ζωής (Remaining Shelf Life) του τροφίμου σύμφωνα με την ένδειξη των ΤΠΙ ($SL_{R(TPI)}$), με τους εναπομείναντες χρόνους ζωής του τροφίμου ($SL_{R(EXPERIMENTAL)}$) βάσει του κινητικού μοντέλου ανάπτυξης γαλακτικών βακτηρίων και θερμοκρασία αναφοράς τους 4°C.

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΤΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 7.7: Συσχέτιση των πραγματικών εναπομείναντων χρόνων ζωής του φρέσκου βόειου κιμά σε μέρες ($SL_{R (EXPERIMENTAL)}$) σε θερμοκρασία αναφοράς $T_{ref}=4^{\circ}C$ με βάση την ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων με τους θεωρητικούς εναπομείναντες χρόνους ζωής του με βάση την T_{eff} από την απόκριση του ενζυμικού δείκτη M_{37U} σε δείγματα θερμοκρασίας 2.5 και $5^{\circ}C$.



Σχήμα 7.8: Συσχέτιση των πραγματικών εναπομείναντων χρόνων ζωής του φρέσκου βόειου κιμά σε μέρες ($SL_{R (EXPERIMENTAL)}$) σε θερμοκρασία αναφοράς $T_{ref}=4^{\circ}C$ με βάση την ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων με τους θεωρητικούς εναπομείναντες χρόνους ζωής του με βάση την T_{eff} από την απόκριση του φωτοχημικού δείκτη $B1 0.4s UV$ σε δείγματα θερμοκρασίας 2.5 και $5^{\circ}C$.

Όπως γίνεται αντιληπτό από τα διαγράμματα 7.7 και 7.8 η συσχέτιση μεταξύ $SL_{R (EXPERIMENTAL)}$ και $SL_{R (TTI)}$ είναι σχετικά καλή. Στην περίπτωση του ενζυμικού δείκτη M_{37U} έχουμε την

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

καλύτερη συσχέτιση. Στην περίπτωση του φωτοχημικού δείκτη, η συσχέτιση δεν είναι τόσο καλή. Τα περισσότερα σημεία βρίσκονται ωστόσο κάτω από τη διαγώνιο, και αυτό σημαίνει ότι ο εναπομείναντας χρόνος ζωής του τροφίμου είναι μεγαλύτερος από εκείνον του ΤΠΙ, δηλαδή το ΤΠΙ είναι συντηρητικό (over-prediction) και θα λήξει πριν από το τρόφιμο. Έτσι, δεν τίθεται σε κίνδυνο η ασφάλεια των καταναλωτών.

Μικρές αποκλίσεις που παρατηρούνται μεταξύ των τιμών $SL_{R (EXPERIMENTAL)}$ και $SL_{R (TPI)}$, είναι το συσσωρευτικό αποτέλεσμα μιας σειράς πηγών σφάλματος που περιλαμβάνουν την ακρίβεια της απόκρισης του ΤΠΙ, την αξιοπιστία και τα στατιστικά όρια των κινητικών μοντέλων του ΤΠΙ και των ποιοτικών δεικτών του τροφίμου. Επιπλέον, πρέπει να συνεκτιμηθεί ότι η μεταβολή του ποιοτικού δείκτη (ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων) μετράται σε σχέση με μια αρχική τιμή σε χρόνο μηδέν, η οποία αποτελεί μια μέση εκτίμηση με δεδομένη μία φυσική διακύμανση. Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν και συνυπολογίζονται στο τελικό πειραματικό εκτιμώμενο σφάλμα (Γιαννακούρου, 2003).

Συμπερασματικά, στην περίπτωση των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά προτείνεται η χρήση του εμπορικά διαθέσιμου ενζυμικού δείκτη M_{37U} , καθώς οι ενέργειες ενεργοποίησης τροφίμου και δείκτη είναι σχεδόν ίδιες, οι χρόνοι ζωής τους παραπλήσιοι και υπάρχει αρκετά καλή συσχέτιση μεταξύ $SL_{R (EXPERIMENTAL)}$ και $SL_{R (TPI)}$. Στην περίπτωση που δεν είναι διαθέσιμοι οι ενζυμικοί δείκτες αλλά μόνο οι φωτοχημικοί, η αμέσως καλύτερη επιλογή δείκτη θα ήταν εκείνη του B1 0.4s UV.

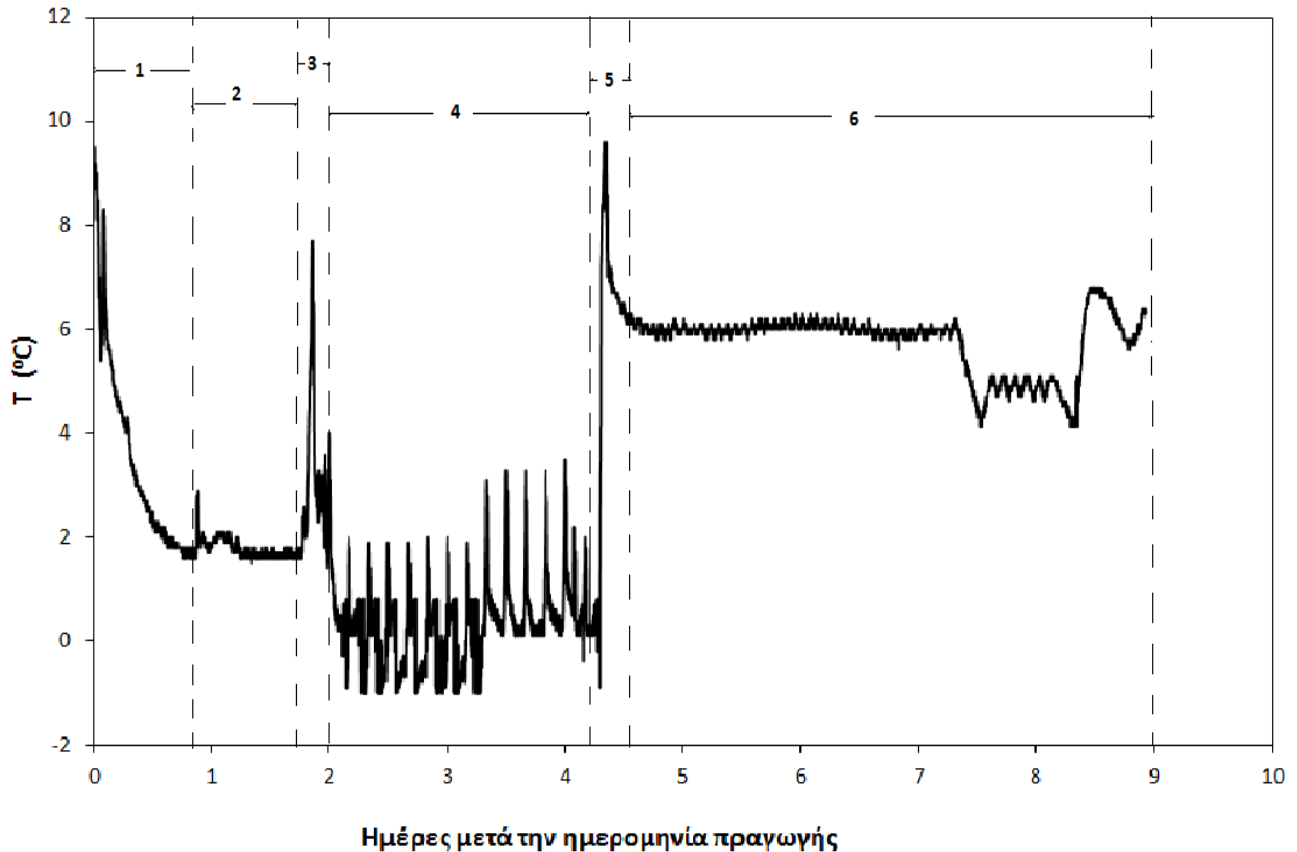
7.5 Αξιολόγηση της εφαρμογής και χρήσης των επιλεγμένων ΤΠΙ σε συνθήκες της πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά (προσομοίωση)

Στο υποκεφάλαιο αυτό γίνεται προσπάθεια συσχέτισης της θεωρητικής απόκρισης των ΤΠΙ με την θεωρητική απόκριση του φρέσκου βόειου κιμά, υπολογισμένες από τα μαθηματικά μοντέλα των ΤΠΙ και του τροφίμου αντίστοιχα σε χρονο-θερμοκρασιακές συνθήκες της πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας (προσομοίωση).

Συγκεκριμένα, σε προηγούμενο πείραμα που πραγματοποιήθηκε από το εργαστήριο Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Ε.Μ.Π. τοποθετήθηκαν data loggers σε συσκευασίες προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά από τη στιγμή που συσκευάστηκαν από τον παραγωγό και τα οποία κατέγραψαν όλο το χρονο-θερμοκρασιακό ιστορικό του τροφίμου από τη στιγμή της συσκευασίας του μέχρι και τη στιγμή της οικιακής του κατανάλωσης.

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζεται ένα αντιπροσωπευτικό χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ του μελετώμενου τροφίμου (φρέσκος βόειος κιμάς) από τη στιγμή που συσκευάστηκε μέχρι και τη στιγμή που καταναλώθηκε από τον καταναλωτή.

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΤΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά



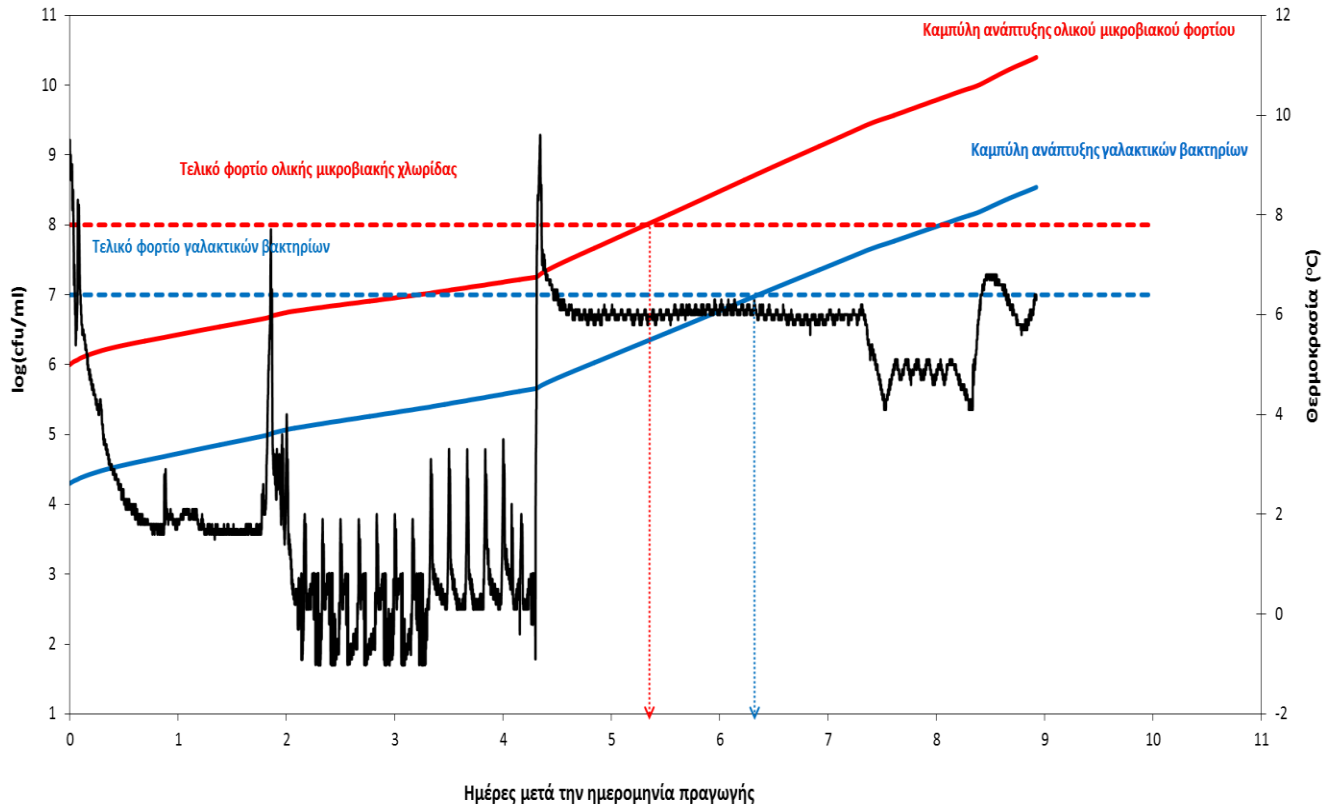
Σχήμα 7.9: Αντιπροσωπευτικό χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ του φρέσκου βόειου κιμά από τη στιγμή που συσκευάστηκε υπό συνθήκες MAP μέχρι και τη στιγμή που καταναλώθηκε από τον καταναλωτή.

Όπως παρατηρείται και στο Σχήμα 7.9, το χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ του τροφίμου χωρίζεται σε 6 περιοχές-φάσεις.

- **Φάση 1:** Μονάδα μεταποίησης κρέατος (production warehouse). Εδώ συσκευάζεται ο φρέσκος βόειος κιμάς υπό συνθήκες MAP. Επίσης, εδώ προτείνεται η τοποθέτηση του κατάλληλου χρονο-θερμοκρασιακού δείκτη από τον παραγωγό.
- **Φάση 2:** Κεντρική αποθήκη διανομής (distribution warehouse). Εδώ, τα προϊόντα μεταφέρονται υπό ψύξη και αποθηκεύονται στην κεντρική αποθήκη διανομής.
- **Φάση 3:** Μεταφορά από την αποθήκη στο σούπερ μάρκετ (transportation to the supermarket). Εδώ, τα προϊόντα μεταφέρονται υπό ψύξη στο σούπερ μάρκετ.
- **Φάση 4:** Αποθήκευση των προϊόντων στα υπερψυγεία του σουπερμάρκετ και έκθεση τους στους καταναλωτές (retail display).
- **Φάση 5:** Μεταφορά στο οικιακό ψυγείο του καταναλωτή (transportation by consumer). Εδώ, τα προϊόντα μεταφέρονται από τον καταναλωτή χωρίς ψύξη στην οικία του και αποθηκεύονται στο οικιακό του ψυγείο.
- **Φάση 6:** Αποθήκευση των προϊόντων στο οικιακό ψυγείο του καταναλωτή μέχρι της στιγμή της κατανάλωσής τους (consumer domestic refrigeration).

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

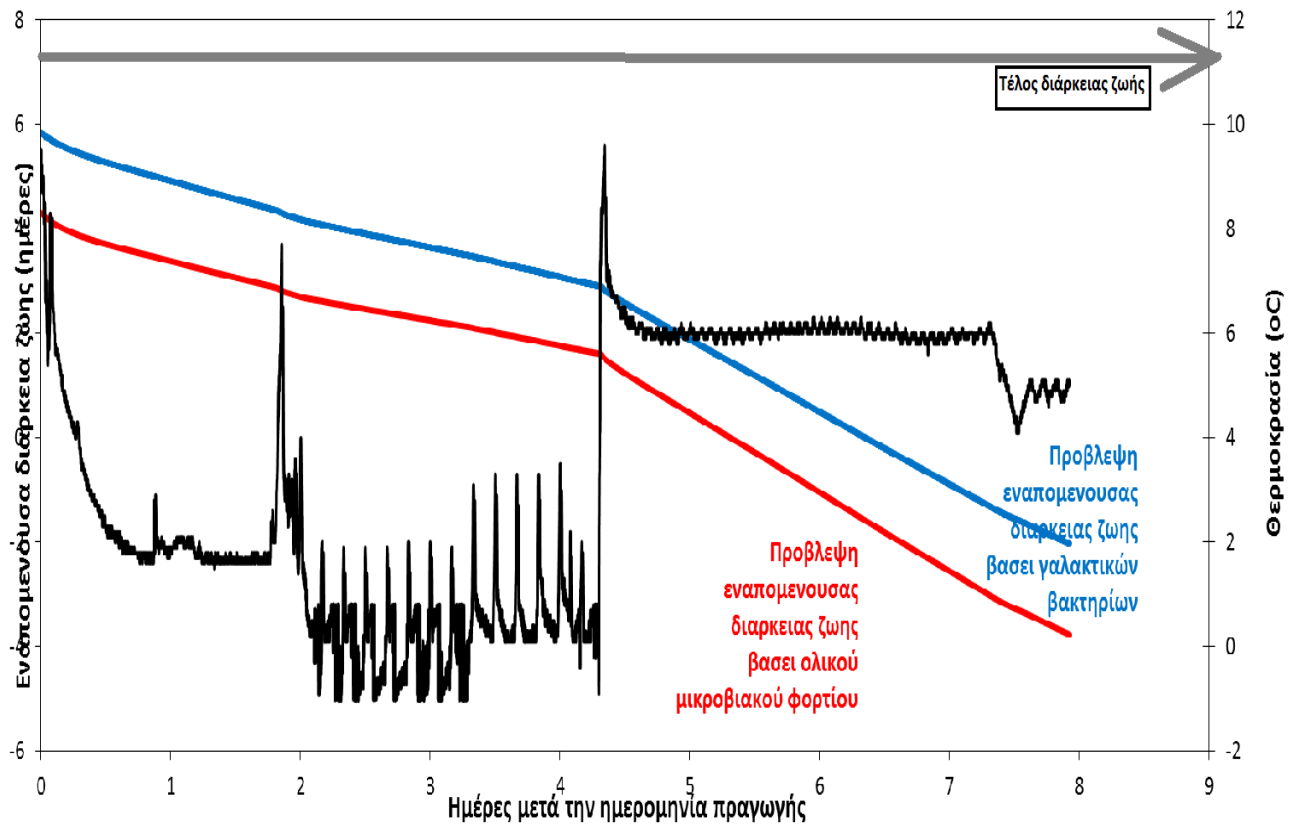
Στη συνέχεια, με βάση αυτό το χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ, υπολογίζονται οι καμπύλες ανάπτυξης του ολικού μικροβιακού φορτίου και των γαλακτικών βακτηρίων από το μαθηματικό μοντέλο όπως προέκυψε στο κεφάλαιο 4.



Σχήμα 7.10: Καμπύλες ανάπτυξης του ολικού μικροβιακού φορτίου και των γαλακτικών βακτηρίων σε χρονο-θερμοκρασιακές συνθήκες πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας (προσομοίωση)

Έπειτα, με βάση αυτό το χρονο-θερμοκρασιακό προφίλ υπολογίζονται οι προβλεπόμενες εναπομείναντες χρόνοι ζωής (SL_R) του τροφίμου με βάση την ανάπτυξη της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων και παρουσιάζονται στο επόμενο διάγραμμα.

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά



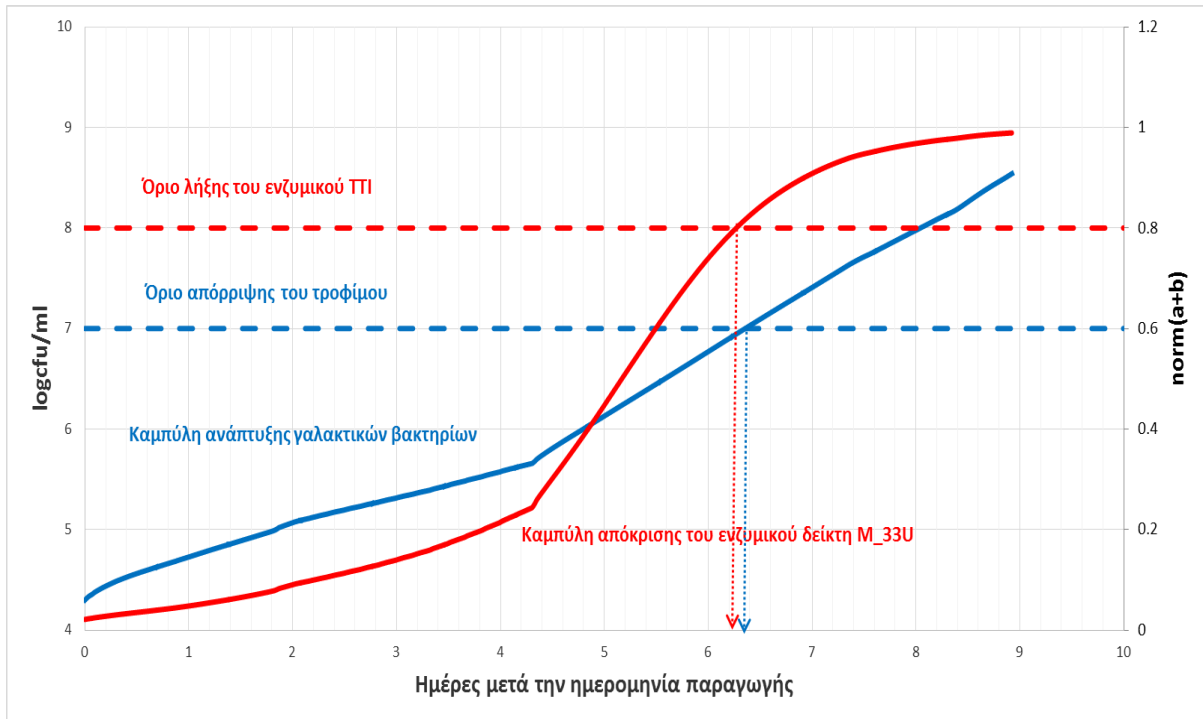
Σχήμα 7.11: Πρόβλεψη εναπομένουσας διάρκειας ζωής του τροφίμου βάσει ολικού μικροβιακού φορτίου και βάσει γαλακτικών βακτηρίων σε χρονο-θερμοκρασιακές συνθήκες πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας (προσομοίωση).

Τέλος, γίνεται προσπάθεια επιλογής του κατάλληλου χρονο-θερμοκρασιακού δείκτη για τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά που μελετήθηκαν. Γίνεται χρήση των μαθηματικών μοντέλων πρόβλεψης της απόκρισης των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου M και των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1, όπως προέκυψαν στο κεφάλαιο 5.

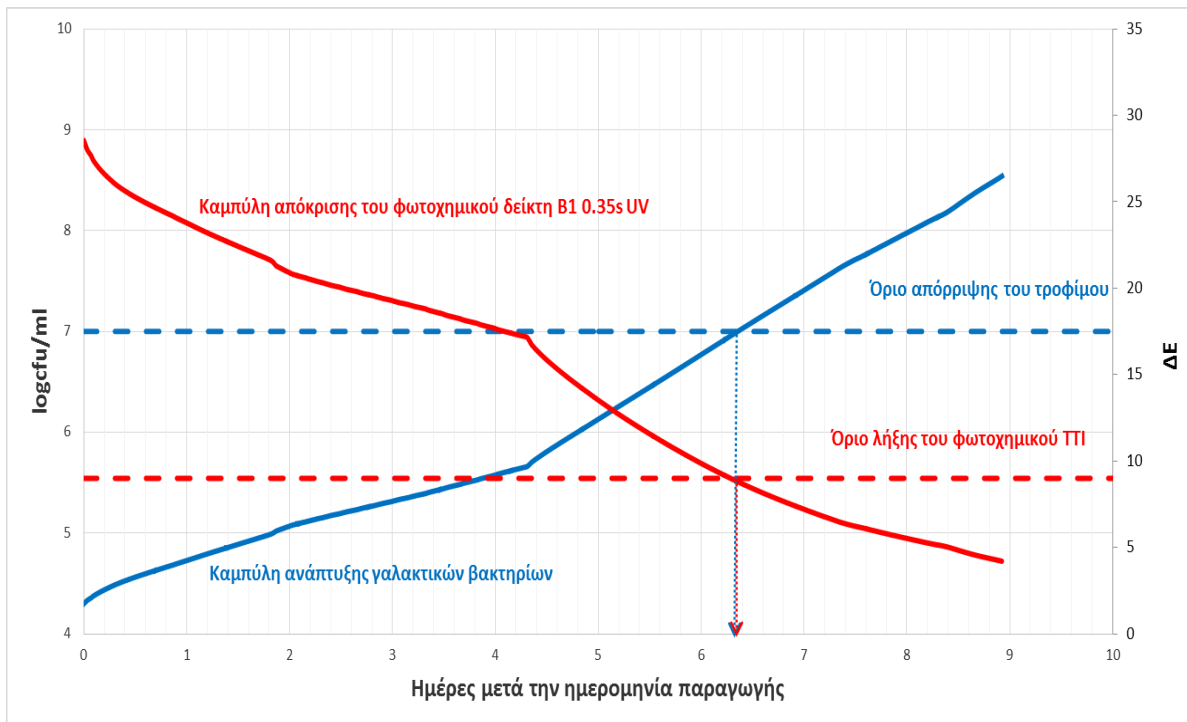
Βρέθηκε ότι ο πιο κατάλληλος ενζυμικός χρονο-θερμοκρασιακός είναι ο M_33U και ο πιο κατάλληλος φωτοχημικός χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης είναι ο B1 0.35s UV. Επιλέχθηκαν αυτοί οι δείκτες επειδή όπως αναφέρθηκε και παραπάνω έχουν παραπλήσιες ενέργειες ενεργοποίησης και έχουν παραπλήσιες διάρκειες ζωής με εκείνες του τροφίμου. Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι προτιμάται η διάρκεια ζωής του ΤΠΙ να είναι μικρότερη από εκείνη του τροφίμου για την ασφάλεια των καταναλωτών, δηλαδή ο δείκτης δρα συντηρητικά.

Σημειώνεται ότι ο ενζυμικός δείκτης M_33U κρίνεται καταλληλότερος από τον φωτοχημικό δείκτη B1 0.35s UV γιατί η ενέργεια ενεργοποίησης του ενζυμικού έχει πολύ πιο κοντινή τιμή με εκείνη του τροφίμου και επειδή ο χρόνος λήξης του δείκτη έχει πιο κοντινή τιμή με εκείνη του τροφίμου.

Κεφάλαιο 7: Διερεύνηση της χρήσης επιλεγμένων ΤΠΙ για τον έλεγχο της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά



Σχήμα 7.12: Συσχέτιση απόκρισης του ενζυμικού ΤΠΙ M_33U με την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά σε χρονο-θερμοκρασιακές συνθήκες πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας (προσομοίωση).



Σχήμα 7.13: Συσχέτιση απόκρισης του φωτοχημικού ΤΠΙ B1 0.35s UV με την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά σε χρονο-θερμοκρασιακές συνθήκες πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας (προσομοίωση)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η κινητική μελέτη της απόκρισης ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ και η επιλογή των κατάλληλων δεικτών για την παρακολούθηση της ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά με σκοπό την εφαρμογή τους στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας.

Συγκεκριμένα, στο πρώτο μέρος της παρούσας διπλωματικής, πραγματοποιήθηκε κινητική μελέτη διαφόρων ενζυμικών και φωτοχημικών ΤΠΙ σε θερμοκρασίες ψύξης και κατάψυξης και προσδιορίστηκαν οι συναρτήσεις απόκρισης και τα κινητικά χαρακτηριστικά των δεικτών αυτών.

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας πραγματοποιήθηκε μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά, με απώτερο σκοπό την επιλογή κατάλληλων δεικτών για την παρακολούθηση της ποιότητας του τροφίμου αυτού στην ψυκτική αλυσίδα.

Κινητική μελέτη ενζυμικών και φωτοχημικών χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών

- Ενζυμικά ΤΠΙ

Για τον προσδιορισμό των κινητικών χαρακτηριστικών των ενζυμικών ΤΠΙ πραγματοποιήθηκε κατάλληλη επεξεργασία της σιγμοειδούς καμπύλης $F(X_C)$ στο υπολογιστικό πρόγραμμα SigmaPlot, οπότε προέκυψαν οι σταθερές k_1 , k_2 για κάθε θερμοκρασία.

Στη συνέχεια, με τη βοήθεια του προγράμματος Systat 10.2 και με χρήση της εξίσωσης 5.5 προκύπτουν τα κινητικά χαρακτηριστικά (E_A , k_{1ref} , k_{2ref} , R^2) κάθε ενζυμικού δείκτη (Πίνακας 5.23).

Παρατηρείται ότι έχουν όλα τα ΤΠΙ αρκετά υψηλό συντελεστή προσαρμογής R^2 , το οποίο αυξάνει την αξιοπιστία των παραπάνω αποτελεσμάτων. Ακόμη, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ενζύμου στο ΤΠΙ, μειώνονται οι σταθερές k_1 και k_2 (είναι αντιστρόφως ανάλογες του ρυθμού απόκρισης), το οποίο είναι αναμενόμενο αφού όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση του ενζύμου στο ΤΠΙ, τόσο πιο γρήγορα θα προχωράει και η ενζυμική αντίδραση. Τέλος, όπως φαίνεται οι ενέργειες ενεργοποίησης E_A κυμαίνονται από 94.6 kJ/mol μέχρι 108.2 kJ/mol, τιμές που είναι παραπλήσιες με εκείνες που βρέθηκαν από παρόμοιες μελέτες στη βιβλιογραφία (Μεταξά, 2009, Λουκιανού, 2011, Τούλη, 2013, Giannoglou et al., 2014).

Κεφάλαιο 8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

Ακολούθως, πραγματοποιείται έλεγχος της αξιοπιστίας των κινητικών μοντέλων των διαφόρων ΤΠΙ μέσω της επεξεργασίας των μετρήσεων πειράματος που πραγματοποιείται σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες, συγκρίνοντας τις προβλεπόμενες και τις πειραματικές σταθερές απόκρισης των ΤΠΙ. Όπως παρατηρείται από την επεξεργασία αυτή, υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενης και πειραματικής απόκρισης με μικρό σφάλμα.

Έπειτα, με τη βοήθεια των κινητικών χαρακτηριστικών, υπολογίστηκε η πειραματική διάρκεια ζωής κάθε ενζυμικού δείκτη (Πίνακας 5.52). Όπως παρατηρείται, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ενζύμου στον ενζυμικό δείκτη και όσο αυξάνεται η θερμοκρασία διεξαγωγής του πειράματος, τόσο μειώνεται η διάρκεια ζωής του δείκτη, το οποίο είναι αναμενόμενο γιατί σε υψηλότερες θερμοκρασίες και υψηλότερες συγκεντρώσεις ενζύμου, προχωράει γρηγορότερα η ενζυμική αντίδραση ενζύμου – υποστρώματος.

Στη συνέχεια, προσδιορίζεται το συνολικό μαθηματικό μοντέλο των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου Μ, το οποίο περιγράφεται από την εξίσωση 5.6. Η συγκεκριμένη εξίσωση περιγράφει την εξάρτηση της απόκρισης των ενζυμικών ΤΠΙ τύπου Μ από το χρόνο αποθήκευσης, τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση του ενζύμου του δείκτη. Με τη μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης (Systat 10.2) υπολογίστηκαν οι παράμετροι της εξίσωσης. Έτσι λοιπόν, προκύπτει το εξής τελικό συνολικό μαθηματικό μοντέλο:

$$X = \frac{1}{1 + \exp \left(\frac{293.637 \cdot C^{-1.029} \cdot \exp \left[12267.7 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{273.16} \right) \right] \cdot t}{125.946 \cdot C^{-1.171} \cdot \exp \left[12267.7 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{273.16} \right) \right]} \right)}$$

Έπειτα, μέσω της παραπάνω εξίσωσης υπολογίστηκε η θεωρητική διάρκεια ζωής κάθε ενζυμικού δείκτη (Πίνακας 5.55) και όλοι μαζί παρουσιάζονται συνολικά σε διάγραμμα (Σχήμα 5.64), όπου στα σημεία κάθε δείκτη έχει προσαρμοσθεί εκθετική καμπύλη.

Ακολούθως, πραγματοποιείται μελέτη αξιοπιστίας των μαθηματικών μοντέλων και έτσι κατασκευάζονται τα διαγράμματα συσχέτισης πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του κάθε ενζυμικού δείκτη (Σχήμα 5.68 – 5.76) και υπολογίζεται ο παράγοντας ακρίβειας (accuracy factor) πάνω στον οποίο βασίστηκε η σύγκριση (Πίνακας 5.62). Σε όλους τους δείκτες ο παράγοντας ακρίβειας παίρνει τιμές πολύ κοντά στο 1, το οποίο μεταφράζεται ότι υπάρχει πολύ καλή συμφωνία μεταξύ πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής.

• Φωτοχημικά ΤΠΙ

Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Excel και με εύρεση της μαθηματικής καμπύλης (εκθετική) για κάθε θερμοκρασία ξεχωριστά, υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απόκρισης k.

Κεφάλαιο 8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

Στη συνέχεια, γίνεται χρήση του γραμμικοποιημένου μοντέλου Arrhenius για τον προσδιορισμό των κινητικών χαρακτηριστικών (E_A , k_{ref} , R^2) όλων των φωτοχημικών ΤΠΙ (Πίνακας 5.48).

Παρατηρείται ότι έχουν όλα τα ΤΠΙ αρκετά υψηλό συντελεστή προσαρμογής R^2 , το οποίο αυξάνει την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Ακόμη, παρατηρείται ότι όσο μειώνεται ο χρόνος έκθεσης του ΤΠΙ στην υπεριώδη ακτινοβολία, τόσο αυξάνεται ο ρυθμός k της απόκρισης, δηλαδή τόσο πιο γρήγορα πραγματοποιείται η αντίδραση μεταφοράς ριζών. Τέλος, όπως φαίνεται οι ενέργειες ενεργοποίησης E_A κυμαίνονται από 132.2 kJ/mol μέχρι 170.3 kJ/mol, τιμές που είναι παραπλήσιες με εκείνες που βρέθηκαν από παρόμοιες μελέτες στη βιβλιογραφία (Μεταξά, 2009, Πλατάκου, 2010, Λουκιανού, 2011, Tsironi et al., 2011, Τούλη, 2013, Brizio, 2014, Giannoglou et al., 2014).

Ακολούθως, πραγματοποιείται έλεγχος της αξιοπιστίας των κινητικών μοντέλων των διαφόρων ΤΠΙ μέσω της επεξεργασίας των μετρήσεων πειράματος που πραγματοποιείται σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες, συγκρίνοντας τις προβλεπόμενες και τις πειραματικές σταθερές απόκρισης των ΤΠΙ. Όπως παρατηρείται από την επεξεργασία αυτή, υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενης και πειραματικής απόκρισης με μικρό σφάλμα.

Έπειτα, με τη βοήθεια των κινητικών χαρακτηριστικών, υπολογίστηκε η πειραματική διάρκεια ζωής κάθε ενζυμικού δείκτη (Πίνακας 5.53). Όπως παρατηρείται, όσο μειώνεται ο χρόνος έκθεσης του φωτοχημικού δείκτη στην υπεριώδη ακτινοβολία και όσο αυξάνεται η θερμοκρασία διεξαγωγής του πειράματος, τόσο μειώνεται η διάρκεια ζωής του δείκτη, το οποίο είναι αναμενόμενο γιατί σε υψηλότερες θερμοκρασίες και σε μικρότερους χρόνους έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία, προχωράει γρηγορότερα η αντίδραση μεταφοράς ριζών που λαμβάνει χώρα.

Στη συνέχεια, προσδιορίζεται τα συνολικά μαθηματικά μοντέλα των φωτοχημικών ΤΠΙ τύπου B1, B1 Snowflake και BL, τα οποία περιγράφονται από την εξίσωση 5.8. Το συγκεκριμένο μαθηματικό μοντέλο περιγράφει την εξάρτηση του ρυθμού απόκρισης των φωτοχημικών ΤΠΙ από τη θερμοκρασία T (K) και το χρόνο έκθεσης του δείκτη στην υπεριώδη ακτινοβολία t_c (sec). Με τη μέθοδο της μη γραμμικής παλινδρόμησης (Systat 10.2) υπολογίστηκαν οι παράμετροι της εξίσωσης. Έτσι λοιπόν, προκύπτουν τα εξής τελικά συνολικά μαθηματικά μοντέλα:

$$\Delta E = 31.728 \cdot t_c^{0.102} \cdot \exp \left(- \left(0.096 \cdot t_c^{-0.935} \cdot \exp \left(-17777.6 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{278.16} \right) \right) \right) \cdot t \right) - B1$$

$$\Delta E = 31.479 \cdot t_c^{0.034} \cdot \exp \left(- \left(0.11 \cdot t_c^{-0.123} \cdot \exp \left(-19088.9 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{278.16} \right) \right) \right) \cdot t \right) - B1_Snowflake$$

$$\Delta E = 31.834 \cdot t_c^{0.026} \cdot \exp\left(-\left(0.15 \cdot t_c^{-0.993} \cdot \exp\left(-18715.5 \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{278.16}\right)\right)\right)\right) \cdot t - BL$$

Έπειτα, μέσω των παραπάνω εξισώσεων υπολογίστηκε η θεωρητική διάρκεια ζωής κάθε φωτοχημικού δείκτη (Πίνακας 5.57 – 5.59) και όλοι μαζί παρουσιάζονται συνολικά σε διαγράμματα (Σχήμα 5.65 – 5.67), όπου στα σημεία κάθε δείκτη έχει προσαρμοσθεί εκθετική καμπύλη.

Ακολούθως, πραγματοποιείται μελέτη αξιοπιστίας των μαθηματικών μοντέλων και έτσι κατασκευάζονται τα διαγράμματα συσχέτισης πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής του κάθε φωτοχημικού δείκτη (Σχήμα 5.77 – 5.83) και υπολογίζεται ο παράγοντας ακρίβειας (accuracy factor) πάνω στον οποίο βασίστηκε η σύγκριση (Πίνακας 5.63 – 5.65). Σε όλους τους δείκτες ο παράγοντας ακρίβειας παίρνει τιμές πολύ κοντά στο 1, το οποίο μεταφράζεται ότι υπάρχει πολύ καλή συμφωνία μεταξύ πειραματικών και θεωρητικών χρόνων ζωής. Σημειώνεται εντούτοις ότι οι δείκτες του μοντέλου B1 έχουν καλύτερη συσχέτιση.

Μελέτη της μικροβιολογικής ανάπτυξης σε νωπό βόειο κιμά

Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 2 σειρές πειραμάτων. Στην πρώτη σειρά πειραμάτων έγινε μελέτη της διατηρησιμότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά, δύο διαφορετικών προελεύσεων (Γαλλίας και Βελγίου) συσκευασμένου υπό συνθήκες MAP. Με επεξεργασία των αποτελεσμάτων αναπτύχθηκε μαθηματικό μοντέλο πρόβλεψης της ανάπτυξης γαλακτικών βακτηρίων σε νωπό βόειο κιμά Βελγίου, πάνω στο οποίο στηρίχθηκε και η επιλογή του κατάλληλου δείκτη μετέπειτα. Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκε μελέτη της υπερκείμενης αέριας φάσης (head space) της συσκευασίας στη διατηρησιμότητα προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά.

- **Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στην ποιότητα και διάρκεια ζωής νωπού βόειου κιμά διαφορετικής προέλευσης**

Πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε ισοθερμοκρασιακές και σε μεταβαλλόμενες συνθήκες και προσδιορίστηκαν το μικροβιακό φορτίο, το pH, η αέριας σύσταση της συσκευασίας και το χρώμα των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά.

Από τη μελέτη αυτή προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Ο κυρίαρχος αλλοιογόνος μικροοργανισμός στο προϊόν είναι τα γαλακτικά βακτήρια, όπως επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία (Borch et al., 1996, Devlieghere et al., 1998b, Devlieghere et al., 2000a, Guerrero και Chabela, 1999, Luño et al., 2000, Nychas και Drosinos, 1999, Nychas et al., 2008, Patsias et al., 2006, Patsias et al., 2008, Samelis et al., 2000, Soldatou et al., 2009, Sørheim et al., 1997, Βαϊκούση, 2009, Γαβριήλ, 2009, Gogou et al., 2006, Καραμπέρη, 2010).

Κεφάλαιο 8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

- Όσον αφορά τη μικροβιακή ανάπτυξη, παρατηρήθηκε ότι η υψηλότερη θερμοκρασία οδήγησε σε ταχύτερη ανάπτυξη μικροοργανισμών. Επίσης, στα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου παρατηρείται ότι η ανάπτυξη των μικροοργανισμών ξεκινά από χαμηλότερο φορτίο από ότι τα Γαλλίας ενώ έχουν παραπλήσιο τελικό μικροβιακό φορτίο.
- Όσον αφορά το pH, παρατηρείται ότι υπάρχει μια τάση μείωσης του με το χρόνο συντήρησης που οφείλεται στην παραγωγή γαλακτικού οξέος. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες συντήρησης παρουσιάζεται εντονότερη μείωσή του. Ακόμη, γίνεται αντιληπτό ότι στα προϊόντα βόειου κιμά Γαλλίας το pH παίρνει χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με εκείνα του Βελγίου.
- Όσον αφορά την αέρια σύσταση, παρατηρείται ότι με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σταδιακά το O₂ με ταυτόχρονη αύξηση του CO₂, που αποτελεί ένδειξη της μικροβιακής αλλοίωσης του προϊόντος λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών (κατανάλωση O₂ και παραγωγή CO₂). Επίσης, η μεταβολή της σύστασης των αερίων είναι εντονότερη και ταχύτερη σε υψηλότερες θερμοκρασίες και στα δείγματα με Γαλλική προέλευση.
- Όσον αφορά τη μεταβολή του χρώματος, με την πάροδο του χρόνου, μειώνεται σταδιακά η ερυθρότητα του κρέατος. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω υπεύθυνα για τον αποχρωματισμό του κρέατος θεωρούνται τα βακτήρια, τα οποία καταναλώνοντας το οξυγόνο, μειώνουν τη μερική πίεση του αερίου αυτού στην επιφάνεια του κρέατος, με αποτέλεσμα να ευνοείται ο σχηματισμός της μεταμυογλοβίνης και να εμφανίζεται αποχρωματισμός. Ακόμη, παρατηρείται ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας συντήρησης, η υποβάθμιση του χρώματος γίνεται πιο έντονη. Διαπιστώθηκε ακόμη ότι η ερυθρότητα στο εξωτερικό και το εσωτερικό της κρεατόμαζας διέφεραν, σε κάποιες περιπτώσεις σημαντικά. Συγκεκριμένα, ο αποχρωματισμός της κρεατόμαζας είναι συγκριτικά πιο έντονος στο εξωτερικό της, ενώ, όσο πιο υψηλή είναι η θερμοκρασία συντήρησης, τόσο πιο έντονη είναι η διαφορά ερυθρότητας μεταξύ εξωτερικής και εσωτερικής επιφάνειας. Τέλος, γίνεται αντιληπτό πως η ερυθρότητα στα προϊόντα βόειου κρέατος Βελγίου είναι σε γενικές γραμμές μεγαλύτερη, δηλαδή η κρεατόμαζα έχει πιο έντονο κόκκινο χρώμα, συγκριτικά με των προϊόντων βόειου κρέατος Γαλλίας
- Όσον αφορά τον οργανοληπτικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε σε επιλεγμένες θερμοκρασίες, βρέθηκε πως το όριο απόρριψης για τα γαλακτικά βακτήρια είναι 7 λογάριθμοι ($\log_{10} \text{cfu/g}=7$) και για την ολική μικροβιακή χλωρίδα οι 8 λογάριθμοι ($\log_{10} \text{cfu/g}=8$), το οποίο επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία (Borch et al., 1996, Devlieghere et al., 1998b, Devlieghere et al., 2000a, Guerrero και Chabela, 1999, Luño et al., 2000, Nychas και Drosinos, 1999, Nychas et al., 2008, Patsias et al., 2006, Patsias et al., 2008, Samelis et al., 2000, Soldatou et al., 2009, Sørheim et al., 1997, Βαϊκούση, 2009, Γαβριήλ, 2009, Gogou et al., 2006, Καραμπέρη, 2010).

Κεφάλαιο 8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

Στη συνέχεια, αναπτύχθηκε το μαθηματικό μοντέλο πρόβλεψης της μικροβιολογικής αλλοίωσης των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά Βελγίου. Αφού έγινε προσομοίωση των μικροβιολογικών μετρήσεων στο μοντέλο Baranyi, προέκυψαν οι ρυθμοί ανάπτυξης για κάθε θερμοκρασία (Πίνακας 6.10). Όπως παρατηρείται, με αύξηση της θερμοκρασίας αποθήκευσης, αυξάνεται ο εκθετικός ρυθμός ανάπτυξης, τόσο της ολικής μικροβιακής χλωρίδας όσο και των γαλακτικών βακτηρίων, δηλαδή το τρόφιμο αλλοιώνεται πιο γρήγορα.

Έπειτα, με τη βοήθεια των ρυθμών αυτών των γαλακτικών βακτηρίων και κάνοντας χρήση της εξίσωσης 6.1, προσδιορίζονται οι πειραματικοί χρόνοι ζωής του προϊόντος στις μελετώμενες θερμοκρασίες (Πίνακας 6.11). Χρησιμοποιώντας το γραμμικοποιημένο μοντέλο Arrhenius, υπολογίζονται τα κινητικά χαρακτηριστικά του τροφίμου (E_A , k_{ref}) (Πίνακας 6.12) και έτσι το μαθηματικό μοντέλο πρόβλεψης την ανάπτυξης γαλακτικών βακτηρίων που προκύπτει παίρνει τη μορφή:

$$\log N = 4.3 + \left(0.462 + \exp \left(12521 \cdot \left(\frac{1}{277.16} - \frac{1}{T} \right) \right) \right) \cdot t$$

Κατασκευάζεται επίσης το διάγραμμα των θεωρητικών χρόνων ζωής σε διάφορες θερμοκρασίες συντήρησης (Σχήμα 6.48) και στα σημεία προσαρμόζεται εκθετική καμπύλη. Σημειώνεται ότι στους 4°C, που θεωρείται η συνήθης θερμοκρασία συντήρησης των οικιακών ψυγείων, η διάρκεια ζωής του τροφίμου είναι 6 ημέρες.

Ακολούθως, γίνεται επαλήθευση του μαθηματικού μοντέλου σε μεταβαλλόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες και συγκρίνονται οι πειραματικοί με τους θεωρητικούς εκθετικούς ρυθμούς ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων και της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (Πίνακας 6.13). Παρατηρείται ότι υπάρχει αρκετά καλή συσχέτιση μεταξύ τους.

- **Επίδραση της αναλογίας μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης στην εμπορική διάρκεια ζωής του προϊόντος.**

Μελετήθηκαν δείγματα των 100g, των 250g και των 500g νωπού βόειου κιμά. Η συσκευασία και στις τρεις περιπτώσεις ήταν η ίδια και άλλαζε μόνο η υπερκείμενη αέρια φάση και η ποσότητα του κιμά. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε για δείγματα που προέρχονταν από 4 διαφορετικούς παραγωγούς Α, Β, Γ και Δ και ήταν όλα Γαλλικής προέλευσης. Μετρήθηκαν το μικροβιακό φορτίο, το pH, η αέρια σύσταση της συσκευασίας, το χρώμα των δειγμάτων ενώ πραγματοποιήθηκε και οργανοληπτική αξιολόγηση.

Από τη μελέτη αυτή προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

Παρατηρήθηκε ότι η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης δεν επιδρά σημαντικά στην ποιότητα του τροφίμου. Συγκεκριμένα, φάνηκε ότι εφόσον εξασφαλισθεί μια τροποποιημένη ατμόσφαιρα MAP που να είναι ικανή να εξασφαλίσει την απαιτούμενη διάρκεια ζωής του συγκεκριμένου προϊόντος, οι μεταβολές της υπερκείμενης αέριας φάσης δεν επιφέρουν σημαντικές διαφορές στην ποιότητα του τροφίμου.

Κεφάλαιο 8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

Εντούτοις, αξίζει να σημειωθεί ότι βρέθηκαν σημαντικές διαφορές του χρώματος τόσο της εξωτερικής όσο και της εσωτερικής επιφάνειας της κρεατόμαζας του φρέσκου βόειου κιμά μεταξύ των παραγωγών. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι η αρχική μέτρηση της παραμέτρου ερυθρότητας χρώματος (a-value) κυμαινόταν στα ίδια περίπου επίπεδα τιμών για τα δείγματα των παραγωγών Α, Β και Γ ενώ είχε υψηλότερη τιμή για τα δείγματα του παραγωγού Δ. Η υψηλή αυτή τιμή της ερυθρότητας δεν μειώθηκε σημαντικά με το χρόνο, παρά την σημαντική μικροβιολογική αλλοίωση του τροφίμου.

Τέλος, παρατηρήθηκε έντονη διαφορά της ερυθρότητας μεταξύ εσωτερικής και εξωτερικής επιφάνειας της κρεατόμαζας ορισμένων παραγωγών (πιο έντονα στον παραγωγό Δ). Το φαινόμενο της αμαύρωσης του κρεατοσκευάσματος στο εσωτερικό του αποδίδεται στην απουσία O_2 . Η απουσία O_2 αποδίδεται στην διαδικασία και στον εξοπλισμό της άλεσης. Όταν η διεργασία της άλεσης οδηγεί στην παραγωγή ενός κρεατοσκευάσματος με μεγάλη συνοχή, το διαλυμένο O_2 ελαχιστοποιείται, με αποτέλεσμα την αμαύρωση.

Όσον αφορά την οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων, παρατηρήθηκε κι εδώ, ότι ενώ η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης δεν επιδρά σημαντικά στην ποιότητα του προϊόντος, βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στη βαθμολογία του χρώματος του νωπού προϊόντος και της γεύσης μαγειρεμένου προϊόντος μεταξύ των διαφορετικών παραγωγών.

Επιλογή κατάλληλου χρονο-θερμοκρασιακού δείκτη για την παρακολούθηση της ποιότητας των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά

Αρχικά, για να μπορέσει να γίνει συσχέτιση των δεικτών και του τροφίμου, συγκρίνονται οι ενέργειες ενεργοποίησής τους και οι χρόνοι ζωής τους, καθώς απαραίτητη προϋπόθεση είναι να έχουν παραπλήσιες τιμές ($E_{A(TPOF)} = E_{A(TT)}$ και $k_{ref(TPOF)} = k_{ref(TT)}$).

Όπως γίνεται αντιληπτό από τον Πίνακα 7.1, η ενέργεια ενεργοποίησης του τροφίμου είναι σχεδόν ίση με εκείνη των ενζυμικών ΤΠ. Υπάρχει όμως μια διαφορά μεταξύ της ενέργειας ενεργοποίησης του τροφίμου και των φωτοχημικών ΤΠ περίπου 40 kJ/mol και έτσι προκύπτει σφάλμα στην εκτίμηση ποιότητας λιγότερο από 15%, που το θεωρούμε οριακά αποδεκτό. Από τη συσχέτιση των χρόνων ζωής βρέθηκε ότι τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά συσχετίζονται καλύτερα με τον ενζυμικό δείκτη M_37U και τον φωτοχημικό δείκτη B1-0.4s UV (Σχήμα 7.3) για τους παραπάνω λόγους. Σημειώνεται ότι στις κρίσιμες θερμοκρασιακές περιοχές ($>5^{\circ}C$) συνίσταται να επιλέγεται χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης που να δρα συντηρητικά για την προστασία του καταναλωτή, δηλαδή να το τρόφιμο να έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από τον δείκτη.

Στη συνέχεια, πραγματοποιείται επαλήθευση της εφαρμοσιμότητας των δεικτών αυτών στην παρακολούθηση ποιότητας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά και συγκρίνονται οι θεωρητικές αποκρίσεις του δεικτών (όπως προέκυψαν από τα μαθηματικά μοντέλα) με τις θεωρητικές αποκρίσεις (των δεικτών που επισυνάφθηκαν στην συσκευασία του τροφίμου). Παρατηρείται ότι οι πειραματικά προσδιορισμένες τιμές προσεγγίζουν σε μεγάλο βαθμό τις θεωρητικά

Κεφάλαιο 8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

προσδιορισμένες τιμές της απόκρισης του ενζυμικού ΤΠΙ. Εντούτοις, στην περίπτωση του φωτοχημικού δείκτη, η προσέγγιση δεν είναι τόσο καλή.

Η απόκλιση των τιμών αυτών πιθανόν υπάρχει επειδή για το κινητικό μοντέλο που υπολογίστηκε για τους φωτοχημικούς δείκτες B1 είχαν πραγματοποιηθεί πειράματα σε χρόνους έκθεσης σε UV από 0.6 έως 2s και εδώ, ο χρόνος έκθεσης του ΤΠΙ που χρησιμοποιήθηκε στην περίπτωση του φρέσκου βόειου κιμά είναι 0.4s (προεκβολή). Ένας άλλος πιθανός λόγος που υπάρχει απόκλιση μεταξύ θεωρητικών και πειραματικών τιμών απόκρισης είναι ο διαφορετικός συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας των υλικών πάνω στα οποία προσκολλώνται οι δείκτες. Συγκεκριμένα, όταν πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα για την εύρεση του μαθηματικού κινητικού μοντέλου της απόκρισης των ΤΠΙ (ΤΠΙ pred), οι δείκτες είχαν προσκολληθεί πάνω σε γυάλινες πλάκες ενώ στην περίπτωση του τροφίμου (ΤΠΙ exp), οι δείκτες τοποθετήθηκαν πάνω σε μια λεπτή μεμβράνη πλαστικού της συσκευασίας. Όπως είναι γνωστό, ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας του γυαλιού είναι μεγαλύτερος.

Έπειτα, πραγματοποιείται συσχέτιση των πραγματικών εναπομείναντων χρόνων ζωής του φρέσκου βόειου κιμά ($SL_{R (EXPERIMENTAL)}$) με τους θεωρητικούς εναπομείναντες χρόνους ζωής σύμφωνα με την ένδειξη του ΤΠΙ ($SL_{R (TPI)}$) (Σχήμα 7.7 -7.8).

Μικρές αποκλίσεις που παρατηρούνται μεταξύ των τιμών $SL_{R (EXPERIMENTAL)}$ και $SL_{R (TPI)}$, είναι το συσσωρευτικό αποτέλεσμα μιας σειράς πηγών σφάλματος που περιλαμβάνουν την ακρίβεια της απόκρισης του ΤΠΙ, την αξιοπιστία και τα στατιστικά όρια των κινητικών μοντέλων του ΤΠΙ και των ποιοτικών δεικτών του τροφίμου. Επιπλέον, πρέπει να συνεκτιμηθεί ότι η μεταβολή του ποιοτικού δείκτη (ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων) μετριέται σε σχέση με μια αρχική τιμή σε χρόνο μηδέν, η οποία αποτελεί μια μέση εκτίμηση με δεδομένη μία φυσική διακύμανση. Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν και συνυπολογίζονται στο τελικό πειραματικό εκτιμώμενο σφάλμα (Γιαννακούρου, 2003).

Συμπερασματικά, στην περίπτωση των προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά προτείνεται η χρήση του εμπορικά διαθέσιμου ενζυμικού δείκτη M_{37U}, καθώς οι ενέργειες ενεργοποίησης τροφίμου και δείκτη είναι σχεδόν ίδιες, οι χρόνοι ζωής τους παραπλήσιοι και υπάρχει αρκετά καλή συσχέτιση μεταξύ $SL_{R (EXPERIMENTAL)}$ και $SL_{R (TPI)}$. Στην περίπτωση που δεν είναι διαθέσιμοι οι ενζυμικοί δείκτες αλλά μόνο οι φωτοχημικοί, η αμέσως καλύτερη επιλογή δείκτη θα ήταν εκείνη του B1 0.4s UV για τους παραπάνω λόγους επίσης.

Τέλος, γίνεται επιλογή ΤΠΙ και αξιολόγηση τους σε συνθήκες πραγματικής ψυκτικής αλυσίδας προϊόντων φρέσκου βόειου κιμά (προσομοίωση). Με τη βοήθεια των μαθηματικών μοντέλων που αναπτύχθηκαν για την απόκριση των ΤΠΙ και για την ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων, βρέθηκε ότι ο πιο κατάλληλος ενζυμικός χρονο-θερμοκρασιακός είναι ο M_{33U} και ο πιο κατάλληλος φωτοχημικός χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης είναι ο B1 0.35s UV. Επιλέχθηκαν αυτοί οι δείκτες επειδή όπως αναφέρθηκε και παραπάνω έχουν παραπλήσιες ενέργειες ενεργοποίησης και έχουν παραπλήσιες διάρκειες ζωής με εκείνες του τροφίμου. Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι προτιμάται η διάρκεια ζωής του ΤΠΙ να είναι μικρότερη από εκείνη του τροφίμου για την ασφάλεια των καταναλωτών.

Κεφάλαιο 8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων

Σημειώνεται ότι ο ενζυμικός δείκτης M_33U κρίνεται καταλληλότερος από τον φωτοχημικό δείκτη B1 0.35s UV γιατί η ενέργεια ενεργοποίησης του ενζυμικού έχει πολύ πιο κοντινή τιμή με εκείνη του τροφίμου και επειδή ο χρόνος λήξης του δείκτη έχει πιο κοντινή τιμή με εκείνο του τροφίμου.

Συμπεράσματα - Προτάσεις

Συνολικά, παρουσιάζονται παρακάτω κάποια συμπεράσματα – παρατηρήσεις που αφορούν στους ΤΠΙ και τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά.

- Για τους ενζυμικούς δείκτες, με αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου (Units) παρατηρείται μείωση της διάρκειας ζωής του δείκτη, ενώ για τα φωτοχημικά ΤΠΙ, με αύξηση του χρόνου έκθεσης του δείκτη (charging time) στην υπεριώδη ακτινοβολία παρατηρείται αύξηση της διάρκειας ζωής του.
- Για κάθε ένα από τα ενζυμικά μελετηθέντα ΤΠΙ πραγματοποιήθηκαν 5 πειραματικές επαναλήψεις και για κάθε ένα από τα φωτοχημικά μελετηθέντα ΤΠΙ πραγματοποιήθηκαν 4 επαναλήψεις (μελέτη 4 ή 5 ετικετών ανά τύπο ΤΠΙ για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη). Μεταξύ των μετρήσεων των όμοιων ετικετών σε κάθε χρονο-θερμοκρασιακή συνθήκη παρατηρήθηκε πολύ καλή επαναληψιμότητα.
- Παρατηρήθηκε ότι τα προϊόντα φρέσκου βόειου κιμά Βέλγικης προέλευσης παρουσίασαν καλύτερες τιμές των επιλεγμένων δεικτών ποιότητας σε σύγκριση με τα προϊόντα Γαλλικής προέλευσης.
- Παρατηρήθηκε ότι η αναλογία μάζας βόειου κιμά και υπερκείμενης αέριας φάσης δεν επιδρά σημαντικά στην ποιότητα του τροφίμου. Συγκεκριμένα, φάνηκε ότι εφόσον εξασφαλισθεί μια τροποποιημένη ατμόσφαιρα MAP που να είναι ικανή να εξασφαλίσει την απαιτούμενη διάρκεια ζωής του συγκεκριμένου προϊόντος, οι μεταβολές της υπερκείμενης αέριας φάσης δεν επιφέρουν σημαντικές διαφορές στην ποιότητα του τροφίμου.
- Βασικό κριτήριο για την εύρεση του κατάλληλου χρονο-θερμοκρασιακού δείκτη για τη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας κάθε τροφίμου είναι τα κινητικά χαρακτηριστικά των παραγόντων αλλοίωσης του να σχετίζονται με τα αντίστοιχα κινητικά χαρακτηριστικά του δείκτη ($E_A(\text{ΤΡΟΦ}) = E_A(\text{ΤΠΙ})$, $k_{\text{ref}}(\text{ΤΡΟΦ}) = k_{\text{ref}}(\text{ΤΠΙ})$). Έχει διαπιστωθεί ότι σε περίπτωση που η διαφορά των $E_{A(\text{τροφ.})}$ και $E_{A(\text{ΤΠΙ})}$ είναι μικρότερη από 40kJ/mol, τότε τα δύο T_{eff} θα διαφέρουν κατά 0,4-1,8°C, και το σφάλμα στην εκτίμηση της ποιότητας θα είναι λιγότερο από 15%, το οποίο σε αρκετές περιπτώσεις είναι αποδεκτό (Taoukis and Labuza, 1989a).
- Στις κρίσιμες θερμοκρασιακές περιοχές (>5°C) συνίσταται να επιλέγεται χρονο-θερμοκρασιακός δείκτης που να δρα συντηρητικά για την προστασία του καταναλωτή, δηλαδή να το τρόφιμο να έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από τον δείκτη, ενώ στις χαμηλές θερμοκρασίες (<5°C) ο χρόνος ζωής καθορίζεται από την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στη συσκευασία του τροφίμου.

Συμπεράσματα - Προτάσεις

Ολοκληρώνοντας την παρούσα διπλωματική εργασία, **προτείνονται** τα ακόλουθα:

- Η εφαρμογή της δεδομένης πειραματικής διαδικασίας σε άλλα τρόφιμα. Κρίνεται ιδιαίτερα χρήσιμη η μελέτη ευαλλοίωτων τροφίμων όπως το νωπό κοτόπουλο και τα λαχανικά και η μελέτη τροφίμων με μεγαλύτερη λιποπεριεκτικότητα, όπως ο σολωμός.
- Κινητική μελέτη της απόκρισης και άλλων ειδών ΤΠΙ, όπως μικροβιολογικοί ή πολυμερισμού και η εφαρμογή τους στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας τροφίμων.
- Μελέτη της επίδρασης των διαφορετικών ειδών διαδικασίας και εξοπλισμού της άλεσης του κιμά στο χρώμα του προϊόντος και στην ποιότητά του, αφού παρατηρήθηκε ότι δείγματα ίδιας προέλευσης και ίδιας μικροβιακής αλλοίωσης αλλά διαφορετικών παραγωγών (και άρα διαφορετικής διαδικασίας και εξοπλισμού που χρησιμοποιείται για την άλεση) είχαν έντονες διαφορές της ερυθρότητας της κρεατόμαζας τους.

Βιβλιογραφία

- Adams, M.R., Moss, M.O., 1995, Food microbiology. The Royal Society of Chemistry, Cambridge
- Angelidis, A., Koutsoumanis K. (2006) Prevalence and Concentration of *Listeria monocytogenes* in Sliced Ready-to-Eat Meat Products in the Hellenic Retail Market. *J. Food Prot.* 69, 938-942
- Anonymous, 1989. Time-Temperature indicators Packaging Strategies.
- Anonymous, 1991. Time-temperature indicators: Research into consumer attitudes and behaviour. Ministry of Agriculture. Fisheries and Food National Consumer Council. MAFF-Publications, London.
- Argyri, A.A., 2010a. Quantifying meat spoilage with an array of biohemival indicators. PhD thesis, Cranfield University
- Barmpalia, I.M., Koutsoumanis, K.P., Geornaras, I., Belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith G.C. and Sofos, J.N. (2005) Effect of antimicrobials as ingredients of pork bologna for *Listeria monocytogenes* control during storage at 4 or 10 °C *Food Microbiology*, 22, 205-211
- Borch, E., M-L. Kant-Muermans, Y. Blixt. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Int J Microbiol* 33:103-120.
- Brizio A.P.D.R., Prentice C., 2014, Use of smart photochromic indicator for dynamic monitoring of the shelf life of chilled chicken based products, *Meat Science* 96. 1219-1226
- Byrne C.H., 1976. Temperature Indicators - the state of the art. *Food Technol* 30(6):66-68.
- Cambell L.A., 1986. Use of a time-temperature indicator in monitoring quality of refrigerated salads. M. S. Thesis. Michigan State University
- Dainty R.H., Edwards R.A. and Hibbard C.M. (1985). Time course of volatile compound formation during refrigerated storage of naturally contaminated beef in air., *J. Appl. Bacteriol.* 59: 303-309.
- Dainty, R.H., B.M. Mackey. (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *J Appl Bacteriol Symp Suppl* 73:103S-114S.

Βιβλιογραφία

- den Aantrekker, E.D., Boom, R.M., Zwietering, M.H., & van Schothorst M., 2003, Quantifying recontamination through factory environments. A review. *Int Food Microbiol*, 80, 117-130
- Dillon, V.M. (1998). Yeasts and moulds associated with meat and meat products. In: A Davies, R Board. Eds. *The Microbiology of Meat and Poultry*. London :Blackie Academic & Professional, pp 85-117
- Dransfield E. and MacFie H.J.M. (1980). Precision in the measurement of meat texture. *J. Science of Food and Agriculture* 31: 62-66.
- Dransfield E., Jones R.C.D. and MacFie H.J.M. (1981). Tenderising in m. longissimus dorsi of beef, veal, rabbit, lamb and pork. *Meat Science* 5: 139-147
- Dransfield E. (1994). Tenderness of meat, poultry and fish. In: Pearson A.M. and Dutson T.R. (eds) *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*. Blackie Academic and Professional (Chapman and Hall), London, pp. 289- 315.
- Drosinos, E.H., (1994). Microbial associations of minced lamb and their ecophysiological attributes. Ph.D thesis, University of Bath, United Kingdom
- Drosinos E.H. and Board R.G. (1995a). Microbial and physicochemical attributes of minced lamb: sources of contamination with pseudomonas. *Food Microbiol*. 12: 189-197.
- Drosinos E.H. and Board R.G. (1995b). Attributes on microbial associations of meat growing as xenic batch cultures in a meat juice at 4°C. *Int. J. Food Microbiol*. 26: 279-293.
- Egan, A.F., T.A Roberts. (1987). Microbiology of meat and meat products. In: JR Norris, GL Pettipher. Eds. *Eddays in Agricultural and Food Microbiology*. New York: John Wiley and Sons, pp 167-197
- Ellouze M., Austin J-C, 2010, Applicability of biological time temperature integrators as quality and safety indicators for meat products, *International Journal of Food Microbiology* 138, 119-129
- Els Bobelyn, Maarten L.A.T.M. Hertog, Bart M. Nicolai, 2006. Applicability of an enzymatic time temperature integrator as a quality for mushrooms in the distribution chain. *Postharvest Biology and Technology*. Volume 42. Issue 1. p. 104-114.
- Ercolini D., Russo F., Torrieri E., Masi P. and Villani F. (2006). Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Appl. Environ. Microbiol*. 72: 4663-4671.
- Fernandes, R., 2009. Chilled and Frozen raw meat, poultry and their products. In *Meat products*, pp. 1-52. Edited by R. Fernandes. Cambridge, Leatherhead Publishing

Βιβλιογραφία

- Fields S.C. and Prusik T., 1986. Shelf life estimation of beverage and food products using bar coded time - temperature indicator labels. In: *The Shelf Life of Foods and Beverages*. G.Charalambous (ed). Elsevier Science Publishers. Amsterdam. 23.
- Fu B., Labuza T.P., 1992, Considerations for the Application of Time-Temperature Integrators in Food Distribution. *Journal of Food Distribution Research*, pp 9- 18
- Galagan Y. and Su W.-F, 2008. Fadable ink for time–temperature control of food freshness: Novel new time–temperature indicator. *Food Research International* 41 (2008) 653–657.
- Garcia-Lopez, M.L., M.Prieto, A. Otero. (1998). The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. In: A 73 Davies, R Board. Eds. *The Microbiology of Meat and Poultry*. London :Blackie Academic & Professional, pp 1-34
- Giannakourou M., Koutsoumanis K., Nychas G-J, Taoukis P.S., 2001. Development and assessment of an intelligent shelf life decision system for quality optimization of the food chill chain. *J Food Protection* 64(7). 1051-1057
- Giannakourou M. and Taoukis P.S., 2003a. Application of a TTI-based distribution management system for quality optimisation of frozen vegetables at the consumer end. *J.Food Sci.* 68(1), 201-209.
- Giannakourou M. and Taoukis P.S., 2003b. Kinetic modelling of Vitamin C loss in frozen green vegetables at variable storage conditions. *Food Chemistry*, 83, 33-4.
- Giannoglou, M., Touli, A., Platakou, E., Tsironi, T., Taoukis, P.S., 2014. Predictive modeling and selection of TTI smart labels for monitoring the quality and shelf life of frozen seafood, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 294-301
- Giannoglou M. N., Loukianou M., Tsatsaragou K., Tsironi T. and Taoukis P.S. 2011 Optimization of shelf life distribution of frozen fish products based on modeling and TTI monitoring, *iCEF 2011 Athens*
- Gill, C.O., K.G.Newton. (1977). The development of aerobic spoilage on meat stored at chill temperatures. *J Appl Bacteriol* 43:189-195
- Gill, C.O. (1998). Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In: A Davies, R Board. Eds. *The Microbiology of Meat and Poultry*, pp118-157. London:Blackie Academic and Professional.
- Grisius R., Wells J. H, Barret E. L., Singh R. P., 1897. Correlation of time-temperature response with microbial growth in pasteurized milk. *J. Food Proc. Preserv.*, 11 309-324.
- Hayakawa Kan-Ichi and Yeong F. Wong, 1974. ASHRAE (American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers) *Journal*, p/823-827.
- Guadagni D.G., 1963. Time-Temperature Indicator: a laboratory evaluation, *Frosted Food Field* 36(4): 42-44

Βιβλιογραφία

- Jay J.M. (2000). *Modern Food Microbiology*, 6th ed. Gaithersburg: Aspen Publishers.
- Katz E.E. and Labuza T.P., 1981. Effect of water activity on the sensory crispness and mechanical deformation of snack food products. *Journal of Food Science* 46, p. 403–409.
- Kerry J., Butler P., 2008, *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*, Edited by Joseph Kerry and Paul Butler, John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-02802-5
- Kim E., Dong Y.C., Kim H.C., Kim K, Lee S., 2013, Calibrations between the variables of microbial TTI response and ground pork qualities, *Meat Science* 95. 362-367
- Kouki C., 2010, *Perishable items Inventory Mngement and the Use of Time Temperature Integrators Technology*, PhD thesis, Ecole Centrale Paris,
- Koutsoumanis, K., and Sofos, J.N. (2004) A comparative study on growth limits of *Listeria monocytogenes* as affected by temperature, pH and aw when grown in suspension or on a solid surface. *Food Microbiology* 21, 415-422
- Koutsoumanis, K., P.S. Taoukis and G.J.E. Nychas. (2004b). Development of Safety Monitoring and Assurance System for chilled food products. *International Journal of Food Microbiology*, (in press).
- Koutsoumanis K. and Sofos J.N., 2005. Microbiology of carcasses and cuts. In: Jensen W., Devine C., and Dikeman, M. eds. *Encyclopedia of Meat Sciences*. Academic Press.
- Koutsoumanis K., Stamatiou A.P., Drosinos E.H., Nychas G.-J.E., 2008, Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self-developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat microflora, *Food Microbiolofy* 25. 915-921
- Krammer A. and Farquhar J.W., 1976. Testing of Time-Temperature Indicating and Defrost Devices, *Food Technol.*, 32(2): 50, 53, 56.
- Labadie J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science* 52(I): 299-305.
- Labuza T.P., 1980. The effect of water activity on reactions kinetics of food deterioration. *Food Technol.* 34 (4): 36-41.
- Labuza T.P. and Contreras-Medellin R., 1981. Prediction of Moisture Protection Requirements for Foods, *Cereal Foods World* 26: 335-34.
- Labuza T.P., 1982. *Shelf Life Dating of Foods*, Food & Nutrition Press, Westport, CT.
- Labuza T.P. and Riboh D., 1982. Theory and Application of Arrhenius Kinetics to the Prediction of Nutrient Losses in Food, *Food Technol.* 36 : 66-74.
- Labuza T.P. and Kamman J., 1983. Reaction Kinetics and Accelerated Tests Simulation as a Function of Temperature, In: *Applications of Computers in Food Research*. Saguy, I., (Ed). Marcel Dekker, New York, chap.4.

Βιβλιογραφία

- Labuza T.P., Fu B., Taoukis P.S., 1992. Prediction for Shelf Life and Safety of Minimally Processed CAP/MAP Chilled Foods: A Review, *Journal of Food Protection*, 55:741-750.
- Lambert A.D., Smith J.P. and Dodds K.I. (1991). Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat-A review. *Food Microbiol.* 8: 267-297.
- Luno M., Roncalès P., Djenane D. and Beltran J.A. (2000). Beef shelf life in low O₂ and high CO₂ atmosphere containing different low CO₂ concentrations. *Meat Science* 55: 413-419.
- Mehauden K., 2008, Evaluation of the Thermal and Mixing Performance of an Agitated Vessel for Processing of Complex Liquid Foodstuffs., PhD Dissertation, Department of Chemical Engineering, School of Engineering, University of Birmingham
- Mistry V.V and Kosikowski F.V., 1983. Use of time – temperature indicators as quality control devices for market milk. *J. Food Protection*, 46 (1) 52-57.
- Nottingham, P.M. (1982). Microbiology of carcass meats. In: MH Brown. Ed. *Meat Microbiology*. London: Applied Science Publishers, pp 13-63. Grau, F.H., 1986. Microbial ecology of meat and poultry. In: AM Pearson, TR Dutson. Eds. *Advances in Meat Research*, vol. 2, *Meat and Poultry Microbiology*, pp 1-47. Westport: AVI Publishing Company Inc.
- Nuin M., Alfaro B., Cruz Z., Argarate N., Gerge S., Le Marc Y., Olley J., Pin C., 2008, Modelling spoilage of fresh turbot and evaluation of a time–temperature integrator (TTI) label under fluctuating temperature, *International Journal of Food Microbiology* 127. 193-199
- Nychas G.-J.E and Skandamis P.N. (2005). Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging. In: *Improving the safety of fresh meat* ed. Sofos J.N., pp. 461- 502.
- Nychas G.-J.E., Marshall D. and Sofos J. (2007). Meat poultry and seafood. In. M.P. Doyle, L.R. Bechar and Montville T.J., *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, (Chapter 6). ASM press.
- Nychas G.J.E., Skandamis P.N., Tassou C.C., Koutsoumanis K.P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat science* 78: 77-89.
- OTA Open Shelf life Dating of food, 1979. Office of Technology Assessment, Congress of the U.S., Library of Congress Cat. No 79-600128.
- Patel G.N., Preziosi A.F., Baugham R.H., 1977. Time Temperature indicators. U.S. Patent 3,999,946.
- Patel G.N. and Yee K.C., 1980. Diacetylene time-temperature indicators. U.S. Patent 4,228,126.

Βιβλιογραφία

- Pennanen K., Focas C., Kumpusalo-Sanna V., Keskitalo-Vuokko K., Matullat I., Ellouze M., Pentikäinen S., Smolander M., Korhonen V. and Ollila M., 2014, European Consumers' Perceptions of Time-Temperature Indicators in Food Packaging, *Packag. Technol. Sci.* DOI:10.1002/pts
- Raija A., 2003. *Novel food packaging techniques*, Edited by Raija Ahvenainen, Published by Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, North America
- Rayman A., Demirdöven A., Baysal T., *USE OF INDICATORS IN INTELLIGENT FOOD PACKAGING*, Ege University and Gaziosmanpasa University, Turkey
- Renier J.J. and Morin W.T., 1962. Time-Temperature Indicators, *Intl. Inst. Refrig. Bull. Annex*, 1: 425-435.
- Robach D. L. and Costilow R.M. (1961). Role of bacteria in the oxidation of myoglobin. *Appl. Microbiol.* 9: 529-536.
- Rodriguez and Zaritzki, 1983. Development of time temperature integrator for frozen beef, *J. Food Sci.* 48 (1983). p. 1526–1531.
- Ronnow P., Simpson R., Otwell S., 1999. The use of an enzymatic TTI to monitor time-temperature exposure in distribution of chilled seafood. In: *Predictive Microbiology Applied to chilled Food Preservation*. C.M. Bourgeois, and T. A Roberts (eds.) Refrigeration Science and Technology Proceedings Series, International Institute of Refrigeration(IIR), Paris, France, 308-315.
- Sahin E., Babai M.Z. and Dallery Yves, 2007, Ensuring supply chain safety through time temperature integrators, *The International Journal of Logistics Management*, Vol. 18 No. 1, pp. 102-124
- Sherlock , M., Fu B., Taoukis P.S., Labuza T.P., 1991. A systematic evaluation of Time Temperature Indicators for use as consumer tags. *Journal of Food Protection*, 54(11):885-889.
- Sherlock M. and Labuza T.P., 1992. Consumers' perceptions of consumer type time-temperature indicators for use on refrigerated dairy foods. *J. Food Distrib. Res.*
- Singh R.P. and Wells J.H., 1985. Use of time-temperature indicators to monitor quality of frozen hamburger. *Food Technology*, 39 (12) 42-5.
- Stoforos N. G. and Taoukis P. S., 1998. A theoretical procedure for using multiple response time-temperature integrators for the design and evaluation of thermal processes. *Food Control.* 9 (5) 279-87.
- Stringer W.C., Bilskie M.E. and Naumann H.D. (1969). Microbial profile of fresh beef. *Food Technol.* 23: 97-102
- Stumbo, C. R. 1973. *Thermobacteriology in food processing*. Academic Press. New York, San Francisco, London.

Βιβλιογραφία

- Taoukis P.S., El Meskine A., Labuza T.P., 1988. Moisture Transfer and Shelf Life of Packaged Foods, in Food and Packaging Interactions, Hotchkiss, J.H., Ed., ACS Symposium Series, No.365, 243-261.
- Taoukis P.S., 1989. Time - Temperature Indicators as Shelf Life Monitors of Food Products, Ph.D. Thesis, University of Minnesota, p.227.
- Taoukis P.S. and Labuza T.P., 1989a. Applicability of Time Temperature Indicators as shelf-life monitors of food products. *J. Food Sci.*, 54(4) 737-8.
- Taoukis P.S. and Labuza T.P., 1989b. Reliability of Time-Temperature Indicators as Food Quality Monitors Under Non Isothermal Conditions, *Journal of Food Science*. 54(4): 789-792
- Taoukis P.S., Reineccius G.A., Labuza T.P., 1990. Application of Time-Temperature Indicators to Monitor Quality of Flavoured Products.
- Taoukis P.S., Fu B., Labuza T.P., 1991. Time-Temperature Indicators, *Food Technology*, 45(10):70-82.
- Taoukis P.S., Bili M., Gianakourou M., 1998. Application of shelf life modelling of chilled salad products to a TTI based distribution and stock rotation system. *Acta Horticulturae* 476, International Society for Horticultural Science (ISHS), Leiden, Netherlands, p. 131-140.
- Taoukis P.S. and Labuza T.P., 1999. Chemical Time-Temperature Integrators as Quality Monitors in the Chill Chain. *Predictive Microbiology Applied to Chilled Food Preservation (Proc. of the International Symposium, Quimper, France. June 16-18, 1997)*. C.M. Bourgeois and T.A. Roberts. (eds). *Refrigeration Science and Technology Proceedings Series*, International Institute of Refrigeration (IIR). Paris, France, 291-300.
- Taoukis P.S., Koutsoumanis K., Nychas G.J.E., 1999a. Use of time temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions, *International Journal of Food Microbiology* 53 (1999), p. 21–31.
- Taoukis P.S., Koutsoumanis K., Nychas G.J.E., 1999b. Applicability of Time-Temperature Indicators as quality monitors of MAP chilled fish stored in variable conditions, presented at the Institute Food Technologists (IFT) 59 Annual Meeting, Chicago, IL.
- Taoukis P.S., 2001. Modelling the use of time-temperature indicators in distribution and stock rotation. In: *Food Process Modelling*. Tijkskens LMM, Hertog MLATM, Nicolai BM, editors. Washington DC: CRC Press. Ch 19. p. 401-431.
- Taoukis P.S. and Labuza T.P., 2003. Time-Temperature Indicators (TTIs). In: *Novel Food Packaging Techniques*. R. Ahvenainen, editor. Woodhead Publishing Limited, UK. Ch 6. p. 103-126.

Βιβλιογραφία

- Taub I., Irwin A., Sighn I., Paul R., 1998. Food Storage Stability, U.S.A. p. 2-31, 353-355, 414-416.
- Tinker J.H., Slavin J.W., Learson R.J., Empola V.G., 1985. Evaluation of automated time-temperature monitoring system in measuring for freshness of chilled fish. IIF-IIR Commissions C2, D3 4 286-90.
- Tsironi T., Dermesonlouoglou E., Giannakourou M., Taoukis P. 2009. Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. LWT- Food Science and Technology, 42, 664–671.
- Tsironi T., Gogou E., Velliou E., Taoukis P.S. 2008. Application and validation of the TTI based chill chain management system SMAS (Safety Monitoring and Assurance System) on shelf life optimization of vacuum packed chilled tuna. International Journal of Food Microbiology 128(1), 108-115.
- Tsironi T., Stamatiou A., Giannoglou M., Velliou E., Taoukis P.S. 2011. Predictive modelling and selection of Time Temperature Integrators for monitoring the shelf life of modified atmosphere packed gilthead seabream fillets LWT - Food Science and Technology 44 (2011), 1156-1163.
- Vaikousi Hariklia, Biliaderis Costas G. , Koutsoumanis K., 2009. Applicability of a microbial Time Temperature Indicator (TTI) for monitoring spoilage of modified atmosphere packed minced meat. International Journal of Food Microbiology 133 (2009) 272–278.
- Varnam A.H. and Sutherland J.P. (1999). Το κρέας και τα προϊόντα του. Εκδόσεις ΙΩΝ και ΣΙΑ, Περιστέρι, Αττική
- Viana E.S., Gomide L.A.M. and Vanetti M.C.D. (2005). Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. Meat Science 71: 696-705
- Walker, H.W., J.C.Ayres. (1970). Yeasts as spoilage organisms. In: AH Rose, JS Harrison. Eds. The Yeasts, vol. 3, Yeasts Technology. London: Academic Press, pp 463-527
- Warris P.D. (2000). Meat Science-An Introductory Text. CABI Publishing, U.K.
- Wells J.H., Singh R.P., Nobel A.C., 1987. A graphical interpretation of Time-Temperature related quality changes in frozen foods, J. Food Sci, 52:436.
- Wells J.H and Singh R.P., 1988. Application of time-temperature indicators in monitoring changes in quality attributes of perishable and semi- perishable foods. J. Food Sci., 53 148-152.
- Wendin K, Broberg A. and Borch E., 2005. Consumer attitudes on the use of TTI for monitoring fresh meat. Swedish Institute for Food and Biotechnology.

Βιβλιογραφία

- Yen C.-Y., 2009, Development and Testing of Enzymatic Time-Temperature Integrator Devices under Isothermal and Non-isothermal Conditions. Master thesis, North Carolina State University, USA
- Yoon S.H., C.H. Lee, D.Y. Kim, J.W. Kim and K.H. Park, 1994. Time-temperature indicator using phospholipid-phospholipase system and application to storage of frozen pork, J. Food Sci. 59, p. 490-493.
- Βαϊκούση Χ., 2009. Ανάπτυξη και Εφαρμογή Κινητικών Μεθόδων εκτίμησης της ποιότητας των τροφίμων, Διδακτορική διατριβή, Τομέας Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Γεωπονίας, Γ.Π.Θ
- Γαβριήλ Α., 2009. Μικροβιακή και φυσικοχημική αλλοίωση κρέατος που συντηρήθηκε σε αερόβιες συνθήκες και σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες. Μεταπτυχιακή διατριβή. Τομέας Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Γεωπονίας, Γ.Π.Θ.
- Γεωργάκης, Σ., 2002. Τεχνολογία τροφίμων ζωικής προέλευσης. Εκδόσεις σύγχρονη παιδεία. 2η έκδοση. Θεσσαλονίκη. σελ.525 – 578.
- Γεωργάκης Σπ.Α. (2005). Το κρέας και τα προϊόντα του. Εκδόσεις Συγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη
- Κανονισμός (ΕΚ) αρ. 853/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 29ης Απριλίου 2004 για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης
- Καραμπέρη Β., 2010. Έλεγχος της μικροβιολογικής ποιότητας, δείκτες υγιεινής και επιπολασμός του μικροοργανισμού *Listeria monocytogenes* σε δείγματα χοίρειου κιμά. Μεταπτυχιακή διατριβή. Τομέας Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Γεωπονίας, Γ.Π.Θ
- Λουκιανού Μ., 2011. Μελέτη της κινητικής απόκρισης Χρονοθερμοκρασιακών Δεικτών ΤΤΙ και εφαρμογή για τον έλεγχο ποιότητας ψυγμένων και κατεψυγμένων τροφίμων στη ψυκτική αλυσίδα. Διπλωματική Εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων. Αθήνα.
- Μπλούκας, Ι. Γ., 2004. Επεξεργασία και συντήρηση τροφίμων, εκδόσεις Σταμούλης. Αθήνα. σελ.25.
- Μεταξά Η., 2009. Μελέτη νέων χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΤΙ) για τη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας:Εφαρμογή σε προϊόντα κρέατος. Διπλωματική Εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων. Αθήνα.
- Ξανθιάκος, Κ. (2006). Ανάπτυξη «εργαλείων» και συλλογή /ανάλυση δεδομένων για τον προσδιορισμό επικινδυνότητας της *Listeria monocytogenes* σε παστεριωμένο γάλα σε

Βιβλιογραφία

- συνθήκες της Ελληνικής ψυκτικής αλυσίδας. Μεταπτυχιακή διατριβή. Τομέας Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Γεωπονίας, Α.Π.Θ.
- Οδηγός Υγιεινής Για Κρεοπωλεία . (2004). Υπουργείο Ανάπτυξης-Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων-ΕΦΕΤ
 - Παπαδοπούλου Ό., 2013. Εκτίμηση της αλλοίωσης του κρέατος με σύγχρονες μεθόδους. Διδακτορική διατριβή, Τομέας Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής ανθρώπου, Σχολή Γεωπονίας, Α.Π.Θ.
 - Πλατάκου Ε., 2010. Μελέτη φωτοχημικών χρονο-θερμοκρασιακών ολοκληρωτών (ΤΤΙ) για τη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας: Εφαρμογή σε συσκευασία φιλέτα τιλάπιας. Διπλωματική Εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων. Αθήνα
 - Σταματίου Α., 2008. Εφαρμογή νέων χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΤΙ) στη διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας φιλέτων ψαριού συσκευασμένων σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Διπλωματική Εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων. Αθήνα
 - Ταούκης Π.Σ., 2005. Έλεγχος και διαχείριση της ψυκτικής αλυσίδας με χρονοθερμοκρασιακούς δείκτες-SMAS. Ημερίδα: 'Η Ιχνηλασιμότητα στα τρόφιμα'. Αθήνα, Νοέμβριος 2005: 28-32.
 - Ταούκης Π.Σ., Ωραιοπούλου Β., 2006. Εφαρμοσμένη Μικροβιολογία Χημεία και Μηχανική Διεργασιών των τροφίμων, Επιστήμη και Μηχανική Βιολογικών Συστημάτων και Προϊόντων. Εκδόσεις Ε.Μ.Π.. Αθήνα.σελ. 66-80.
 - Ταούκης Π.Σ., Τσιρώνη Θ., Γιαννόγλου Μ., Πλατάκου Ε., 2012, ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΓΙΑ ΜΙΚΡΟ-ΜΕΣΑΙΕΣ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΙΣ: Μεθοδολογία προσδιορισμού διατηρησιμότητας κατεψυγμένων τροφίμων - Εφαρμογή χρονοθερμοκρασιακών δεικτών για τον έλεγχο της ποιότητας τροφίμων, Αθήνα
 - Τζιά Κ., Ταούκης Π., Ωραιοπούλου Β., 2007. Επιστήμη και Μηχανική Τροφίμων. Εκδόσεις Ε.Μ.Π. Αθήνα. σελ.9, 185 – 188.
 - Τζιά Κ., Ωραιοπούλου Β., 2008. Σχεδιασμός Βιομηχανιών Τροφίμων – Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων. Αθήνα: Εκδόσεις Ε.Μ.Π., 2008.σελ. 213-221.
 - Τούλη Α., 2013. Έξυπνη συσκευασία: Μελέτη και εφαρμογή χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΤΙ) στη ψυκτική αλυσίδα κατεψυγμένων θαλασσινών. Διπλωματική Εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων. Αθήνα
 - Τσακαλίδου Ε. (2001). Μαθήματα Βιοχημείας Τροφίμων Ι. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Βιβλιογραφία

- Τσατσαράγκου Κ., 2010. Κινητική μελέτη απόκρισης ενζυμικών και φωτοχημικών χρονοθερμοκρασιακών ολοκληρωτών (ΤΤΙ) για τον έλεγχο της αλυσίδας κατεψυγμένων τροφίμων. Διπλωματική Εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων. Αθήνα

Δικτυακοί τόποι

- <http://www.onvu.com>
- <http://www.vitsab.com>
- <http://www.foodsafety.gov>
- <http://www.freshcheck.com>
- <http://www.temptimecorp.com>
- <http://www.smas.chemeng.ntua.gr>

Παράρτημα Ι

ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΟΕΙΟΥ ΚΙΜΑ

Ημερομηνία:.....

Όνομα:.....

Νωπό κρέας

Χρώμα									
Εμφάνιση φρέσκου προϊόντος									
Οσμή									
Συνολική αρέσκεια									

Μαγειρεμένο κρέας

Κωδικός δείγματος									
Χρωμα									
Εμφανιση φρέσκου προϊόντος									
Οσμή									
Γεύση									
Συνολική αρέσκεια									

Παράρτημα II

ENZYMΙΚΑ

- M_4.2U

M_4.2U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
8.294	7.804	9.070	0.994
k2average	k2upper	k2lower	
1.809	2.157	1.743	

M_4.2U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
12.602	10.208	14.623	0.981
k2average	k2upper	k2lower	
3.728	3.715	4.229	

M_4.2U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
23.566	20.106	27.342	0.971
k2average	k2upper	k2lower	
5.764	6.687	5.494	

M_4.2U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
45.345	38.735	51.577	0.986
k2average	k2upper	k2lower	
13.364	14.419	12.696	

M_4.2U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
123.215	109.771	140.640	0.983
k2average	k2upper	k2lower	
34.118	33.432	40.171	

M_4.2U_-9°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
216.496	181.683	248.051	0.978
k2average	k2upper	k2lower	
63.105	65.672	63.121	

M_4.2U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
285.034	246.349	317.464	0.976
k2average	k2upper	k2lower	
79.416	88.958	72.543	

M_4.2U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
428.906	425.081	444.979	0.926
k2average	k2upper	k2lower	
111.473	153.465	77.198	

Η στατιστική επεξεργασία των ΤΠΙ ετικετών M_4.2U στους -15°C δεν πραγματοποιήθηκε γιατί η απόκριση του συγκεκριμένου δείκτη βρισκόταν ακόμα σε πολύ πρώιμο στάδιο.

- **M_7.2U**

M_7.2U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
6.632	6.149	7.109	0.972
k2average	k2upper	k2lower	
0.671	0.760	0.678	

M_7.2U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
9.712	8.579	10.996	0.982
k2average	k2upper	k2lower	
1.678	1.778	1.643	

M_7.2U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
19.368	17.452	21.456	0.990
k2average	k2upper	k2lower	
4.979	5.165	5.143	

M_7.2U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
36.764	33.519	40.508	0.982
k2average	k2upper	k2lower	
6.695	7.267	6.691	

M_7.2U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
100.092	90.510	111.1914	0.981
k2average	k2upper	k2lower	
18.944	16.759	22.406	

M_7.2U_-8°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
198.002	172.797	224.926	0.978
k2average	k2upper	k2lower	
36.227	200.060	42.184	

M_7.2U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
260.476	228.395	289.232	0.974
k2average	k2upper	k2lower	
53.300	58.303	51.118	

M_7.2U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
368.348	339.596	932.805	0.958
k2average	k2upper	k2lower	
97.336	124.602	81.007	

Η στατιστική επεξεργασία των ΤΠI ετικετών M_7.2U στους -15°C δεν πραγματοποιήθηκε γιατί η απόκριση του συγκεκριμένου δείκτη βρισκόταν ακόμα σε πολύ πρώιμο στάδιο.

- **M_9.6U**

M_9.6U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
4.514	4.324	4.755	0.992
k2average	k2upper	k2lower	
0.589	0.530	0.688	

M_9.6U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
7.666	7.176	8.307	0.992
k2average	k2upper	k2lower	
1.368	1.395	1.455	

M_9.6U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
12.176	10.149	14.461	0.978
k2average	k2upper	k2lower	
3.902	3.827	4.392	

M_9.6U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
25.572	25.282	30.089	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
6.283	6.370	6.654	

M_9.6U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
62.716	52.577	73.614	0.982
k2average	k2upper	k2lower	
14.579	16.299	18.096	

M_9.6U_-8°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
154.869	145.285	166.037	0.992
k2average	k2upper	k2lower	
23.966	23.474	25.443	

M_9.6U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
221.899	175.248	254.140	0.964
k2average	k2upper	k2lower	
44.325	55.263	44.334	

M_9.6U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
308.151	286.802	329.235	0.979
k2average	k2upper	k2lower	
50.430	50.683	47.373,	

Η στατιστική επεξεργασία των ΤΤΙ ετικετών M_7.2U στους -15oC δεν πραγματοποιήθηκε γιατί η απόκριση του συγκεκριμένου δείκτη βρισκόταν ακόμα σε πολύ πρώιμο στάδιο

- **M_11U**

M_11U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
2.873	2.344	3.396	0.985
k2average	k2upper	k2lower	
0.797	0.800	0.850	

M_11U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
5.408	5.065	5.792	0.990
k2average	k2upper	k2lower	
0.915	0.911	0.959	

M_11U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
9.461	9.087	9.703	0.989
k2average	k2upper	k2lower	
1.976	1.962	2.011	

Παράρτημα II

M_11U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
19.996	19.672	20.653	0.989
k2average	k2upper	k2lower	
3.505	3.568	3.694	

M_11U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
46.457	43.284	48.530	0.976
k2average	k2upper	k2lower	
14.134	14.118	14.671	

M_11U_-9°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
120.642	110.483	130.631	0.992
k2average	k2upper	k2lower	
19.617	23.893	22.005	

M_11U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
145.209	113.561	174.501	0.975
k2average	k2upper	k2lower	
34.770	38.736	34.076	

M_11U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
211.064	181.892	239.665	0.973
k2average	k2upper	k2lower	
41.731	47.245	43.206	

Η στατιστική επεξεργασία των ΤΠΙ ετικετών M_11U στους -15°C δεν πραγματοποιήθηκε γιατί η απόκριση του συγκεκριμένου δείκτη βρισκόταν ακόμα σε πρώιμο στάδιο.

- **M_13U**

M_13U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
2.578	2.034	3.150	0.972
k2average	k2upper	k2lower	
0.773	0.851	0.789	

M_13U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
4.638	4.351	5.232	0.994
k2average	k2upper	k2lower	
0.781	0.677	0.925	

M_13U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
7.027	5.977	7.880	0.982
k2average	k2upper	k2lower	
1.681	1.918	1.627	

M_13U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
16.969	13.919	19.789	0.979
k2average	k2upper	k2lower	
4.550	4.661	4.497	

M_13U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
31.373	28.499	35.273	0.988
k2average	k2upper	k2lower	
7.388	7.900	7.930	

M_13U_-9°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
69.802	63.099	19.553	0.989
k2average	k2upper	k2lower	
17.644	17.474	17.659	

M_13U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
100.300	83.591	93.912	0.986
k2average	k2upper	k2lower	
16.623	12.391	10.629	

M_13U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
149.532	124.387	186.453	0.978
k2average	k2upper	k2lower	
35.388	45.431	41.630	

M_13U_-15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
212.149	205.112	252.971	0.990
k2average	k2upper	k2lower	
46.613	59.591	59.263	

- **M_20U**

M_20U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
1.763	1.417	1.987	0.982
k2average	k2upper	k2lower	
0.576	0.685	0.404	

M_20U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
3.757	2.939	4.245	0.979
k2average	k2upper	k2lower	
0.789	1.018	0.885	

M_20U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
6.009	4.171	7.530	0.974
k2average	k2upper	k2lower	
1.761	1.816	1.750	

M_20U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
13.668	10.645	16.380	0.946
k2average	k2upper	k2lower	
2.641	3.172	2.943	

M_20U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
29.901	28.349	31.349	0.992
k2average	k2upper	k2lower	
4.028	4.331	3.885	

M_20U_-9°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
70.820	65.076	78.775	0.973
k2average	k2upper	k2lower	
9.492	7.869	11.759	

M_20U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
96.687	90.717	104.084	0.973
k2average	k2upper	k2lower	
10.552	9.131	11.993	

M_20U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
159.565	148.973	169.816	0.974
k2average	k2upper	k2lower	
14.050	13.583	14.879	

M_20U_-15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
251.481	229.029	273.577	0.960
k2average	k2upper	k2lower	
26.059	27.569	26.195	

Παράρτημα II

- **M_25U**

M_25U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
1.339	1.140	1.622	0.977
k2average	k2upper	k2lower	
0.380	0.352	0.441	

M_25U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
2.468	2.332	2.674	0.995
k2average	k2upper	k2lower	
0.484	0.449	0.570	

M_25U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
3.895	3.592	4.246	0.990
k2average	k2upper	k2lower	
0.661	0.610	0.738	

M_25U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
8.592	7.833	9.587	0.987
k2average	k2upper	k2lower	
1.684	1.667	1.820	

M_25U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
19.443	17.153	21.832	0.987
k2average	k2upper	k2lower	
4.338	4.195	5.141	

M_25U_-9°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
49.203	45.569	54.739	0.984
k2average	k2upper	k2lower	
7.965	7.835	9.073	

M_25U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
57.379	52.319	61.984	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
12.634	14.053	12.215	

M_25U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
90.753	80.238	100.578	0.974
k2average	k2upper	k2lower	
18.195	19.278	18.219	

M_25U_-15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
157.967	138.200	181.417	0.989
k2average	k2upper	k2lower	
40.386	41.999	41.237	

- **M_37U**

M_37U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
0.770	10.423	0.622	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
0.102	0.165	0.205	

M_37U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
1.519	1.354	1.666	0.996
k2average	k2upper	k2lower	
0.307	0.295	0.305	

M_37U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
2.838	2.574	3.070	0.988
k2average	k2upper	k2lower	
0.487	0.539	0.381	

Παράρτημα II

M_37U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
5.241	4.126	5.577	0.990
k2average	k2upper	k2lower	
1.099	1.366	1.477	

M_37U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
13.010	11.390	15.315	0.987
k2average	k2upper	k2lower	
3.184	3.533	3.587	

M_37U_-8°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
25.085	21.746	28.380	.0988
k2average	k2upper	k2lower	
5.407	6.498	.6935	

M_37U_-10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
36.309	32.863	10.449	0.990
k2average	k2upper	k2lower	
8.201	7.874	8.971	

M_37U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
46.524	41.351	53.452	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
11.854	11.725	13.039	

M_37U_-15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
107.036	85.140	102.341	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
21.817	22.646	19.283	

Παράρτημα II

- **M_44U**

M_44U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
0.655	0.484	0.673	0.994
k2average	k2upper	k2lower	
0.095	0.165	0.140	

M_44U_10°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
1.308	1.187	1.511	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
0.224	0.187	0.268	

M_44U_5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
2.296	2.256	2.341	0.994
k2average	k2upper	k2lower	
0.344	0.320	0.369	

M_44U_0°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
4.550	4.398	4.720	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
0.999	0.980	1.025	

M_44U_-5°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
9.683	9.373	10.120	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
2.349	2.509	2.579	

M_44U_-8°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
21.108	18.761	23.813	0.990
k2average	k2upper	k2lower	
5.191	5.280	5.723	

Παράρτημα II

M_44U_-9°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
27.273	22.206	32.161	0.987
k2average	k2upper	k2lower	
7.610	8.255	7.735	

M_44U_-12°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
42.462	48.024	37.641	0.989
k2average	k2upper	k2lower	
11.148	12.268	10.767	

M_44U_15°C (d)			
k1average	k1upper	k1lower	R²
95.876	104.918	109.275	0.991
k2average	k2upper	k2lower	
26.342	21.842	22.262	

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΑ

- **B1_C**

B1_C 0.6s 15°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
1.120	1.174	1.061	0.984

B1_C 0.6s 10°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.356	0.379	0.333	0.967

B1_C 0.6s 5°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.151	0.159	0.144	0.983

B1_C 0.6s 0°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.043	0.046	0.040	0.952

B1_C 1s 15°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.858	0.901	0.815	0.982

B1_C 1s 10°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.261	0.285	0.236	0.929

B1_C 1s 5°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.123	0.126	0.119	0.993

B1_C 1s 0°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.031	0.033	0.030	0.0976

Παράρτημα II

B1_C 2s 15°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.445	0.450	0.439	0.758

B1_C 2s 10°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.133	0.136	0.137	0.920

B1_C 2s 5°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.038	0.042	0.035	0.942

B1_C 2s 0°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.015	0.018	0.012	0.903

- **B1_H**

B1_H 1s 15°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
1.002	1.098	0.910	0.963

B1_H 1s 10°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.287	0.320	0.256	0.926

B1_H 1s 5°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.137	0.147	0.128	0.954

B1_H 1s 0°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.035	0.038	0.032	0.954

B1_H 2s 15°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.467	0.511	0.425	0.933

B1_H 2s 10°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.160	0.167	0.154	0.983

B1_H 2s 5°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.050	0.054	0.047	0.952

B1_H 2s 0°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.017	0.019	0.016	0.913

- **B1_Snowflake**

B1_Snowflake 1s 15°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.945	1.098	0.910	0.963

B1_Snowflake 1s 10°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.402	0.494	0.430	0.956

B1_Snowflake 1s 5°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.123	0.129	0.118	0.976

B1_Snowflake 1s 0°C			
$k_{average}$ (d⁻¹)	k_{upper} (d⁻¹)	k_{lower} (d⁻¹)	R²
0.032	0.034	0.029	0.929

B1_Snowflake 2s 15°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.650	0.639	0.564	0.957

B1_Snowflake 2s 10°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.160	0.175	0.145	0.936

B1_Snowflake 2s 5°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.057	0.060	0.053	0.947

B1_Snowflake 2s 0°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.012	0.014	0.012	0.938

- **BL**

BL 1s 15°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
1.289	1.524	1.096	0.880

BL 1s 10°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.403	0.435	0.375	0.961

BL 1s 5°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.166	0.176	0.156	0.962

BL 1s 0°C			
$k_{average} (d^{-1})$	$k_{upper} (d^{-1})$	$k_{lower} (d^{-1})$	R^2
0.046	0.050	0.042	0.954

Παράρτημα II

BL 2s 15°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
1.040	1.108	0.986	0.975

BL 2s 10°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.166	0.184	0.154	0.936

BL 2s 5°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.098	0.104	0.094	0.975

BL 2s 0°C			
$k_{\text{average}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{upper}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{lower}} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	R^2
0.018	0.019	0.017	0.956