



***Αφιερωμένο στην οικογένειά μου.***



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Τις θερμές ευχαριστίες απευθύνω στην Καθηγήτρια Ε.Μ.Π Δρ. Κωνσταντίνα Τζιά για την ανάθεση της παρούσας εργασίας, τη συνεχή καθοδήγηση, το εμπειριστατωμένο ενδιαφέρον της και τις γνώσεις που μου παρείχε, τόσο κατά την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας, όσο και γενικότερα κατά τη διάρκεια της φοίτησής μου στο Πολυτεχνείο.

Αναγνωρίζοντας την πολύτιμη βοήθεια των υποψήφιων διδασκόντων, Παναγιώτη Σφακιανάκη και Βασιλικής Πολυχινιάτου, τους ευχαριστώ για την προθυμία, αλλά και την ουσιαστική τους καθοδήγηση σε όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της εργασίας μου.

Οφείλω να ευχαριστήσω όλους τους διδάκτορες του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων για τη φιλική και δημιουργική ατμόσφαιρα που διαμόρφωσαν κατά διάρκεια των πειραμάτων μου στο εργαστήριο και η οποία με βοήθησε σημαντικά.

Επίσης να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου Δρ. Πέτρο Ταούκη και Δρ. Βασιλική Ωραιοπούλου για τις ουσιαστικές γνώσεις που μου προσέφεραν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη συμπαράσταση, την αγάπη και την υποστήριξη της όλα αυτά τα χρόνια των σπουδών μου.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως αντικείμενό της τη μελέτη της χρήσης διαφόρων φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών ενσωματωμένων είτε σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες είτε απευθείας μέσα στο προϊόν κρέατος, συγκεκριμένα σε λουκάνικα τύπου Φρανκφούρτης. Μελετήθηκε η μικροβιολογική μεταβολή, το χρώμα και η υφή των προϊόντων κρέατος.

Τα φυσικά αντιμικροβιακά που μελετήθηκαν ήταν εκχυλίσματα από ελληνικά φυτά και συγκεκριμένα κορίανδρο και δενδρολίβανο. Οι επικαλυπτικές εδώδιμες μεμβράνες που μελετήθηκαν ήταν μεμβράνες χιτοζάνης και μεμβράνες HPMC. Τα δείγματα συσκευάστηκαν σε πλαστική εύκαμπτη συσκευασία υπό κενό και αποθηκεύτηκαν σε τρεις θερμοκρασίες (0°C, 4°C και 8°C), θεωρώντας ως χρόνο μηδέν ακριβώς τη χρονική στιγμή της τοποθέτησής τους στις θερμοκρασίες αποθήκευσης.

Στα δείγματα πραγματοποιήθηκαν ανά τακτά χρονικά διαστήματα μικροβιολογικές αναλύσεις των μικροβιακών παραμέτρων, με τη μέθοδο της ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε τρυβλία με υποστρώματα PCA (Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα) και MRS (οξυγαλακτικά βακτήρια) και την τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων. Πραγματοποιήθηκε επίσης παρακολούθηση με ενόργανη ανάλυση της εξέλιξης ως προς το χρόνο των ποιοτικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων, συγκεκριμένα της υφής (σκληρότητα), καθώς του χρώματος (της επιφάνειας σε κλίμακα L,a,b), με μετρήσεις οι οποίες πραγματοποιούνταν κάθε φορά που γίνονταν μικροβιολογική ανάλυση. Η στατιστική ανάλυση που ακολούθησε εξέτασε για πιθανόν σημαντικές διαφορές σε όλες τις μετρήσεις μεταξύ των δειγμάτων με διαφορετική επικαλυπτική εδώδιμη μεμβράνη και με διαφορετική προσθετική ουσία ενσωματωμένη είτε στη μεμβράνη είτε μέσα στη μάζα του προϊόντος, για κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα για τις μεταβολές των μικροβιακών παραμέτρων, ολική μικροβιακή χλωρίδα και οξυγαλακτικά βακτήρια, έδειξαν ότι το φυσικό αντιμικροβιακό ενσωματωμένο στη μεμβράνη λειτουργεί θετικά

και παρέχει προστασία ως προς τις μικροβιολογικές αλλοιώσεις. Αυτό ισχύει και για τις δύο μεμβράνες που χρησιμοποιήθηκαν, χιτοζάνης και HPMC, και για τα δύο αντιμικροβιακά που ενσωματώθηκαν σε αυτές (κορίανδρος και δενδρολίβανος). Τα δείγματα με ενσωματωμένα αντιμικροβιακά στις μεμβράνες διατηρούνται καλύτερα από εκείνα με απλή μεμβράνη (τυφλά). Συγκεκριμένα, πιο αποτελεσματική εμφανίστηκε η μεμβράνη χιτοζάνης με ενσωματωμένο κορίανδρο σε αυτή, ενώ για τη μεμβράνη HPMC, πιο αποτελεσματικός ήταν ο συνδυασμός της μεμβράνης αυτής και ενσωμάτωσης αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, και για τις δύο μικροβιολογικές παραμέτρους.

Όσον αφορά την επίδραση των θερμοκρασιών στα δείγματα, σε όλες τις μικροβιολογικές αναλύσεις, τα δείγματα φαίνεται να συντηρήθηκαν καλύτερα στους 0°C, ενώ αντίθετα τα δείγματα στους 8°C είχαν την πιο έντονη ανάπτυξη.

Οι αναλύσεις της σκληρότητας στα δείγματα έδειξαν ότι η σκληρότητα παρέμενε σχεδόν σταθερή με το χρόνο με κάποιες αυξομειώσεις. Επιπλέον, η θερμοκρασία αποθήκευσης των δειγμάτων δεν είχε σημαντική επίδραση στη σκληρότητά τους, ενώ τα διαφορετικά αντιμικροβιακά δεν φαίνεται να είχαν σημαντική επίδραση επίσης. Οι δύο μεμβράνες, χιτοζάνης και HPMC, αποδείχτηκε ότι επιδρούν σημαντικά, στατιστικά. Τα επικαλυμμένα δείγματα εμφανίζονται με σχετικά αυξημένη σκληρότητα σε σχέση με αυτά που το αντιμικροβιακό είναι ενσωματωμένο μέσα στο προϊόν.

Η εξέλιξη της φωτεινότητας (L) των δειγμάτων φαίνεται να παραμένει σχεδόν σταθερή σε σχέση με το χρόνο (L της τάξης του 65-70). Η εξέλιξη της φωτεινότητας φαίνεται να μην επηρεάζεται από τη θερμοκρασία αποθήκευσης.

Όσον αφορά τους χρόνους ζωής για την ολική μικροβιακή χλωρίδα καλύτερο χρόνο ζωής εμφάνισαν τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωμάτωση αντιμικροβιακού κορίανδρου σε αυτή, t=22 ημέρες και για τα οξυγαλακτικά βακτήρια, τους καλύτερους χρόνους έδωσαν τα δείγματα με

επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωμάτωση αντιμικροβιακού είτε κορίανδρου,  $t=36$  ημέρες, είτε δενδρολίβανου,  $t=28$  ημέρες.





## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	13
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Το κρέας και τα προϊόντα του</b> .....	16
1.1 Εισαγωγή.....	17
1.2 Ορισμός.....	17
1.3 Περιγραφή και σύνθεση μυών.....	18
1.3.1 Περιεκτικότητα σε μυϊκό ιστό .....	20
1.3.2 Περιεκτικότητα σε λίπος.....	20
1.3.3 Πρωτεΐνες στο κρέας .....	22
1.4 Χημεία μεταθανάτιων μυών.....	25
1.5 Χρώμα του κρέατος .....	26
1.5.1 Η φύση του χρώματος .....	27
1.5.2 Οι χρωστικές ουσίες στο άπαχο κρέας .....	28
1.5.3 Αντιδράσεις της μυοσφαιρίνης με το οξυγόνο .....	29
1.5.4 Αντιδράσεις της μυοσφαιρίνης με το μονοξείδιο του αζώτου και το μονοξείδιο του άνθρακα .....	31
1.5.5 Θεμελιώδη στοιχεία της μέτρησης του χρώματος του κρέατος .....	31
1.5.6 Παράγοντες που επηρεάζουν το χρώμα του κρέατος.....	33
1.5.6.1 Είδη ζώων, Ηλικία και Τύπος μυών .....	33
1.5.6.2 Επίδραση των βιταμινών στη σταθερότητα του χρώματος του κρέατος	34
1.6 Οσμή, άρωμα, γευστικότητα και υφή του κρέατος και των προϊόντων του.....	35
1.7 Προϊόντα κρέατος και αλλαντικά.....	37
1.7.1 Λουκάνικα .....	37
1.7.2 Φρέσκα λουκάνικα.....	40
1.7.3 Συντηρημένα λουκάνικα .....	41
1.7.4 Λουκάνικα Frankfurters .....	42
1.7.5 Μαγειρεμένα λουκάνικα .....	43
1.7.6 Ζυμωμένα Λουκάνικα .....	44
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Μικροβιολογία του κρέατος και των προϊόντων του</b> .....	45
2. Μικροβιολογία και κίνδυνοι .....	47
2.1 Παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών στα τρόφιμα. ....	49

2.2 Κινητική ανάπτυξης μικροοργανισμών.....	50
2.3 Μοντέλα επίδρασης της θερμοκρασίας.....	52
2.4 Μικροβιολογία στο κρέας.....	53
2.5 Μικροβιολογία ζυμωμένων προϊόντων κρέατος.....	54
2.6 Το κρέας ως υπόστρωμα για μικροβιακή ανάπτυξη.....	56
2.6.1 Γενικά για τα βακτήρια.....	56
2.6.2 Βακτήρια στο κρέας και στα προϊόντα του.....	57
2.6.3 Μύκητες στο κρέας και στα προϊόντα του.....	66
2.6.4 Παράσιτα – Πρωτόζωα στο κρέας και στα προϊόντα του.....	67
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Μέθοδοι συντήρησης και συσκευασίας.....</b>	<b>69</b>
3.1 Επίδραση της συσκευασίας, της θερμοκρασίας και της αποθήκευσης στο κρέας.....	69
3.1.1 Νωπό κρέας.....	69
3.1.2 Κατεψυγμένο κρέας.....	70
3.2 Ιοντίζουσες Ακτινοβολίες.....	71
3.3 Χημικά συντηρητικά.....	72
3.4 Υπερυψηλή επεξεργασία κρέατος.....	73
3.5 Συσκευασία κρέατος.....	74
3.5.1 Συσκευασία υπό κενό.....	74
3.5.2 Συσκευασία Τροποποιημένης Ατμόσφαιρας (MAP).....	79
3.5.3 Εξοπλισμός για συσκευασία MAP.....	84
3.6 Αντιμικροβιακή Συσκευασία στη βιομηχανία κρέατος - Ενεργός Συσκευασία.....	86
3.7 Τάσεις για το μέλλον στη συσκευασία.....	88
3.8 Πρόσφατες εξελίξεις της ρομποτικής στη βιομηχανία κρέατος.....	88
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Διασφάλιση ποιότητας-ασφάλειας κρέατος και προϊόντων.....</b>	<b>89</b>
4. Εισαγωγή.....	91
4.1 Ανάλυση επικινδυνότητας στα κρίσιμα σημεία ελέγχου (HACCP).....	93
4.1.1 Αρχές HACCP.....	93
4.1.2 Πρότυπα για την υγιεινή και την ασφάλεια τροφίμων.....	94
4.2 Προκλήσεις για την ασφάλεια του κρέατος.....	95
4.2.1 Αντιμικροβιακές παρεμβάσεις στον αγρό.....	95
4.2.2 Αντιμικροβιακές παρεμβάσεις στο σφαγείο.....	96
4.2.3 Αντιμικροβιακές παρεμβάσεις στα προϊόντα κρέατος.....	96

4.3 Καταναλωτικές ανάγκες και προσδοκίες .....	96
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Φυσικά αντιμικροβιακά και εδώδιμες μεμβράνες .....</b>	<b>98</b>
5.1 Εισαγωγή.....	99
5.2 Ιστορική αναδρομή των φυσικών αντιμικροβιακών.....	99
5.3 Ρόλος των πρόσθετων ουσιών στα τρόφιμα .....	100
5.4 Ορισμός και δράση χημικών προσθέτων .....	101
5.5 Φυσικά απαντώμενα συστατικά – Φυτικές πηγές .....	102
5.6 Πηγές φυσικών αντιμικροβιακών από φυτά.....	102
5.7 Φυσικά φαινορικά συστατικά .....	107
5.8 Μηχανισμοί δράσης .....	110
5.9 Παράγοντες που επηρεάζουν τη δραστικότητα .....	112
5.10 Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση των συστατικών .....	113
5.11 Εφαρμογές στο κρέας .....	113
5.12 Συνοψίζοντας για τα φυσικά αντιμικροβιακά.....	115
5.13 Εδώδιμες μεμβράνες .....	116
5.13.1 Εισαγωγή .....	116
5.14 Η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών .....	117
5.14.1 Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC).....	120
5.14.2 Χιτοζάνη .....	121
5.15 Ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών σε εδώδιμες μεμβράνες .....	125
5.15.1 Εφαρμογή εδώδιμων μεμβρανών στο κρέας και τα προϊόντα του .....	126
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>129</b>
6.1 Σκοπός .....	129
6.2 Συσκευές, όργανα και υλικά .....	130
6.3 Πειραματική διαδικασία .....	131
6.4 Μετρήσεις & αναλύσεις .....	135
6.5 Σχεδιασμός πειραμάτων & στατιστική επεξεργασία.....	146
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Αποτελέσματα και Συζήτηση.....</b>	<b>149</b>
7.1 Εισαγωγή.....	149
7.2 Αποτελέσματα με βάση τις εδώδιμες μεμβράνες.....	150
7.2.1 Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης.....	150
7.2.2 Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC .....	155
7.2.3 Ποιοτικά χαρακτηριστικά-Αναλύσεις υφής και χρώματος .....	159

7.3 Αποτελέσματα με βάση τις φυσικές αντιμικροβιακές ουσίες .....	170
7.3.1 Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου .....	170
7.4 Ειδικό Ρυθμό Ανάπτυξης.....	190
7.4.1 Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης.....	191
7.4.2 Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC .....	194
7.4.3 Δείγματα με ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στην κρεατόμαζα... ..	197
7.4.4 Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης.....	199
7.4.5 Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC .....	202
7.4.6 Δείγματα με ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στην κρεατόμαζα... ..	205
7.5 Προσαρμογή στο μοντέλο Arrhenius.....	208
7.6 Προσδιορισμός των χρόνων ζωής των δειγμάτων .....	215
7.7 Ανάλυση συσχέτισης.....	216
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Συμπεράσματα και προτάσεις .....</b>	<b>221</b>
8.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	221
8.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ .....	224
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>226</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....</b>	<b>232</b>

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κατανάλωση του κρέατος και των προϊόντων του από τους ανθρώπους έχει μακρά ιστορία. Οι άνθρωποι έχουν το κρέας ως βασικό συστατικό της διατροφής τους εδώ και χιλιάδες χρόνια. Το κρέας είναι πηγή πρωτεϊνών και θρεπτικών συστατικών περιλαμβάνοντας, πολυάριθμες ζωτικές βιταμίνες, μέταλλα και ιχνοστοιχεία. Επίσης, αποτελεί μία ένδειξη πλούτου και ευμάρειας σε ορισμένες χώρες (Arihara K.,2006, Scollan N. et. al., 2006).

Οι απαιτήσεις των καταναλωτών για ασφαλή, υγιεινά και με σταθερή ποιότητα τρόφιμα ολοένα και αυξάνονται. Πολλοί καταναλωτές ενδιαφέρονται για τη διατροφή τους και την υγεία τους. Στη πυραμίδα της διατροφής, το κρέας κατηγοριοποιείται στην ομάδα τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, όπως είναι τα αυγά και τα ψάρια. Παρόλα αυτά οι καταναλωτές συνδέουν το κρέας με μία αρνητική εικόνα, που περιέχει πολλά λιπαρά και θεωρείται ως ένα τρόφιμο που ενισχύει το κίνδυνο καρκινογένεσης (Kerry J. et. al., 2006).

Προς απάντηση, η βιομηχανία τροφίμων, υποστηριζόμενη από την ερευνητική κοινότητα, προσπαθεί να βελτιώσει την ποιότητα και την ασφάλεια του κρέατος και των προϊόντων του και να ανακαλύψει μεθόδους διατήρησής τους, καλύπτοντας τις απαιτήσεις των καταναλωτών. Η έννοια της ποιότητας του κρέατος και των προϊόντων του περιλαμβάνει ενδογενή ποιοτικά χαρακτηριστικά, όπως το χρώμα, το άρωμα, η σκληρότητα και η εμφάνιση, καθώς και χαρακτηριστικά, όπως η υγιεινή και η ασφάλεια (Arihara K.,2006, Gerhard Feiner, 2006).

Η συσκευασία του φρέσκου κρέατος εφαρμόζεται για να αποφευχθεί η μόλυνση του από μικροοργανισμούς, να καθυστερήσει η μικροβιολογική του αλλοίωση, να μειωθεί η απώλεια υγρασίας και να διασφαλιστεί η διατήρηση του κόκκινου χρώματός του. Αν και έχουν γίνει σημαντικές βελτιώσεις στον τομέα της συσκευασίας και της επεξεργασίας των τροφίμων για τη συντήρηση απουσία χημικών προσθετικών ουσιών, τα συντηρητικά εξακολουθούν να

διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην προστασία των τροφίμων (Kerry J. et. al., 2006, Y.H. Hui et. al., 2001).

Το γεγονός ότι τα χημικά συντηρητικά χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων για πολλά χρόνια και μπορεί να προκαλούν αρνητικές συνέπειες στην υγεία των ανθρώπων, έστρεψε τους επιστήμονες στην εύρεση νέων μεθόδων συντήρησης. Η ισχυρή καταναλωτική ζήτηση για ασφαλή και υψηλής ποιότητας τρόφιμα ανέπτυξε την πρόκληση της αντικατάστασης των χημικών συντηρητικών και των τεχνητών αντιμικροβιακών με φυσικά αντιμικροβιακά συστατικά. Τα φυσικά αντιμικροβιακά μειώνουν την ανάγκη για αντιβιοτικά, ελέγχουν τη μικροβιακή αλλοίωση και βελτιώνουν τη διάρκεια ζωής των τροφίμων (Tajkarimi M. et. al., 2010).

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες διαφόρων φυτών που χρησιμοποιούνται σήμερα ως καρυκεύματα στα τρόφιμα και τα ποτά έχουν αναγνωριστεί εδώ και αιώνες. Πρώτοι οι Αιγύπτιοι χρησιμοποίησαν εκχυλίσματα φυτών (μπαχαρικά και έλαια) ως αντιμικροβιακά για τη συντήρηση των τροφίμων, καθώς επίσης και για τη βαλσάμωση. Αν και οι αρχαίοι πολιτισμοί αναγνώρισαν την αντισηπτική ή την αντιμικροβιακή δυνατότητα πολλών φυτικών εκχυλισμάτων, μόλις το 18ο αιώνα οι επιστημονικές πληροφορίες καθιέρωσαν τα αντιμικροβιακά αποτελέσματα των ουσιών αυτών από διάφορα φυτά (Davidson M. et. al., 2005).

Τα φυτά, τα βότανα, και τα μπαχαρικά, καθώς επίσης και τα παραγόμενα από αυτά εκχυλίσματα, έλαια και ενώσεις, περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό ουσιών που είναι γνωστές για την παρεμποδιστική δράση τους στις διάφορες μεταβολικές δραστηριότητες των βακτηρίων και των μυκήτων, αν και πολλές από αυτές τις ουσίες αξιοποιούνται ακόμα ημιτελώς. Πολλές έρευνες πραγματοποιούνται για να αναγνωριστούν οι ενώσεις που υπάρχουν στα φυσικά αντιμικροβιακά και είναι υπεύθυνες για την αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική τους δράση. Παραδείγματα φυσικών αντιμικροβιακών είναι το σκόρδο, το δενδρολίβανο, το γαρούφαλλο, ο κορίανδρος, η ρίγανη και το θυμάρι (Davidson M. et. al., 2005, Roller S., 2003).

Επίσης, τα τελευταία χρόνια, μεγάλο ενδιαφέρον υπάρχει για την εύρεση υλικών με δυνατότητα σχηματισμού μεμβρανών και αντιμικροβιακής

δραστηριότητας, που θα ενισχύουν την ασφάλεια των τροφίμων και θα επιμηκύνουν το χρόνο ζωής τους. Η αντιμικροβιακή συσκευασία είναι από τις πιο υποσχόμενες μεθόδους ενεργούς συσκευασίας, καθώς εμφανίζεται ιδιαίτερα αποτελεσματική στην μείωση της μικροβιολογικής αλλοίωσης και στο πληθυσμό των παθογόνων μικροοργανισμών που μολύνουν τα τρόφιμα (Dutta P., et. al., 2008).

Η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών για την προστασία και συντήρηση των τροφίμων εφαρμόζεται ευρέως εξαιτίας των πολλών πλεονεκτημάτων τους έναντι των συνθετικών υλικών, όπως το γεγονός ότι είναι βιοδιασπώμενα και φιλικά προς το περιβάλλον. Οι εδώδιμες μεμβράνες παρέχουν μια φυσική επίστρωση στο τρόφιμο που μπορεί να εμποδίζει την απώλεια υγρασίας και να επιτρέπει την ανταλλαγή αερίων, όπως είναι το οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα. Επίσης, εμποδίζει το τρόφιμο να επιμολυνθεί μικροβιακά καθώς και να χάσει σημαντικά χαρακτηριστικά του, όπως το χρώμα, το άρωμα και η υφή (Dutta P., et. al., 2008, Ponce A. et. al, 2008).

Το κύριο πλεονέκτημα των επικαλυπτικών μεμβρανών είναι ότι μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το επικαλυπτόμενο προϊόν. Αυτό συμβάλλει στη μείωση της περιβαλλοντικής μόλυνσης, αφού το περίβλημα των προϊόντων δεν πετάγεται ή ακόμα και αν δε καταναλώνεται, είναι φιλικό προς το περιβάλλον διότι τα υλικά που το συνθέτουν είναι βιοδιασπώμενα. Τέλος, οι μελέτες της δράσης των ενσωματωμένων φυσικών αντιμικροβιακών στις εδώδιμες μεμβράνες είναι όλο και περισσότερες. Οι επικαλυπτικές μεμβράνες αυτές επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής και διατηρούν τη ποιότητα στα τρόφιμα, εμποδίζοντας τη μικροβιολογική ανάπτυξη και αλλοίωση του προϊόντος (Ponce A. et. al, 2008).





# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Το κρέας και τα προϊόντα του**

## **1. Σύνθεση κρέατος**

### **1.1 Εισαγωγή**

Το ενδιαφέρον για το κρέας και τα προϊόντα του είναι μεγάλο, γι' αυτό το λόγο θα πρέπει κανείς να γνωρίζει από τι αυτό αποτελείται, ποια είναι τα συστατικά του μέρη και η αναλογία τους, και τον τρόπο που προσδιορίζεται κάθε συστατικό του. Επίσης, εξίσου ενδιαφέρουσα είναι η γνώση της προέλευσης του κρέατος, των παραγόντων που προκαλούν τη μεταβολή του συναρτήσει του χρόνου και ο προσδιορισμός της δομής του. Αυτές οι πληροφορίες παρέχουν καλύτερη κατανόηση σχετικά με τη χρήση του κρέατος και των προϊόντων του στη διατροφή, τη βελτίωσή τους, ώστε να είναι πιο ευχάριστα και ασφαλέστερα προς κατανάλωση καθώς και τη βελτιστοποίηση των χαρακτηριστικών τους για την περαιτέρω επεξεργασία, αποθήκευση και διανομή αυτών (Y.H. Hui et. al., 2001).

### **1.2 Ορισμός**

Σύμφωνα με την ευρύτερη έννοια, το κρέας, είναι το βρώσιμο μεταθανάτιο συστατικό που προέρχεται από το ζωικό πληθυσμό. Στον πληθυσμό αυτό περιλαμβάνονται εξημερωμένα ζώα όπως βοοειδή, χοίροι, πρόβατα, αίγες και πουλερικά, καθώς και ζώα από την άγρια φύση, όπως ελάφια, λαγοί και ψάρια.

Οι περισσότερες χώρες σήμερα με τον όρο “κρέας”, εννοούν «το μυϊκό ιστό συμπεριλαμβανομένων των λιπαρών και του δέρματος», και όχι αποκλειστικά το μυϊκό ιστό. Αυτό κατά καιρούς προκαλεί σύγχυση στο μέσο καταναλωτικό κοινό, το οποίο θεωρεί ως κρέας το μυϊκό ιστό, αγνοώντας ότι τα λιπαρά και το δέρμα περιλαμβάνονται επίσης στον όρο “κρέας”. Ακόμη, σε ορισμένες κατηγορίες κρέατος δεν περιλαμβάνονται τα λιπαρά και το δέρμα, κάνοντας τη σύγχυση εντονότερη. Το ποσό του άπαχου κρέατος που λαμβάνεται από ένα

σφάγιο είναι στα βοοειδή περίπου 35%, στους χοίρους περίπου 45%, στο μοσχάρι κρέας περίπου 38% και στο αρνί περίπου 35%.

Τα λιπαρά αποτελούν επίσης μέρος της ισορροπημένης ανθρώπινης διατροφής και η παρουσία λίπους στο κρέας και τα προϊόντα του έχει τεχνολογικούς καθώς επίσης και οργανοληπτικούς και θρεπτικούς σκοπούς. Η σχέση μεταξύ της κατανάλωσης των λιπαρών και της αύξησης του βάρους, εντούτοις, είναι αυτήν την περίοδο ένα θέμα μείζονος ενδιαφέροντος, καθώς η υπερβολική κατανάλωση λίπους μπορεί να είναι μία από τις αιτίες των αυξανόμενων επιπέδων παχυσαρκίας παγκοσμίως.

Το κύριο μέρος των ζωντανών ζώων αποτελείται, με εξαίρεση το δέρμα, από το μυϊκό ιστό, τα λιπαρά και τα οστά. Από αυτά, ο μυϊκός ιστός είναι πιο σημαντικός και συχνά θεωρείται από το μέσο καταναλωτικό κοινό συνώνυμο με το 'κρέας'. Ωστόσο, τα λιπαρά και ορισμένα οστά συχνά επεξεργάζονται και χρησιμοποιούνται μαζί με το μυϊκό ιστό και γι' αυτό το λόγο πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στον ευρύτερο ορισμό του κρέατος.

Η δομή του κρέατος ορίζεται ως το σύνολο των συστατικών, της διάταξής τους, και της αλληλεξάρτησης μεταξύ τους, διαμορφώνοντας έτσι ένα ενοποιημένο, αρμονικό σύνολο. Για τα ζώα που ανατρέφονται για να παράγουν κρέας για τους ανθρώπους, μεγαλύτερη έμφαση δίνεται στη μυϊκή ανάπτυξή τους. Το ποσοστό της μυϊκής μάζας του ζώου σχετίζεται με διάφορους παράγοντες, όμως οι τρεις κυριότεροι είναι ο συνδετικός ιστός, τα λιπαρά και ο μυϊκός ιστός, ο οποίος εκφράζεται από το λόγο του μυός προς τα οστά. Οι μύες ποικίλλουν από 25% (αρνί) έως 50% (γαλοπούλα) του βάρους του ζωντανού ζώου και ο λόγος του μυός προς τα οστά από 1,8 (κοτόπουλο) έως 5,0 (ελάφι) (Y.H. Hui et. al., 2001).

### **1.3 Περιγραφή και σύνθεση μυών**

Οι μύες βοηθούν τα ζώα, ώστε να κινούν το σκελετό τους, καθώς επίσης συμμετέχουν και σε συγκεκριμένες λειτουργίες όπως η αναπνοή, η κατάποση

και η πέψη. Οι μύες διακρίνονται σε δύο κατηγορίες σε: γραμμωτούς και λείους.

Οι γραμμωτοί μύες κατηγοριοποιούνται στους καρδιακούς και στους σκελετικούς μύες. Οι καρδιακοί μύες βρίσκονται στην καρδιά και η λειτουργία τους είναι η διανομή και συλλογή του αίματος σ' όλο το σώμα. Επιπλέον, οι σκελετικοί μύες κρατούν το σκελετό σε ισορροπία και τον κινούν, συνδεδεμένοι μέσω των τενόντων με τα οστά.

Οι λείοι μύες έχουν παρόμοιες λειτουργίες με τους γραμμωτούς μύες, όμως παρουσιάζουν κάποιες διαφορετικές ιστολογικές δομές. Βρίσκονται κυρίως στα τοιχώματα των οργάνων του πεπτικού και των αιμοφόρων αγγείων του κυκλοφορικού συστήματος.

Οι μεταθανάτιοι μύες εμφανίζουν ποικιλία στο χρώμα, το οποίο κυμαίνεται από σκούρο κόκκινο σε αχνό, φωτεινό γκρι. Αυτή η ποικιλία είναι αποτέλεσμα της συγκέντρωσης της μυοσφαιρίνης καθώς και άλλων βιολογικών παραγόντων, όπως το pH. Η μυοσφαιρίνη είναι μία πρωτεΐνη που δεσμεύει το οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα και το μεταφέρει από μυ σε μυ κατά τη διάρκεια της μεταβολικής διεργασίας. Χαρακτηριστικό είναι ότι οι μύες του στήθους των πουλερικών είναι αχνοί ή λευκοί στο χρώμα και περιλαμβάνουν ελάχιστες ποσότητες μυοσφαιρίνης, ενώ ο μύς του μηρού του ελαφιού έχει χρώμα σκούρο κόκκινο και περιλαμβάνει περισσότερο από τη διπλάσια ποσότητα μυοσφαιρίνης (Y.H. Hui et. al., 2001).

Μία απλή προσέγγιση για τον προσδιορισμό της σύνθεσης των μυών είναι η χρήση έμμεσων αναλύσεων όπως οι αναλύσεις εγγύς υπέρυθρου (Near Infrared Analysis - NIR) για την ποσοτικοποίηση της υγρασίας, των πρωτεϊνών, των λιπιδίων, της τέφρας και των υδατανθράκων. Οι μύες, ανάλογα με το είδος και την προέλευσή τους ποικίλλουν αρκετά σε αυτά τα συστατικά, με τη διαφορετική συσσώρευση των λιπιδίων να επιδρά περισσότερο σ' αυτήν την ποικιλία. Κατά μέσον όρο, οι περισσότεροι μύες περιέχουν περίπου 1% τέφρα (που προκύπτει κυρίως από στοιχεία όπως κάλιο, φωσφόρο, νάτριο, χλώριο, μαγνήσιο, ασβέστιο, και σίδηρο), 1% υδατάνθρακες (κυρίως γλυκογόνο εν ζωή και γαλακτικό οξύ μεταθανάτια), 5%

λιπίδια, 21% αζωτούχες ενώσεις (κυρίως πρωτεΐνες), και το υπόλοιπο (72%) ως υγρασία (Y.H. Hui et. al., 2001).

### **1.3.1 Περιεκτικότητα σε μυϊκό ιστό**

Το σημαντικότερο συστατικό του κρέατος είναι το άπαχο κρέας, που αποτελείται κυρίως από τις μυϊκές ίνες. Οι μυϊκές πρωτεΐνες είναι τα συστατικά στη μυϊκή ίνα που δεσμεύουν το νερό ή που αλληλεπιδρούν μαζί του για να το συγκρατήσουν στη μυϊκή ίνα. Η δομική ακεραιότητα και η δυνατότητα των μυϊκών πρωτεϊνών να δεσμεύουν το νερό έχουν επιπτώσεις στην τρυφερότητα και την υφή του κρέατος (Gerhard Feiner, 2006).

### **1.3.2 Περιεκτικότητα σε λίπος**

Η ενδομυϊκή περιεκτικότητα σε λίπος έχει αποδειχθεί ότι έχει επιπτώσεις στα οργανοληπτικά (γεύση, υφή, τρυφερότητα) και τα εμφανισιακά χαρακτηριστικά του κρέατος. Οι Savell και Cross (1988) ανέπτυξαν το “παράθυρο της αποδοχής” (Window of Acceptability), για να καταδείξουν τη γενική σχέση μεταξύ του ρόλου του αυξανόμενου ενδομυϊκού λίπους στο χοιρινό, αρνίσιο και βοδινό κρέας και του βαθμού της αποδοχής του από τους καταναλωτές (palatability). Γενικά, όσο το περιεχόμενο σε λίπος αυξάνεται, αυξάνεται και η ευγευστότητά του. Εντούτοις, η βελτίωση αυξανόμενου του ποσοστού δεν είναι ανάλογη σε όλα τα επίπεδα. Εάν η περιεκτικότητα σε λίπος είναι μικρότερη από 3%, η ευγευστότητα μειώνεται εμφανώς με κάθε μείωση του ποσοστού.

Στην πραγματικότητα, αυτή είναι η πιο απότομη κλίση στο διάγραμμα ποσοστού-ευγευστότητας. Αν το ποσοστό αυξάνεται από 3% σε περίπου 6%, η ευγευστότητα του κρέατος βελτιώνεται, αλλά όχι τόσο εντυπωσιακά όσο η αντίστοιχη στα χαμηλότερα επίπεδα. Όταν η περιεκτικότητα σε λίπος υπερβεί το 7,3%, το λίπος είναι ιδιαίτερα ορατό και το δείγμα χαρακτηρίζεται ως πάρα

πολύ λιπαρό από ενημερωμένους καταναλωτές σε θέματα υγείας (Joseph Kerry et. al., 2002).

Κρέας με πολύ ορατό λίπος τίθεται υπό αμφισβήτηση για την κατανάλωσή του, καθώς ο αυξημένος κίνδυνος επίπτωσης σε στεφανιαίες καρδιακές παθήσεις, παχυσαρκία ή ορισμένες μορφές καρκίνου στους ανθρώπους μπορεί να έχει επίπτωση στην καταναλωτική αντίληψη για την αποδοχή του προϊόντος. Επομένως, κρέας με περιεκτικότητα σε λίπος μεταξύ 3% και 7,3% θεωρείται γενικά αποδεκτό. Οι ενημερωμένοι καταναλωτές σε θέματα υγείας και διατροφής πολλές φορές μπορεί να είναι πρόθυμοι να θυσιάσουν την ευγευστότητα για χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λίπος.

Τα λιπαρά στους μύες σχετίζονται με το συνολικό πάχος του σώματος του ζώου. Όταν εξετάζονται τμήματα των μυών από παχύσαρκα ζώα, υπάρχει γενικά περισσότερο ενδομυϊκό λίπος σε σχέση με τα τμήματα από πιο αδύνατα ζώα. Εντούτοις, μερικά ζώα έχουν μεγάλη ικανότητα να αναπτύξουν ενδομυϊκό λίπος σε σύγκριση με το συνολικό τους πάχος, ενώ αντίθετα άλλα ζώα αναπτύσσουν μεγάλες ποσότητες υποδόρειου λίπους και πολύ μικρότερες ποσότητες ενδομυϊκού λίπους.

Μερικοί μύες μπορεί να περιέχουν μέχρι και 15% λιπίδια (βάσει του φρέσκου/νωπού βάρους), ενώ άλλοι μπορεί να περιέχουν λιγότερο από 2%. Ανεξάρτητα από την περιεκτικότητα σε λιπίδια, η αναλογία πρωτεϊνών/υγρασίας παραμένει αρκετά σταθερή στην τιμή 0,3 για τους ώριμους μύες. Έτσι, μία ταχεία, εύκολη και ακριβής αξιολόγηση της σύνθεσης των μυών πραγματοποιείται με τη χρήση της ανάλυσης της υγρασίας. Εάν υποθεθεί ότι η τέφρα και οι υδατάνθρακες δεν ποικίλλουν πολύ και η περιεκτικότητά τους υπολογίζεται περίπου σε 2%, τότε, δεδομένου του σταθερού λόγου πρωτεϊνών/υγρασίας και του γεγονότος ότι το νερό προσδιορίζεται με ομογενοποίηση του δείγματος και ξήρασή του, το μόνο άγνωστο που μένει είναι η περιεκτικότητα σε λιπίδια. Αυτή υπολογίζεται συνήθως από διαφορά (Gerhard Feiner, 2006).

### 1.3.3 Πρωτεΐνες στο κρέας

Οι πρωτεΐνες είναι βασικά δομικά συστατικά για τη λειτουργία και την αναπαραγωγή των κυττάρων, και οι επαρκείς συγκεντρώσεις τους έχουν ιδιαίτερο όφελος για τον οργανισμό, ειδικά στην περίπτωση των ενηλίκων, όπου ο μυϊκός ιστός αναδομείται, (π.χ. σε αθλητές ή σε άτομα που αναρρώνουν μετά από χειρουργική επέμβαση). Το κρέας ως τρόφιμο αποτελεί μία καλή πηγή ποικίλων πρωτεϊνών και περιέχει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Κατά συνέπεια οι πρωτεΐνες του κρέατος έχουν υψηλή βιολογική αξία, υψηλότερη σε σχέση με τις φυτικές πρωτεΐνες, καθώς στις τελευταίες μερικά από τα αμινοξέα υπάρχουν σε περιορισμένες ποσότητες. Για παράδειγμα, η λυσίνη είναι το περιοριστικό αμινοξύ στο σίτο, η τρυπτοφάνη στον αραβόσιτο και τα θειούχα αμινοξέα στη σόγια. Έτσι είναι απαραίτητο στους χορτοφάγους να καταναλώνουν ευρεία ποικιλία φυτικών τροφίμων, ώστε να λαμβάνουν τις απαραίτητες ποσότητες από κάθε αμινοξύ. Το κρέας είναι μία πλούσια πηγή σε ταυρίνη. Η ταυρίνη θεωρείται απαραίτητο αμινοξύ για τα νεογνά, καθώς φαίνεται να έχουν περιορισμένη δυνατότητα να το συνθέσουν. Η συγκέντρωση της ταυρίνης στο μητρικό γάλα των χορτοφάγων μητέρων έχει αποδειχθεί ότι είναι αρκετά χαμηλότερες σε σχέση με την αντίστοιχη των παμφάγων μητέρων (Gerhard Feiner, 2006).

Οι ινώδεις πρωτεΐνες είναι υπεύθυνες για τους συσταλτικούς μηχανισμούς και έτσι βραχύνουν ή επιμηκύνουν το μυ για τις λειτουργίες της κίνησης και της υποστήριξης. Τις σαρκοπλασμικές πρωτεΐνες αποτελούν κυρίως τα ένζυμα και η μυοσφαιρίνη. Οι επιφανειακές πρωτεΐνες προέρχονται από τη δομή του συνδετικού ιστού, που υπάρχει ως μέρος του μυ. Ο σημαντικότερος αντιπρόσωπος αυτής της κατηγορίας είναι το κολλαγόνο. Το κολλαγόνο είναι ανθεκτικό στις περισσότερες ενζυμικές αντιδράσεις, εκτός από αυτήν της κολλαγενάσης. Το κολλαγόνο, όταν θερμαίνεται στο νερό, μετατρέπεται σε ζελατίνη, η οποία υδρολύεται εύκολα από διάφορα ένζυμα. Περίπου το ένα τρίτο των υπολειμμάτων των αμινοξέων του κολλαγόνου αποτελείται από τη γλυκίνη, ενώ ένα άλλο τμήμα, περίπου ένα πέμπτο, είναι προλίνη και υδροξυπρολίνη. Είναι η μόνη γνωστή πρωτεΐνη που περιέχει την

υδροξυπρολίνη. Η ανάλυση υδροξυπρολινών χρησιμοποιείται συχνά ως μέτρο για το συνολικό καθορισμό του συνδετικού ιστού στους μύες. Μία άλλη επιφανειακή πρωτεΐνη μικρότερης συγκέντρωσης είναι η ελαστίνη. Είναι ακόμη πιο ανθεκτική στη μετουσίωση, καθώς για τη μετουσίωσή της απαιτούνται υψηλές θερμοκρασίες και παρουσία ισχυρών βάσεων ή οξέων. Η ελαστίνη περιέχει κατά το ένα τρίτο των αμινοξέων της, γλυκίνη και κατά το ένα δέκατο, προλίνη. Μία άλλη σημαντική επιφανειακή πρωτεΐνη είναι η ρετικουλίνη. Η σύνθεση των αμινοξέων της είναι παρόμοια με αυτήν του κολλαγόνου, και γι' αυτό το λόγο θεωρείται συχνά μορφή του κολλαγόνου που περιέχει λιπίδια και υδατάνθρακες (Gerhard Feiner, 2006).

Εκτός από τις πρωτεΐνες, υπάρχουν και άλλα σημαντικά θρεπτικά συστατικά στους μύες. Αρχικά, οι βιταμίνες, οι οποίες κατατάσσονται σε δύο ομάδες με βάση τη διαλυτότητά τους σε υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές. Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες είναι σχετικά περιορισμένες, λόγω της μικρής ποσότητας των λιπιδίων, που υπάρχουν στους περισσότερους μύες. Ωστόσο, οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες, κυρίως οι βιταμίνες Β, υπάρχουν σε επαρκείς ποσότητες και λειτουργούν ως πηγές, ώστε να καλυφθούν οι καθημερινές ανάγκες της ανθρώπινης διατροφής. Περιλαμβάνουν τη θειαμίνη (Β1), τη ριβοφλαβίνη (Β2 ή Ε101), τη νιασίνη (Β3), το παντοθενικό οξύ (Β5), την πυριδοξίνη (Β6), τη βιοτίνη (Β7 ή βιταμίνη Η), το φολικό οξύ (Β9 ή βιταμίνη Μ), και τη βιταμίνη Β12. Το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) δεν υπάρχει στους μύες, και γι' αυτό το κρέας δεν θεωρείται 'εξαιρετικό' τρόφιμο από θρεπτική σκοπιά (Gerhard Feiner, 2006).

Οι αζωτούχες, μη πρωτεϊνούχες εκχυλίσιμες ουσίες περιλαμβάνουν κρεατίνη, νουκλεοτίδια, αμμωνία, μεθυλαμίνες, ελεύθερα αμινοξέα και άλλα παράγωγα των πρωτεϊνών. Δύο από τις ουσίες αυτές που εντοπίζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι η καρνοσίνη και ανσερίνη. Άλλα συστατικά περιλαμβάνουν πτητικά οργανικά καρβονύλια, όπως ακεταλδεΐδη, ακετόνη, διοξειδίο του άνθρακα και φορμαλδεΐδη, ουσίες που εντοπίζονται στους μύες. Τέλος, εντοπίζονται και πολλές θειούχες ενώσεις, όπως υδρόθειο, μεθυλομερκαπτάνες και μεθυλοσουλφίδια.



Η μοναδική διαφορά μεταξύ των πρωτεϊνών ως προς τη σύνθεση, των νουκλεϊκών οξέων, και των βιταμινών είναι ότι στις πρωτεΐνες, τα μόρια του αζώτου είναι στις πλευρικές αλυσίδες, ενώ στις άλλες δύο ομάδες, τα μόρια αζώτου ενσωματώνονται στις δομές των δακτυλίων. Η πρωτεΐνη μυσσφαιρίνη αποτελεί εξαίρεση στην παραπάνω δομή, δεδομένου ότι έχει ένα σφαιρικό πρωτεϊνικό μέρος και περιέχει το σίδηρο ως κεντρικό ιόν. Το ιόν του σιδήρου στη μυσσφαιρίνη παραλληλίζεται με το αντίστοιχο του κοβαλτίου στη βιταμίνη B12 (Υ.Η. Hui et. al., 2001).

Σε ένα συνέδριο για την επικοινωνία και το Marketing του κρέατος (CSIRO 2000) ο Dr. Lynne Cobias περιέγραψε κάποια θρεπτικά και μη θρεπτικά συστατικά τα οποία έχουν δυνητικά υγιεινές ιδιότητες. Αυτά είναι: (Joseph Kerry et. al., 2002).

- *Λιποϊκό οξύ*: έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες και φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ωφέλιμο στους διαβητικούς και στον περιορισμό του καταρράκτη.
- *Καρνοσίνη*: είναι ένα διπεπτίδιο αποτελούμενο από αλανίνη και ιστιδίνη. Εντοπίζεται στο κρέας και τα προϊόντα του και έχει αντιοξειδωτική δράση. Πειράματα σε ποντίκια έδειξαν ότι έχει κάποια αντικαρκινική δράση, ενώ συνεισφέρει στη συνολική κυτταρική ομοίωση.
- *Βιολογικές αμίνες*: συντίθενται από τη δικαρβοξυλίωση των αμινοξέων από βιολογικές δράσεις που επιτελούν βακτήρια. Έχει αποδειχθεί ότι βοηθούν στη λειτουργία των εντέρων και ενισχύουν την πνευματική απόδοση.
- *Νουκλεοτίδια*: προστίθενται σε προϊόντα με εντερικά πρόσθετα και ενισχύουν το γενικό ανοσοποιητικό σύστημα.
- *Γλουταθειόνη*: είναι ένα τριπεπτίδιο που περιέχει κυστεΐνη. Πιθανολογείται ότι είναι ο παράγοντας που ενισχύει την απορρόφηση σιδήρου.
- *Χολίνη*: Με βάση νεώτερες έρευνες αποτελεί θρεπτική ουσία. Στις ΗΠΑ θεωρείται ως απαραίτητο συστατικό της διατροφής, με μέση επαρκή ημερήσια δόση στα 550 mg/d για τους άνδρες και 425 mg/d για τις γυναίκες. Αποτελεί βασικό συστατικό των νευροδιαβιβαστών, καθώς μετατρέπεται σε ακετυλοχολίνη, συστατικό απαραίτητο για το κεντρικό νευρικό σύστημα.

Ακόμη, η χολίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα, το μεταβολισμό, ενώ βελτιώνει και την απόδοση των αθλητών. Το βοδινό κρέας, και ειδικότερα το συκώτι είναι πηγή πλούσια σε χολίνη.

- *Καρνιτίνη*: αποτελείται από λυσίνη και μεθειονίνη. Η καρνιτίνη είναι μεταφορέας λιπαρών οξέων μεγάλου μοριακού βάρους στα μιτοχόνδρια για την πραγματοποίηση της οξειδωσης και την παραγωγή ενέργειας, συνεπώς θεωρείται ότι βελτιώνει την απόδοση των αθλητών. Ακόμη, έχει αντιοξειδωτική δράση και είναι απαραίτητη για τη σωστή ανάπτυξη και λειτουργία του εγκεφάλου. Μεγάλο μέρος της καρνιτίνης λαμβάνεται από τη διατροφή, και ιδιαίτερα από το “κόκκινο” κρέας και το αρνί.

Όλα τα παραπάνω συστατικά του κρέατος συνεισφέρουν στον ανθρώπινο οργανισμό, καταπολεμώντας καρκίνους, αναιμία, καταρράκτη, ενισχύουν το ανοσοποιητικό και το νευρικό σύστημα, συνεισφέρουν στην πέψη και την υγεία του σκελετού, ρυθμίζουν το βάρος του οργανισμού και γενικά χρησιμοποιούνται και ως πρόσθετα σε ειδικές διατροφές αθλητών (Joseph Kerry et. al., 2002).

#### **1.4 Χημεία μεταθανάτιων μυών**

Η μετατροπή του μυός στο κρέας είναι μία σύνθετη διαδικασία που περιλαμβάνει πολλές βιοχημικές και φυσικές αλλαγές. Ο ιστός μυών μετατρέπεται από ένα εκτατό και μεταβολικά ενεργό σύστημα σε ένα μη εκτατό και ανενεργό, όσον αφορά τις βιοχημικές αντιδράσεις του. Η ταχύτητα και η έκταση του μεταθανάτιου μεταβολισμού έχουν ιδιαίτερη επίδραση στις ιδιότητες του μυός και της περαιτέρω χρήσης του για τα τρόφιμα. Επίσης, ο βαθμός του περιορισμού του μεγέθους του μυός κατά τη διάρκεια της μεταθανάτιας περιόδου έχει επιπτώσεις στις ιδιότητες της υφής του κρέατος.

Ο μυϊκός ιστός είναι σύνθετος δομικά και ανομοιογενής όσον αφορά την πρωτεϊνική του σύνθεση. Το ποσοστό και ο βαθμός των μεταθανάτιων μεταβολικών αλλαγών έχουν σημαντικά αποτελέσματα στο χρώμα του κρέατος, την υφή του, και τη χρησιμότητά του για περαιτέρω επεξεργασία στα

προϊόντα κρέατος. Επιπλέον υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά του μεταθανάτιου μεταβολισμού μεταξύ των μυών από διαφορετικά είδη. Για παράδειγμα, η ηλεκτρική διέγερση μπορεί να είναι ευεργετική στην επιτάχυνση του μεταθανάτιου μεταβολισμού στο βοδινό κρέας και επομένως να αποτρέψει τον περιορισμό του μεγέθους, αλλά η επιτάχυνση του μεταβολισμού στους χοίρους μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση χλωμού, μαλακού και επιδρωμένου κρέατος. Κατά συνέπεια, η κατανόηση των βιοχημικών και φυσικών διαδικασιών στις οποίες ο μυς υποβάλλεται κατά τη μεταθανάτια περίοδο είναι απαραίτητη για το βέλτιστο σχεδιασμό των διαδικασιών σφαγής και επεξεργασίας του κρέατος για τη χρήση του στα τρόφιμα. (Gerhard Feiner, 2006, Y.H. Hui et. al., 2001).

### **1.5 Χρώμα του κρέατος**

Η γενική εμφάνιση του κρέατος είναι σημαντική για τους καταναλωτές. Αυτή περιλαμβάνει το μέγεθος, το σχήμα, το χρώμα, την κατάσταση του μυϊκού ιστού, την περιεκτικότητα λίπους και την κατάσταση του σκελετού. Όλες αυτές οι παράμετροι θεωρούνται ισοδύναμες καθώς, συνειδητά και μη, οι αγοραστές εξετάζουν τα προϊόντα πριν προβούν στην αγορά τους. Για παράδειγμα, οι καταναλωτές γνωρίζουν ότι το λιπαρό κρέας είναι λιγότερο θρεπτικό σε σχέση με το άπαχο κρέας. Ακόμη, οι καταναλωτές ελέγχουν την ομοιογένεια των προϊόντων και κατά πόσο το προϊόν ικανοποιεί τις προδιαγραφές της εταιρείας που το παράγει. Με τα σημερινά δεδομένα της βιομηχανίας κρέατος, λίγοι είναι οι καταναλωτές που θα αγόραζαν ένα προϊόν χωρίς να το ελέγξουν, κάτι που αντιπροσωπεύει την τάση των καταναλωτών να προτιμούν προϊόντα στα οποία οι προδιαγραφές σχετικά με την ασφάλεια και την ποιότητα ελέγχονται διεξοδικά. Το χρώμα του μυϊκού ιστού είναι ένας από τους πρώτους και κυριότερους παράγοντες, τον οποίο οι καταναλωτές θεωρούν και ως δείκτη της ποιότητας του προϊόντος.

Με την πάροδο του χρόνου το “κόκκινο” κρέας (μυοσφαιρίνη -  $Fe^{+2}$ ) γίνεται σταδιακά καφετί (μεταμυοσφαιρίνη -  $Fe^{+3}$ ), όταν εκτίθεται στον ατμοσφαιρικό αέρα. Ακόμη, το κρέας σταδιακά αλλοιώνεται, εξαιτίας της μικροβιακής

δραστηριότητας, με αποτέλεσμα η αλλαγή του χρώματος του κρέατος με το χρόνο να είναι ένας άμεσος δείκτης της μικροβιακής του αλλοίωσης. Παρόλα αυτά, είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι τα δύο αυτά φαινόμενα (η αλλαγή του χρώματος και η μικροβιακή μόλυνση) είναι ανεξάρτητα μεταξύ τους, καθώς με το σύγχρονο έλεγχο της υγιεινής του κρέατος διαπιστώνεται ότι στο κρέας που εκτίθεται στον ατμοσφαιρικό αέρα μεταβάλλεται το χρώμα του σε καφετί πολύ πριν αρχίσει η μικροβιακή του αλλοίωση.

Επιπλέον, το κρέας έχει την τάση να γίνεται περισσότερο τρυφερό όσο αυξάνεται ο χρόνος αποθήκευσής του, έτσι η σύγχρονη αντίληψη για τη “φρεσκάδα” του κρέατος μπορεί να έχει επιπτώσεις στην ποιότητά του. Ωστόσο, η σύνδεση μεταξύ της χρωματικής αλλαγής και της μικροβιακής επιμόλυνσης υπάρχει ακόμη, με συνέπεια να παραμένει το χρώμα ένας από τους παράγοντες ζωτικής σημασίας για τις βιομηχανίες παραγωγής προϊόντων κρέατος ανά τον κόσμο (Y.H. Hui et. al., 2001).

### **1.5.1 Η φύση του χρώματος**

Το χρώμα ενός αντικειμένου είναι η αντίληψη που δημιουργείται στο χώρο από τα διαφορετικά μήκη κύματος του φωτός που προέρχονται από το ίδιο το αντικείμενο. Όταν το φως προσκρούει σε ένα αντικείμενο, κάθε μήκος κύματος που συμβάλλει σε εκείνο το φως ακολουθεί τρεις κατευθύνσεις σε διαφορετικό βαθμό: ένα μέρος του το διαπερνά, άλλο απορροφάται, και άλλο ανακλάται. Το μέρος που ανακλάται από ένα αντικείμενο είναι και αυτό που προσδίδει το χρώμα του. Εάν η μπλε και πράσινη συνιστώσα του μήκους κύματος διαπεράσει το αντικείμενο ή/και απορροφηθεί από αυτό, τότε θα ανακλαστεί η κόκκινη συνιστώσα του μήκους κύματος, με αποτέλεσμα το αντικείμενο να απεικονίζει περισσότερο κόκκινο φως και να εμφανίζεται έτσι κόκκινο στον εγκέφαλο. Εντούτοις, το χρώμα ενός αντικειμένου εξαρτάται από την απορροφητικότητα του φωτός από τις χρωστικές ουσίες που υπάρχουν σε αυτό το αντικείμενο (Y.H. Hui et. al., 2001).

### 1.5.2 Οι χρωστικές ουσίες στο άπαχο κρέας

Το κρέας των επίγειων θηλαστικών ζώων, ιδιαίτερα των μη εξημερωμένων, είναι κόκκινο. Η χρωστική ουσία που είναι υπεύθυνη για αυτό το χρώμα είναι η πρωτεΐνη μιοσφαιρίνη. Η πρωτεΐνη αυτή αποτελείται από 153 αμινοξέα (με μοριακό βάρος περίπου 17.000 g/mol), σχηματίζοντας ένα πορφυρινικό δακτύλιο. Στο κέντρο του δακτυλίου υπάρχει κενό, αρκετά μεγάλο για να φιλοξενήσει κάποιο μεταλλικό ιόν. Οι δακτύλιοι αυτοί γενικά αφθονούν στη φύση. Για παράδειγμα, στα πράσινα φυτά πρόκειται για ιόν μαγνησίου, το οποίο δημιουργεί την πράσινη χρωστική ουσία χλωροφύλλη, ενώ στη μιοσφαιρίνη πρόκειται για ιόν σιδήρου. Ο συνδυασμός του δακτυλίου με το ιόν του σιδήρου καλείται “αίμη”.

Επειδή η μιοσφαιρίνη είναι η κυρίαρχη χρωστική ουσία στο μυ, η συγκέντρωση του σιδήρου, η συγκέντρωση της μιοσφαιρίνης και το χρώμα συνδέονται άμεσα μεταξύ τους. Έτσι, αν ένας μυς εμφανίζεται πιο κόκκινος σε σύγκριση με έναν άλλο, είναι πολύ πιθανό να περιέχει περισσότερη μιοσφαιρίνη και κατά συνέπεια περισσότερα ιόντα σιδήρου.

Η δομή του δακτυλίου της μιοσφαιρίνης περιλαμβάνει τέσσερις από τις έξι περιοχές συντονισμού που είναι διαθέσιμες στο άτομο του σιδήρου. Μία πέμπτη περιοχή συντονισμού είναι ένα μόριο ιστιδίνης, ενώ η έκτη περιοχή συντονισμού είναι διαθέσιμη για τη δέσμευση του οξυγόνου ή άλλου μικρού κατάλληλου μορίου. Η δέσμευση στις έξι περιοχές είναι κατά ένα μεγάλο μέρος υπεύθυνη για τα διάφορα χρώματα του κρέατος, κυρίως για το κόκκινο, καθώς και το πορφυρό και το καφέ.

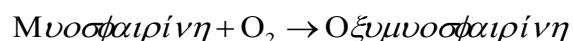
Τα επίπεδα της μιοσφαιρίνης στους μύες ποικίλλουν ανάλογα με τα είδη των ζώων, τη λειτουργία των μυών μέσα στο ζώο, και την ηλικία του ζώου. Ο βαθμός οξειδωσης του σιδήρου στο δακτύλιο της μιοσφαιρίνης ( $\text{Fe}^{+2}$  ή σιδηρούχος και  $\text{Fe}^{+3}$  ή σιδηρικός) και η ένωση που είναι συνδεδεμένη σε αυτόν επηρεάζονται κυρίως από τις συνθήκες αποθήκευσης του κρέατος.

Η περιεκτικότητα της μιοσφαιρίνης στους μύες ποικίλλει, ανάλογα με το ρόλο τους. Έτσι, μύες που εκτελούν εντονότερες κινήσεις, όπως για

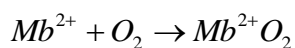
παράδειγμα οι μύες των ποδιών, έχουν υψηλότερα ποσοστά μυοσφαιρίνης, καθώς υπάρχει αυξημένη ανάγκη για αποθήκευση και μεταφορά οξυγόνου σ' αυτούς. Το περιεχόμενο της μυοσφαιρίνης αυξάνεται καθώς το ζώο μεγαλώνει σε ηλικία, με συνέπεια οι μύες από τα γηραιότερα ζώα να έχουν πιο σκούρο χρώμα σε σχέση με τους μύες από τα νεαρότερα ζώα. Επομένως, το χρώμα των μυών μπορεί να χρησιμοποιηθεί γενικά ως ένδειξη της ωριμότητας του ζώου και της ποιότητας, ανάμεσα στα είδη κρέατος (Y.H. Hui et. al., 2001).

### 1.5.3 Αντιδράσεις της μυοσφαιρίνης με το οξυγόνο

Στο ρόλο της ως αποθηκευτής και μεταφορέας οξυγόνου, η έκτη περιοχή συντονισμού στο δακτύλιο της μυοσφαιρίνης δεσμεύει το μοριακό οξυγόνο. Όταν δεσμεύεται το μόριο του οξυγόνου, το χρώμα της μυοσφαιρίνης αλλάζει από ανοικτό πορφυρό σε βαθύ κόκκινο (Y.H. Hui et. al., 2001).



ή



Αρχικά, η οξυμυοσφαιρίνη (απομονωμένη ή στο κρέας) προκαλεί ανάκλαση στα 470nm (μπλε μήκη κύματος), η οποία σταδιακά μειώνεται και καταλήγει περίπου στα 600nm (κόκκινα μήκη κύματος). Σημειώνεται ότι το ιόν του σιδήρου που συμμετέχει στην παραπάνω αντίδραση είναι το  $\text{Fe}^{2+}$ . Η έκτη περιοχή συντονισμού της μυοσφαιρίνης (ή της αιμοσφαιρίνης) δεν δέχεται αποκλειστικά και μόνο το οξυγόνο. Υπάρχουν όμως μερικοί σημαντικοί παράγοντες για το σχηματισμό σταθερών συμπλεγμάτων με άλλα μόρια. Κατ' αρχάς, η περιοχή που συγκρατεί τα μόρια αυτά στη μυοσφαιρίνη είναι μικρή και μόνο μικρά σχετικά μόρια μπορούν να προσδεθούν σε αυτήν. Δεύτερον, μόνο τα μόρια που μπορούν να προκαλέσουν χαμηλότερες ενεργειακές καταστάσεις μπορούν να διαμορφώσουν σταθερά σύμπλοκα. Αν και πολλές μικρές ενώσεις μπορούν να εκπληρώνουν τις παραπάνω προϋποθέσεις, παράγοντας μία σειρά χρωστικών ενώσεων, μόνο τρία μόρια είναι συνήθως

σημαντικά στα πλαίσια της χημείας του κρέατος: του οξυγόνου ( $O_2$ ), του μονοξειδίου του αζώτου (NO), και του μονοξειδίου του άνθρακα (CO) (Gerhard Feiner, 2006).

Οι ακριβείς λεπτομέρειες σχετικά με το πώς τα ηλεκτρόνια ανακατανέμονται στα σύμπλοκα με τα τρία παραπάνω μόρια δεν ενδιαφέρουν επί του παρόντος, εκτός από το ότι το μόριο δίνει δύο ηλεκτρόνια στο σύμπλοκο, ενώ ο σίδηρος “επανα-συνεισφέρει” τα ηλεκτρόνια σχηματίζοντας σταθερούς δεσμούς. Αυτοί οι δεσμοί αναπτύσσονται, μόνο όταν ο σίδηρος βρίσκεται στη σιδηρούχα οξειδωμένη μορφή του ( $Fe^{2+}$ ).

Στη σιδηρική μορφή ( $Fe^{3+}$ ), το μεγαλύτερο φορτίο του σιδήρου οδηγεί σε ισχυρότερους δεσμούς με τα ηλεκτρόνια, εμποδίζοντας αυτήν την επαναπροσφορά ηλεκτρονίων. Για αυτό το λόγο, η μυοσφαιρίνη στη σιδηρική της μορφή, γνωστή ως μεταμυοσφαιρίνη, δεν μπορεί να δεσμεύσει το οξυγόνο αντιθέτως δεσμεύει μόρια νερού. Η αδυναμία της μεταμυοσφαιρίνης να δεσμεύσει το οξυγόνο είναι ζωτικής σημασίας, καθώς και στο μυ και στο κρέας η μεταμυοσφαιρίνη σχηματίζεται από την οξυμυοσφαιρίνη. Στην περίπτωση των μυών ενός ζωντανού ζώου, ο σχηματισμός της μεταμυοσφαιρίνης πρέπει να αποφεύγεται, καθώς η μεταμυοσφαιρίνη δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μόριο αποθήκευσης και μεταφοράς οξυγόνου. Στην περίπτωση του κρέατος και των προϊόντων του, η μεταμυοσφαιρίνη πρέπει επίσης να αποφεύγεται, καθώς χρωματίζει το τρώσιμο καφετί, και οδηγεί σε ποιοτική υποβάθμιση του προϊόντος.

Η αντίδραση σχηματισμού της μεταμυοσφαιρίνης από την οξυμυοσφαιρίνη καλείται και αυτοξειδωση, καθώς συμβαίνει με την οξυμυοσφαιρίνη ως το μοναδικό αντιδρόν. Συγκρίνοντας το ρυθμό με τον οποίο το οξυγόνο προσδένεται στη μυοσφαιρίνη και σχηματίζει την οξυμυοσφαιρίνη (μερικά δευτερόλεπτα) με εκείνο της αυτοξειδωσης της οξυμυοσφαιρίνης σε μεταμυοσφαιρίνη (μερικές ώρες), φαίνεται ότι η αυτοξειδωση είναι μία συγκριτικά αργή αντίδραση. Παρόλα αυτά είναι εξίσου σημαντική, καθώς ευθύνεται για την αλλαγή του χρώματος στο κρέας και τα προϊόντα του, με συνέπεια την ποιοτική υποβάθμισή τους (Gerhard Feiner, 2006).

#### **1.5.4 Αντιδράσεις της μυοσφαιρίνης με το μονοξείδιο του αζώτου και το μονοξείδιο του άνθρακα**

Τα σύμπλοκα με το μονοξείδιο του αζώτου ( $Mb^{2+}NO$ ) και το μονοξείδιο του άνθρακα ( $Mb^{2+}CO$ ) διατηρούν τη μυοσφαιρίνη στη σιδηρούχα μορφή της. Ειδικά το πρώτο σύμπλοκο, που επίσης έχει βαθύ κόκκινο χρώμα, αποτελεί βασική ουσία συντήρησης του κρέατος και των προϊόντων του στη βιομηχανία τροφίμων.

Ωστόσο, το σύμπλοκο  $Mb^{2+}NO$  εξακολουθεί να θεωρείται γενικά ασταθές. Αυτό συμβαίνει, γιατί στο κρέας το οξυγόνο βρίσκεται σε πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σχέση με το  $NO$ , το οποίο συνήθως υπάρχει από ίχνη νιτρώδους νατρίου κατά τη διάρκεια του αλατίσματος. Οι μεγάλες συγκεντρώσεις του οξυγόνου μπορούν να αντικαταστήσουν το  $NO$ , το οποίο με τη σειρά του οξειδώνεται σε  $NO_3$ . Στα αλίπαστα προϊόντα, η απώλεια του  $NO$  αποτρέπεται με το μαγείρεμα, το οποίο δημιουργεί μία σταθερή ένωση με χαρακτηριστικό ροζ χρώμα, το νιτροσυλαιοχρώμιο, που ευθύνεται για το χαρακτηριστικό χρώμα των προϊόντων αυτών.

Το μονοξείδιο του άνθρακα προσδένεται στη μυοσφαιρίνη και την αιμοσφαιρίνη ισχυρότερα σε σχέση με το οξυγόνο. Όταν κάποια κρέατα, όπως το χοιρινό μαγειρεύονται σε φούρνο αερίου, η αλλαγή του χρώματος σε ροζ είναι μερικές φορές εμφανής στα εξωτερικά στρώματα του κρέατος. Η καύση παράγει μικρές ποσότητες  $CO$  ή  $NO$  που δεσμεύονται από τη μυοσφαιρίνη, σχηματίζοντας σταθερές ροζ ενώσεις που είναι οπτικά εμφανείς (Y.H. Hui et. al., 2001).

#### **1.5.5 Θεμελιώδη στοιχεία της μέτρησης του χρώματος του κρέατος**

Το χρώμα του κρέατος μετράται για πολλούς λόγους όπως τη βαθμονόμηση, τη ρύθμιση του προϊόντος σύμφωνα με τις απαιτήσεις των καταναλωτών, τη μέτρηση της απόκρισης των καταναλωτών στις αλλαγές του χρώματος και τον καθορισμό των αιτιών του αποχρωματισμού του.



Το κρέας κυρίως ανακλά το φως και το διαχέει στην επιφάνεια. Παρόλα αυτά, υπάρχει κάποια φασματική ανάκλαση από τη στιλπνή επιφάνεια του κρέατος, και λόγω του ότι το κρέας είναι μερικώς διαφανές, ένα μέρος του φωτός διαβιβάζεται κάτω από την επιφάνεια και ανακλάται εσωτερικά. Συνεπώς, όταν το ανακλώμενο χρώμα του κρέατος αξιολογείται ή μετριέται, τα δείγματα πρέπει να είναι αρκετά παχιά για να διασφαλίζεται το γεγονός ότι το φως δεν προέρχεται από αυτές τις ανακλάσεις.

Στην περίπτωση των οργανοληπτικών αναλύσεων χρησιμοποιούνται οι συνήθεις τεχνικές διάκρισης μεταξύ των δειγμάτων, όπως η τριγωνική ανάλυση, η αξιολόγηση της έντασης του χρώματος και η αξιολόγηση της προτίμησης του χρώματος. Όλες αυτές οι δοκιμές περιπλέκονται από την ετερογένεια του κρέατος και του περιβάλλοντος στο οποίο πραγματοποιούνται οι αξιολογήσεις. Για παράδειγμα, οι δοκιμαστές που σημειώνουν την αποδοχή χρώματος του άπαχου κρέατος μπορεί να επηρεαστούν ασυναίσθητα από το χρώμα του λίπους. Προτάσεις για την οπτική αξιολόγηση του κρέατος δίνονται από την αμερικανική ένωση της επιστήμης του κρέατος (American Meat Science Association, AMSA 1991) (Y.H. Hui et. al., 2001).

Οι μετρήσεις με σύγχρονα όργανα και συσκευές ανάλυσης, βασίζονται σε ένα τρισδιάστατο χρωματικό σύστημα και γίνονται με μετρήσεις του ανακλώμενου φωτός από χρωματόμετρα. Η μέθοδος αναφοράς για τη μέτρηση του χρώματος του κρέατος υποδεικνύει το χρωματικό σύστημα L, a, b. Στη χρωματική κλίμακα αυτή το L υποδηλώνει τη φωτεινότητα, όπου το 0 αντιστοιχεί στο μαύρο και το 100 στο λευκό χρώμα, οι τιμές για το a είναι η παράμετρος κόκκινου/πράσινου, και για το b η παράμετρος κίτρινου/κυανού. Η γωνία της απόχρωσης, που καθορίζει και το χρώμα, προκύπτει από το λόγο των δύο παραγόντων (b/a) που καθορίζεται από την κλίση των αξόνων a και b. Το χρώμα καθορίζεται από την τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων όλων των διαστάσεων. Εκτός από το L, a, b χρησιμοποιούνται και άλλα χρωματικά συστήματα, όπως το Yxy.

Η κύρια αξία των συσκευών ανάλυσης του χρώματος έγκειται στο γεγονός ότι τα αποτελέσματα είναι αντιπροσωπευτικά και αντικειμενικά κάτω από οποιεσδήποτε συνθήκες. Επίσης, η χρήση των οργάνων αυτών είναι

φθηνότερη σε σχέση με μια αντίστοιχη οργανοληπτική ανάλυση. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των συσκευών ανάλυσης πρέπει να συσχετίζονται και με την οπτική αξιολόγηση.

Οι μετρήσεις του χρώματος που δείχνουν το ποσοστό των χρωστικών ουσιών του κρέατος, συνήθως της μεταμυοσφαιρίνης, συχνά έχουν συσχετιστεί με τα αναλυτικά οργανοληπτικά αποτελέσματα και την καταναλωτική απήχηση. Για παράδειγμα, διαπιστώθηκε ότι το ποσοστό των πωλήσεων του αποχρωματισμένου κρέατος ήταν αντιστρόφως ανάλογο του ποσοστού της μεταμυοσφαιρίνης. Το ποσοστό των πωλήσεων μειωνόταν όσο το ποσοστό της μεταμυοσφαιρίνης αυξανόταν από 5% σε 33% (Y.H. Hui et. al., 2001).

Διάφορες μελέτες πάνω στη βιταμίνη E, σε σχέση με τον αποχρωματισμό του βοδινού κρέατος κατά τη διάρκεια της έκθεσης στο λιανικό εμπόριο, δείχνουν ότι οι τιμές της a παραμέτρου και η γωνία της απόχρωσης είναι καλοί δείκτες του αποχρωματισμού. Καθώς ο αποχρωματισμός προχωρεί, ο συντελεστής a ελαττώνεται και η γωνία της απόχρωσης αυξάνεται. Επίσης, υπάρχει μείωση της έντασης του χρώματος και το κρέας γίνεται θαμπό.

Οι υπάρχουσες μέθοδοι μέτρησης του χρώματος του κρέατος στηρίζονται στις μέσες τιμές των μετρήσεων. Εντούτοις, το χρώμα των τεμαχίων του κρέατος δεν είναι ομοιόμορφο. Τα μελλοντικά όργανα είναι πιθανό να χρησιμοποιούν ψηφιακές φωτογραφικές μηχανές που συνδέονται με υπολογιστή ο οποίος με τη σειρά του θα αναλύει τις ιδιότητες του χρώματος κάθε εικονοστοιχείου (pixel) της εικόνας, και θα επιτρέπει μια πιο λεπτομερή αντίληψη του χρώματος του κρέατος (Y.H. Hui et. al., 2001).

## **1.5.6 Παράγοντες που επηρεάζουν το χρώμα του κρέατος**

### **1.5.6.1 Είδη ζώων, Ηλικία και Τύπος μυών**

Η συγκέντρωση της μυοσφαιρίνης στο μυ ποικίλλει όχι μόνο από είδος σε είδος και από μυ σε μυ αλλά επίσης και ανάλογα με την ηλικία του ζώου. Συνακόλουθα, η οξειδωση, λόγω των μιτοχονδρίων, αυξάνει με την ηλικία. Οι

υψηλές συγκεντρώσεις της μυοσφαιρίνης αυξάνουν το ενδεχόμενο του έντονου, φωτεινού κόκκινου χρώματος του κρέατος. Εντούτοις, η κατανάλωση οξυγόνου από το μυ, τείνει να μειώσει τη συγκέντρωσή του στο κρέας, με αποτέλεσμα τη δημιουργία της μεταμυοσφαιρίνης.

Το κρέας με καφετί χρώμα συναντάται στο ελάφι και στα θαλάσσια θηλαστικά όπως η φώκια και η φάλαινα. Σ' αυτά τα κρέατα, η συγκέντρωση της μυοσφαιρίνης είναι πολύ υψηλή, ειδικότερα στις φώκιες και τις φάλαινες, όπου η ανάγκη αποθήκευσης οξυγόνου ως οξυμυοσφαιρίνη είναι επιτακτική. Το ποσοστό κατανάλωσης του οξυγόνου από τα μιτοχόνδρια, τα οποία αφθονούν σ' αυτά τα κρέατα, είναι υψηλό, και έτσι εξηγείται και το καφετί χρώμα τους.

Η αντίστροφη σχέση μεταξύ της σταθερότητας χρώματος και της δραστηριότητας της μεταμυοσφαιρίνης μπορεί να εξηγηθεί στα πλαίσια του μυός στο ζωντανό ζώο. Οι ιδιαίτερα οξειδωτικοί μύες περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις μυοσφαιρίνης και έχουν μεγαλύτερη ανάγκη για μείωση της μεταμυοσφαιρίνης, για να διατηρήσουν τη μυοσφαιρίνη στην ενεργή σιδηρούχο κατάσταση. Τα υψηλά ποσοστά κατανάλωσης οξυγόνου παράγουν περισσότερες ελεύθερες ρίζες στα μιτοχόνδρια. Στο ζωντανό ζώο αυτές συνήθως μεταβολίζονται, προτού να προκαλέσουν ζημία, αλλά στο μυ όπως και στο κρέας οι μηχανισμοί αποβολής ελευθέρων ριζών επιβραδύνονται σταδιακά, καθώς χάνεται η ακεραιότητα των μεμβρανών με το χρόνο μετά από τη σφαγή. Οι ελεύθερες ρίζες βοηθούν στο σχηματισμό της μεταμυοσφαιρίνης (Y.H. Hui et. al., 2001).

#### **1.5.6.2 Επίδραση των βιταμινών στη σταθερότητα του χρώματος του κρέατος**

Η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) είναι λιποδιαλυτή οργανική ένωση και απαντάται στις κυτταρικές μεμβράνες. Δεν συντίθεται στα κύτταρα των ζώων, αλλά λαμβάνεται μέσω της διατροφής τους από τα φυτά. Η βιταμίνη αυτή εμποδίζει την οξείδωση των λιπαρών και επιπλέον καθυστερεί το σχηματισμό

της μεταμυοσφαιρίνης στο εκτεθειμένο στον ατμοσφαιρικό αέρα κρέας, συμβάλλοντας έτσι στη σταθερότητα του χρώματός του.

Η καθυστέρηση του καφέ χρώματος του κρέατος από τη βιταμίνη Ε οφείλεται στην παρεμπόδιση της οξειδωσης των λιπαρών. Τα προϊόντα της οξειδωσης των λιπαρών είναι υδατοδιαλυτά και μπορούν να εισέλθουν στο κυτταρόπλασμα, να αντιδράσουν με την οξυμυοσφαιρίνη και να επιταχύνουν τη συσσώρευση της μεταμυοσφαιρίνης. Αντιθέτως, η παρουσία της βιταμίνης Ε στις μεμβράνες, τις καθιστά άθικτες, ελαχιστοποιώντας έτσι το μεταβολικό χάος (Y.H. Hui et. al., 2001).

Εάν το καφετί κρέας ψεκαστεί με αραιό διάλυμα ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) ή ασκορβικού νατρίου, η μεταμυοσφαιρίνη μειώνεται γρήγορα και μετατρέπεται σε μυοσφαιρίνη. Παρουσία του αέρα, η εμφάνιση αποκαθίσταται. Αυτή η επίδραση οφείλεται στη χρονική μείωση της δράσης αυτής της συγκεκριμένης βιταμίνης (οξειδωση). Η βιταμίνη C εμφανίζεται φυσικά στο μυ, και στο ζωντανό κύτταρο, αναδιαμορφώνει τη βιταμίνη Ε, και διαδραματίζει έτσι έναν εσωτερικό ρόλο στη διατήρηση της σταθερότητας του χρώματος του κρέατος. Είναι υδατοδιαλυτή οργανική ένωση και καθυστερεί αποτελεσματικά τον αποχρωματισμό του κρέατος. Πειράματα έδειξαν ότι η οξειδωση των λιπαρών είναι αμελητέα όταν εφαρμόζονται μαζί οι βιταμίνες Ε και C, κάτι που επιβεβαιώνει τη σύνδεση μεταξύ της οξειδωσης των λιπαρών και του σχηματισμού της μεταμυοσφαιρίνης (Y.H. Hui et. al., 2001).

## **1.6 Οσμή, άρωμα, γευστικότητα και υφή του κρέατος και των προϊόντων του**

Το χαρακτηριστικό άρωμα του κρέατος είναι αποτέλεσμα των πτητικών και των μη πτητικών ουσιών. Οι πτητικές ενώσεις που εντοπίζονται στο άρωμα του κρέατος περιλαμβάνουν υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, καρβονύλια, καρβοξυλικά οξέα, εστέρες, λακτόνες, αιθέρες, θειούχες ενώσεις, καθώς επίσης και διάφορες κατηγορίες αρωματικών ενώσεων, όπως φουράνια, πυριδίνες, πυραζίνες, οξαζόλες, θειαζόλες κ.α. (Y.H. Hui et. al., 2001).

Έρευνες για τη συμβολή του λίπους στη δημιουργία του αρώματος στο βρασμένο κρέας έδειξε ότι αυτό επιδρά με δύο τρόπους:

1. Η οξειδωση των λιπαρών οξέων παράγει ενώσεις που είναι συστατικά του αρώματος (π.χ. καρβονυλικές ενώσεις).
2. Το λίπος λειτουργεί ως αποθήκη αρωματικών ενώσεων που ελευθερώνονται κατά τη θέρμανση του κρέατος (μαγείρεμα).

Η γευστικότητα του κρέατος αποδίδεται σε ένα εύρος ουσιών, οι σπουδαιότερες από τις οποίες φαίνεται να είναι τα φωσφολιπίδια, η μονοφωσφορική ινοσίνη και η υποξανθίνη. Πάντως έχει βρεθεί ότι η ελαφριά θέρμανση του κρέατος έχει ως αποτέλεσμα την κατακράτηση του λίπους και βελτιώνει τη γευστικότητα του κρέατος (Gerhard Feiner, 2006).

Όσον αφορά την υφή του κρέατος (συγκεκριμένα την τρυφερότητα), αυτή φαίνεται να επηρεάζεται από την ποσότητα και τη φύση του κολλαγόνου, τη βράχυνση των στοιχείων της μυϊκής ίνας και την ποσότητα του λιπώδους ιστού. Συγκεκριμένα, η ποσότητα του κολλαγόνου επηρεάζει αρνητικά την τρυφερότητα του κρέατος. Μύες που εργάζονται πιο εντατικά είναι περισσότερο σκληροί από τους εκείνους που λειτουργούν λιγότερο και δεν περιέχουν μεγάλες ποσότητες κολλαγόνου. Εκτός από την ποσότητα του κολλαγόνου, η τρυφερότητα του κρέατος επηρεάζεται και από τη φύση του μυ. Για παράδειγμα, στα νεαρότερα ζώα, όπου ο συνδετικός ιστός είναι χαλαρότερος, δίνουν πιο τρυφερό κρέας σε σχέση με τα ενήλικα ζώα, όπου ο συνδετικός ιστός είναι πυκνότερος, σκληρότερος, και με πολλές πλευρικές συνδέσεις στα μόρια του.

Όσον αφορά την επίδραση των μυϊκών ινών, κρέας στο οποίο οι μυϊκές ίνες βραχύνονται πάρα πολύ είναι σκληρό και με μειωμένη τρυφερότητα. Ο λιπώδης ιστός επιδρά σε μικρότερο βαθμό στην τρυφερότητα του κρέατος, σε σχέση με τους δύο παραπάνω παράγοντες, όμως συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στην ευγευστότητα του τελικού προϊόντος (Gerhard Feiner, 2006).

## 1.7 Προϊόντα κρέατος και αλλαντικά

Η τεχνολογία του κρέατος περιλαμβάνει εκχύλιση πρωτεϊνών, χημικές και ενζυματικές κατεργασίες και διάφορες τεχνικές επεξεργασίας του κρέατος όπως η προσθήκη πρόσθετων ουσιών. Η τεχνολογία παραγωγής των προϊόντων του κρέατος συνδυάζει τις πρώτες ύλες και τις πρόσθετες ουσίες μεταξύ τους, για να λάβει ένα τελικό προϊόν της επιθυμητής ποιότητας μέσα σε ένα ορισμένο οικονομικό πλαίσιο (Υ.Η. Hui et. al., 2001).

### 1.7.1 Λουκάνικα

Τα λουκάνικα είναι προϊόντα αλεσμένου κρέατος που περιέχουν συνήθως διάφορα καρυκεύματα, για να πάρουν ποικίλες γεύσεις και αρώματα. Η ανάπτυξη των προϊόντων αυτών κατευθύνθηκε πρώτιστα από οικονομικούς παράγοντες, όπου χαμηλής ποιότητας κρέατα και εδώδιμα υποπροϊόντα χρησιμοποιούνταν. Η μεγάλη ποικιλία των προϊόντων αυτών έχει συμβάλει στην αποδοχή τους από τους καταναλωτές στη σύγχρονη κοινωνία. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, περίπου 4 εκατομμύρια τόνοι διαφόρων λουκάνικων παράγονται ετησίως, ενώ η ετήσια κατά κεφαλήν κατανάλωση υπολογίζεται σε 15 kg. Με βάση τα χαρακτηριστικά προϊόντων και τη μέθοδο επεξεργασίας που χρησιμοποιείται, τα λουκάνικα μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις σημαντικές ομάδες: φρέσκα λουκάνικα, επεξεργασμένα ή αλίπαστα λουκάνικα, και ζυμωμένα λουκάνικα. Ένας περιεκτικός κατάλογος των λουκάνικων που παράγονται ανά τον κόσμο παρέχεται από το Roman (1994). Τεχνολογικά, η παρασκευή των λουκάνικων περιλαμβάνει αρκετά κοινά σημεία, όπως (Υ.Η. Hui et. al., 200, Weiss J.et. al., 2010):

- Τεμαχισμός για μείωση του μεγέθους του κρέατος και των λιπαρών.
- Ανάμιξη με τα συστατικά.
- Γέμισμα σε ένα συγκεκριμένο περίβλημα.
- Διαμόρφωση για να ληφθούν συγκεκριμένα σχήματα.

- Συσκευασία.

### 1.7.1.1 Συστατικά

#### **Ακατέργαστο κρέας**

Η κατάλληλη επιλογή των συστατικών του κρέατος είναι σημαντική για την παραγωγή λουκάνικων ομοιόμορφης ποιότητας. Τα ακατέργαστα κρέατα που χρησιμοποιούνται για τα λουκάνικα είναι γενικά χαμηλής αξίας, αλλά πρέπει οπωσδήποτε να είναι φρέσκα, με χαμηλό μικροβιακό φορτίο. Τα συστατικά αυτά είναι υψηλής περιεκτικότητας σε συνδετικό ιστό και λίπος. Περιλαμβάνουν κυρίως σκληρό κρέας από ώριμα ζώα, μικρά κομμάτια σφαγίων, μηχανικά διαχωρισμένα κρέατα, και άλλα εδώδιμα ζωικά παραπροϊόντα. Τα κρέατα που χρησιμοποιούνται πρέπει επίσης να έχουν αρκετά υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, όπως ο σκελετικός μυς από τις αγελάδες, τους ταύρους, και τους χοίρους. Μία άλλη ομάδα κρεάτων που χρησιμοποιείται περιλαμβάνει τα κρέατα από τα εντόσθια και το δέρμα, με σκοπό την πλήρωση των κενών διαστημάτων που παρουσιάζονται κατά την παρασκευή στα λουκάνικα (Y.H. Hui et. al., 2001).

Αυτό που αξίζει να σημειωθεί είναι η ολοένα αυξανόμενη χρήση του κρέατος των πουλερικών στην παρασκευή των λουκάνικων. Το κρέας των πουλερικών συνδυάζεται με αυτό του χοιρινού κρέατος και του βοδινού κρέατος. Η αυξανόμενη χρήση του κρέατος των πουλερικών στην παραγωγή των λουκάνικων έχει προκύψει κυρίως λόγω του σχετικά χαμηλότερου κόστους του κρέατος των πουλερικών (ιδιαίτερα της γαλοπούλας), καθώς και από την αυξανόμενη καταναλωτική ζήτηση για “ελαφρύ κρέας”, που θεωρείται πιο υγιεινό σε σχέση με το “κόκκινο” κρέας (Y.H. Hui et. al., 2001, Weiss J.et. al., 2010).

#### **Άλατα και νιτρώδη**

Το χλωριούχο νάτριο NaCl είναι η κύρια μορφή άλατος που χρησιμοποιείται στην παραγωγή λουκάνικων. Η κύρια λειτουργία του είναι να διαλυτοποιήσει και να εκχυλίσει τις μυϊκές πρωτεΐνες που απαιτούνται, για να δέσει το προϊόν

κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος. Επίσης, συμβάλλει στη διαμόρφωση της γεύσης και έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες. Τα περισσότερα εμπορικά λουκάνικα περιέχουν 1,5%-2,5% προσθετικά άλατα. Φωσφορικά άλατα σε επίπεδο μέχρι και 0,5% στα ολοκληρωμένα προϊόντα χρησιμοποιούνται, για να βελτιώσουν την ικανότητα συγκράτησης του νερού και να διαλυτοποιήσουν πρωτεΐνες. Τα φωσφορικά άλατα βοηθούν στη διαμόρφωση της γεύσης και τη σταθεροποίηση του χρώματος του τελικού προϊόντος (Y.H. Hu et. al., 2001).

Σε πολλά προϊόντα λουκάνικων προστίθενται νιτρώδη άλατα. Το νιτρώδες νάτριο χρησιμοποιείται συνήθως, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αντικατασταθεί από νιτρώδες κάλιο. Η χρήση νιτρικών αλάτων είναι ακόμη πιο περιορισμένη και εφαρμόζεται σε ξηρά και σε μερικώς ξηρά ζυμωμένα λουκάνικα. Το νιτρώδες άλας χρησιμοποιείται από κοινού με άλλους παράγοντες και με τα φωσφορικά άλατα (Y.H. Hui et. al., 2001, Weiss J.et. al., 2010).

### **Νερό και αυξητικές ουσίες**

Το νερό προστίθεται στα λουκάνικα για να βοηθήσει στη διάλυση και τη διανομή των συστατικών στο προϊόν. Στη βιομηχανία εφαρμόζεται προσθήκη νερού για μερική αντικατάσταση του λίπους στα μαγειρευμένα λουκάνικα, εφόσον το ποσό του λίπους (μέγιστο 30%) και του προστιθέμενου νερού στο τελικό προϊόν δεν υπερβαίνει το 40% του βάρους του προϊόντος. Ως αποτέλεσμα αυτού του κανονισμού, νέα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπη λουκάνικα έχουν παραχθεί (Y.H. Hui et. al., 2001).

### **Καρυκεύματα**

Τα διάφορα καρυκεύματα και οι αρωματικές ουσίες που προστίθενται στα λουκάνικα, καθώς και τα επίπεδά τους υπαγορεύονται από τα διάφορα πρότυπα προϊόντων. Τα καρυκεύματα μπορούν να προστεθούν αυτούσια ή ως εκχυλίσματα. Στην τελευταία περίπτωση χαρακτηρίζονται ως “αρωματικές ουσίες”. Οι ουσίες αυτές αντιπροσωπεύουν τις εκχυλισματικές ουσίες από φρούτα, λαχανικά, χόρτα, ρίζες, κρέας, θαλασσινά, πουλερικά, αυγά, γαλακτοκομικά προϊόντα, και από διάφορες άλλες πηγές τροφίμων. Τέτοιες ενώσεις μπορούν επίσης να συντεθούν. Οι περισσότερες ουσίες βασίζονται



σε εκχυλίσματα λιπαρών. Λόγω της υψηλής έντασης της γεύσης τους μπορούν να εφαρμοστούν ακριβέστερα στα λουκάνικα για την επιθυμητή ένταση της γεύσης, σε σχέση με τις αντίστοιχες φυσικές (καρυκεύματα). Τέλος, σάκχαρα σε ποικίλες μορφές (σακχαρόζη, δεξτρόζη, σιρόπι καλαμποκιού κτλ.) χρησιμοποιούνται αρκετά στα λουκάνικα (Υ.Η. Hui et. al., 2001, Weiss J.et. al., 2010).

### **1.7.2 Φρέσκα λουκάνικα**

Τα φρέσκα λουκάνικα περιλαμβάνουν κυρίως τα μη μαγειρεμένα λουκάνικα τα οποία μπορούν να περιέχουν λίπος μέχρι και 50% επί του ακατέργαστου βάρους. Είναι αλατισμένα, αλλά δεν περιέχουν νιτρώδη άλατα και δεν γαλακτωματοποιούνται. Τα φρέσκα καπνισμένα λουκάνικα ανήκουν σε αυτήν την ομάδα προϊόντων (Υ.Η. Hui et. al., 2001).

Τα φρέσκα λουκάνικα κατασκευάζονται με άλεση του κρέατος σε ειδικά πιάτα με ωπές διαμέτρου από 0,32 cm ως 0,95 cm. Η μείωση μεγέθους επιτυγχάνεται μέσω εξώθησης και κοπής ενός κυλίνδρου σε οριζόντιο επίπεδο. Στη συνέχεια το κρέας αλατίζεται και αναμιγνύεται με καρυκεύματα, και άλλα συστατικά σε μίξερ. Το γέμισμα γίνεται με εισαγωγή του κρέατος στα περιβλήματα μέσω ενός σωλήνα μικρής διαμέτρου. Υπάρχουν δύο τύποι περιβλημάτων: φυσικά ή συνθετικά. Τα φυσικά περιβλήματα είναι από λεπτά έντερα χοίρων ή προβάτων. Τα περιβλήματα εκπλένονται πριν τη χρήση τους με αραιό υδατικό διάλυμα χλωρίου (0,5%) και στη συνέχεια με νερό. Το υπερβολικό λίπος και ο συνδετικός ιστός αφαιρούνται με βούρτσισμα με μία μαλακιά βούρτσα. Τα φυσικά περιβλήματα συσκευάζονται σε κορεσμένα διαλύματα άλατος και αποθηκεύονται σε ψυχρό δωμάτιο ή σε ψυγείο. Τα φυσικά περιβλήματα μετουσιώνονται κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος.

Επειδή τα περιβλήματα αποτελούν σημαντικό κόστος στην παραγωγή λουκάνικων, η τεχνολογία κρέατος καινοτόμησε με την παρασκευή λουκάνικων χωρίς τη χρήση περιβλήματος. (Frye, 1996). Τα συνθετικά περιβλήματα αυτά αποτελούνται από εδώδιμα υλικά, όπως από κολλαγόνο. Συγκεκριμένα, κατά την παραγωγική διαδικασία, το διάλυμα κολλαγόνου

εκχέεται γύρω από μία συνεχή αρμαθιά μίγματος λουκάνικου, σχηματίζοντας ένα λεπτό στρώμα κολλαγόνου στην επιφάνεια του λουκάνικου. Στη συνέχεια, η συνεχής αρμαθιά λουκάνικου διέρχεται από ένα κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου, το οποίο αφυδατώνει το κολλαγόνο και το μετατρέπει σε περιβλήμα με ινώδη δομή. Για τα φρέσκα λουκάνικα χρησιμοποιούνται πάντα τα εδώδιμα περιβλήματα (Frye, 1996).

### **1.7.3 Συντηρημένα λουκάνικα**

Τα επεξεργασμένα με νιτρώδη άλατα λουκάνικα τεμαχίζονται και γαλακτωματοποιούνται. Τα δημοφιλέστερα προϊόντα σε αυτήν την ομάδα είναι τα λουκάνικα τύπου Φρανκφούρτης και Μπολόνια, τα οποία αποτελούν περίπου το 45% όλων των λουκάνικων που καταναλώνονται στις Η.Π.Α. Τα λουκάνικα τύπου Φρανκφούρτης παρασκευάζονται με διάφορες μορφές, με την επικρατέστερη αυτή της σχετικά μεγάλης διαμέτρου. Τα περισσότερα λουκάνικα τύπου Φρανκφούρτης στις Η.Π.Α. είναι από μίγμα βοδινού και χοιρινού κρέατος και μερικές φορές με κρέας από πουλερικά. Τα προϊόντα αυτά περιέχουν καρυκεύματα και είναι συνήθως καπνιστά. Τα λουκάνικα τύπου Μπολόνια παρασκευάζονται περίπου με τον ίδιο τρόπο, με τη διαφορά ότι τα λουκάνικα αυτά έχουν πολύ μεγαλύτερη διάμετρο και ενδεχομένως διαφορετικά καρυκεύματα. Πολλά κονσερβοποιημένα κρέατα με ευδιάκριτα διαφορετικά χαρακτηριστικά ανήκουν επίσης στην κατηγορία αυτή (Y.H. Hui et. al., 2001).

Κατά τη διεργασία αυτής της κατηγορίας των λουκάνικων, το μίγμα του κρέατος και τα συστατικά του τεμαχίζονται και γαλακτωματοποιούνται. Συχνά, η ανάμιξη και ο τεμαχισμός γίνονται ταυτόχρονα με αυτοματοποιημένο εξοπλισμό. Η διαδικασία του τεμαχισμού κόβει το κρέας και το λίπος σε μικρά λεπτά κομμάτια. Επειδή οι μυϊκές πρωτεΐνες παρουσία αλατιού και φωσφορικών αλάτων εξάγονται κατά τη διάρκεια του τεμαχισμού, διαμορφώνουν επιστρώματα στην επιφάνεια των λιπαρών σωματιδίων και παράγονται πρωτεϊνικές μεμβράνες. Μερικοί κατασκευαστές χρησιμοποιούν χωριστό γαλακτωματοποιητή για να παραγάγουν τα γαλακτώματα, αφότου

τεμαχίζεται το κρέας. Εντούτοις, με μία καλή μηχανή τεμαχισμού η προσθήκη άλλου γαλακτωματοποιητή είναι συχνά περιττή. Το λεπτά τεμαχισμένο σύστημα κρέατος σταθεροποιείται κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος, όπου διαμορφώνονται οι τρισδιάστατες δομές των πηκτωμάτων. Τα περισσότερα λουκάνικα αυτής της κατηγορίας καπνίζονται επίσης (Y.H. Hui et. al., 2001).

Ένας από τους κρίσιμότερους παράγοντες στην παραγωγή των γαλακτωματοποιημένων κρεάτων είναι η θερμοκρασία του κρέατος κατά τη διάρκεια του τεμαχισμού. Αυτή η θερμοκρασία πρέπει να διατηρείται αρκετά χαμηλά, ώστε να αποτρέψει τη διάσπαση του γαλακτώματος, αλλά όχι πάρα πολύ χαμηλά για να κρατήσει το λίπος μαλακό. Η θερμοκρασία αυτή ποικίλλει ανάλογα με το κρέας που χρησιμοποιείται. Για τα περισσότερα λουκάνικα τύπου Φρανκφούρτης μία θερμοκρασία τεμαχισμού περίπου στους 10°C είναι επιθυμητή. Λόγω της τριβής μεταξύ των περιστρεφόμενων λεπίδων υψηλής ταχύτητας και του κρέατος, παρατηρείται μία αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10°C στα κομμάτια του κρέατος. Για να αποτραπεί αυτή η άνοδος της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια του τεμαχισμού, χρησιμοποιείται ψύξη. Τα λουκάνικα αυτά γεμίζονται συνήθως με συνθετικά περιβλήματα, τα οποία αφαιρούνται μετά το μαγείρεμα και πριν από τη συσκευασία υπό κενό του προϊόντος. Φυσικά περιβλήματα επίσης χρησιμοποιούνται για ορισμένα λεπτά τεμαχισμένα προϊόντα και δεν αφαιρούνται μετά από το μαγείρεμα (Y.H. Hui et. al., 2001, Weiss J.et. al., 2010).

#### **1.7.4 Λουκάνικα Frankfurters**

Τα λουκάνικα τύπου Φρανκφούρτης στην Αυστρία και τη Γερμανία είναι υψηλής ποιότητας προϊόντα με περίπου 40%-45% άπαχο κρέας, κυρίως από μίγμα βοδινού και χοιρινού κρέατος. Η περιεκτικότητα σε λίπος στο τελικό προϊόν είναι περίπου 24%-28%. Σε αυτά τα προϊόντα προστίθενται φωσφορικά άλατα, μαγειρικό αλάτι (περίπου 1.8%), νιτρώδη άλατα, ενισχυτικά χρώματος και διάφορα καρυκεύματα. Το προϊόν παράγεται συνήθως με το γέμισμα του μίγματος σε φυσικά περιβλήματα (συνήθως προβάτων) διαμέτρου 18mm-22mm. Το προϊόν διατηρείται για 10-15min

στους 55 °C και σχετική υγρασία 80%-90%, στη συνέχεια ξηραίνεται στους 60°C- 65°C για 15-20min σε χαμηλή υγρασία, και κατόπιν καπνίζεται για 10-15min στους 65°C και σχετική υγρασία 40%-60%. Συχνά, μετά από τον καπνισμό ακολουθεί ξήρανση για 2-3min στους 60°C-65°C για τη σταθεροποίηση του χρώματος της επιφάνειας. Το μαγείρεμα σε ατμό ή σε υδατόλουτρο στους 74°C-78°C ολοκληρώνει τη διαδικασία. Το τελικό προϊόν ψύχεται για 15-20min σε ψυγεία και τέλος συσκευάζεται σε συσκευασία υπό κενό ή υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP). Τα λουκάνικα τύπου Φρανκφούρτης καταναλώνονται ζεστά και επαναθερμαίνονται εκ νέου για 15-20min. Τα σχετικά υψηλά επίπεδα του άπαχου κρέατος σε συνδυασμό με τα χαμηλότερα επίπεδα του λίπους και του νερού δημιουργούν μία σταθερή και επιθυμητή υφή (Y.H. Hui et. al., 2001, Gerhard Feiner, 2006).

#### **1.7.5 Μαγειρεμένα λουκάνικα**

Τα μαγειρευμένα λουκάνικα αποτελούν ένα από τα πιο σημαντικά προϊόντα κρέατος και υπάρχουν με δύο μορφές. Η μία αποτελείται από μία ομοιογενή μάζα χωρίς σωματίδια του κρέατος ή του λίπους, ενώ η άλλη έχει μία ομοιογενή μάζα ως βάση, αλλά έχει ορατά σωματίδια του κρέατος ή του λίπους. Τα πιο γνωστά προϊόντα όπως τα λουκάνικα Φρανκφούρτης, το λουκάνικο της Βιέννης, το χοτ-ντογκ, το λουκάνικο μπύρας και πολλά άλλα καταναλώνονται καθημερινά σε όλο τον κόσμο. Οποιοσδήποτε τύπος κρέατος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τα μαγειρευμένα λουκάνικα, συμπεριλαμβανομένων των εξωτικών κρεάτων όπως του κροκόδειλου και του καγκουρό. Τα μαγειρευμένα λουκάνικα πωλούνται συνήθως ως μέρος των προϊόντων, όπως π.χ. στα χοτ-ντογκ, και καταναλώνονται είτε ζεστά είτε κρύα. Ένα μαγειρευμένο λουκάνικο είναι ένα σύνθετο μίγμα πολλών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων των διαλυμάτων πρωτεϊνών, αλάτων, πηκτωμάτων που γίνονται από μυϊκές πρωτεΐνες και γαλακτωμάτων από πρωτεΐνες και λίπος. (Y.H. Hui et. al., 2001, Gerhard Feiner, 2006).

### 1.7.6 Ζυμωμένα Λουκάνικα

Η πρώτη χρήση της ζύμωσης στο κρέας ήταν γνωστή από την αρχαιότητα ήδη από τον πολιτισμό των Βαβυλωνίων το 1500π.Χ. Τα ζυμωμένα προϊόντα κρέατος μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο κύριες ομάδες ανάλογα με τη διεργασία και το τελικό προϊόν: ξηρά και μερικώς ξηρά. Και στις δύο ομάδες παράγεται γαλακτικό οξύ κατά την παραγωγή και για αυτό το κρέας χαρακτηρίζεται ως “ζυμωμένο”. Τα ξηρά και τα μερικώς ξηρά λουκάνικα, όπως και οι χαρακτηρισμοί τους υπονοούν, διαφέρουν στην περιεκτικότητα του τελικού προϊόντος σε υγρασία. Αυτή υπολογίζεται κατά μέσο όρο μεταξύ 30%-40% για τα ξηρά και 40%-50% για τα μερικώς ξηρά (Y.H. Hui et. al., 2001, Gerhard Feiner, 2006).

Το πιο κρίσιμο στάδιο της διαδικασίας στη ζύμωση των λουκάνικων είναι η έγκαιρη μείωση του pH του φρέσκου κρέατος (που υπολογίζεται κατά μέσο όρο μετά την ακαμψία από 5,6 έως 5,8), ώστε να περιοριστεί η αύξηση των μικροοργανισμών. Το τελικό pH των προϊόντων αυτών κυμαίνεται από 4,8 έως 5,2, ανάλογα με το βαθμό του ταγγισμού και με άλλα επιθυμητά χαρακτηριστικά των προϊόντων. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ μπορούν να βρεθούν στο κρέας είτε ως φυσική χλωρίδα (φυσική ζύμωση), είτε με τον εμβολιασμό ενός αριθμού εκκινητών (Y.H. Hui et. al., 2001, Gerhard Feiner, 2006).

Στη φυσική ζύμωση, τα οξυγαλακτικά βακτήρια εισάγονται κυρίως από το περιβάλλον εργασίας (π.χ. εξοπλισμός). Ωστόσο, ο πληθυσμός και το είδος των οξυγαλακτικών βακτηρίων στο φρέσκο κρέας είναι δύσκολο να ελεγχθούν. Γι' αυτό σήμερα, σχεδόν όλη η εμπορική παραγωγή ζυμωμένων λουκάνικων γίνεται με την εισαγωγή βακτηρίων εκκινητών. Οι εμπορικά διαθέσιμοι εκκινητές είναι συνήθως μίγματα δύο ή περισσότερων διαφορετικών μικροοργανισμών και μερικές φορές διαφορετικά είδη του ίδιου μικροοργανισμού. Οι συνηθέστεροι μικροοργανισμοί είναι τα είδη των *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* και *Micrococcus*. Συγκεκριμένα παραδείγματα είναι τα *L. Plantarum* και *L. Lactis* (Y.H. Hui et. al., 2001, Gerhard Feiner, 2006).

Τα ζυμωμένα λουκάνικα είναι αλατισμένα και επεξεργασμένα με νιτρικά και νιτρώδη άλατα. Το άλας προστίθεται, για να διευκολύνει την αφυδάτωση και να βελτιώσει τη γεύση. Στα προϊόντα αυτά χρησιμοποιούνται και διάφορα καρυκεύματα, κάνοντας το προϊόν ιδιαίτερα εύγευστο. Αφότου το κρέας αναμιγνύεται με όλα τα συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των εκκινήτων, το μίγμα γεμίζεται και στη συνέχεια επωάζεται σε ένα κλειστό θάλαμο για να πραγματοποιηθεί η ζύμωση. Ο επωαστήρας διατηρείται σε θερμοκρασία από 21°C μέχρι 24°C με μία σχετική υγρασία 75%-80% για τα ξηρά λουκάνικα, και από 30°C μέχρι 37°C με μία σχετική υγρασία 75% 80% για τα μερικώς ξηρά λουκάνικα. Ο χρόνος ζύμωσης για τα ξηρά λουκάνικα κυμαίνεται από 1 έως 3 ημέρες, ενώ για τα μερικώς ξηρά λουκάνικα από 8 έως 20 h. Τα ξηρά λουκάνικα τοποθετούνται σε θάλαμο ξήρανσης για περαιτέρω αφυδάτωση. Η περίοδος ξήρανσης ποικίλει ανάλογα με το μέγεθος και τον τύπο του προϊόντος. Τα περισσότερα ξηρά λουκάνικα δε μαγειρεύονται ούτε καπνίζονται. Οι χαμηλές τιμές pH και ενεργότητας νερού εμποδίζουν την αλλοίωση του τροφίμου. Τα περισσότερα μερικώς ξηρά λουκάνικα στη συνέχεια καπνίζονται (Y.H. Hui et. al., 2001, Gerhard Feiner, 2006).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Μικροβιολογία του κρέατος και των προϊόντων του

### 2. Μικροβιολογία και κίνδυνοι

Τα τρόφιμα, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε θρεπτικά συστατικά και της ευκολίας μόλυνσης και ρύπανσής τους, είναι πάντοτε φορείς μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί αυτοί συμμετέχουν στις φυσικοχημικές και βιολογικές μεταβολές που συμβαίνουν στα τρόφιμα. Αυτό αποτελεί και το αντικείμενο της επιστήμης της μικροβιολογίας των τροφίμων.

Εξ ορισμού οι μικροοργανισμοί είναι σύνολα από έμβια όντα με ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά. Έχουν μικροσκοπικές διαστάσεις και δεν είναι ορατά με γυμνό μάτι (Ταούκης, 2008).

Σύμφωνα με τον Haeckel οι μικροοργανισμοί κατατάσσονται ως προς την οργάνωση του πυρήνα τους σε δύο μεγάλες ομάδες: τα *ευκαρυωτικά* με οργανωμένο πυρήνα, στο εσωτερικό του οποίου υπάρχει το γενετικό υλικό, όπως πρωτόζωα, μύκητες, μυξομύκητες και τα *προκαρυωτικά*, στα οποία απουσιάζει ο οργανωμένος πυρήνας, όπως βακτήρια, κυανοφύκη, μυκοπλάσματα.

Επίσης, οι μικροοργανισμοί κατατάσσονται και με βάση διάφορα άλλα κριτήρια, όπως την πηγή άνθρακα, αζώτου και ενέργειας που χρησιμοποιούν, τη σχέση τους με βάση το υπόστρωμα ή τον ξενιστή που αναπτύσσονται, τη θερμοκρασία στην οποία μπορούν να αναπτυχθούν, καθώς και την απαίτησή τους σε οξυγόνο.

Αναλυτικότερα:

Με βάση την πηγή άνθρακα, αζώτου και ενέργειας οι μικροοργανισμοί κατατάσσονται σε (Ταούκης, 2008):

1. *Φωτοαυτότροφους*, οι οποίοι χρησιμοποιούν την ηλιακή ακτινοβολία ως πηγή ενέργειας και το CO<sub>2</sub> ως πηγή άνθρακα.



2. *Φωτοετερότροφους*, οι οποίοι χρησιμοποιούν την ηλιακή ακτινοβολία ως πηγή ενέργειας και τις οργανικές ενώσεις ως πηγή άνθρακα.
3. *Χημειοαυτότροφους*, οι οποίοι χρησιμοποιούν το CO<sub>2</sub> ως μοναδική πηγή άνθρακα και αντλούν ενέργεια από τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις ανόργανων ουσιών.
4. *Χημειοετερότροφους*, οι οποίοι χρησιμοποιούν τις οργανικές ενώσεις ως μοναδική πηγή άνθρακα και αντλούν ενέργεια από τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις οργανικών ουσιών.

Ανάλογα με τη σχέση τους με το υπόστρωμα ή με τον ξενιστή πάνω στον οποίο αναπτύσσονται, οι μικροοργανισμοί διακρίνονται σε (Ταούκης, 2008):

- I. *Παθογόνους* μικροοργανισμούς, οι οποίοι αναπτύσσονται πάνω σε ζωντανούς οργανισμούς και δημιουργούν με την ανάπτυξή τους και το πολλαπλασιασμό τους παθολογικές καταστάσεις.
- II. *Παράσιτα*, όπου αναπτύσσονται πάνω σε ζωντανούς οργανισμούς χωρίς να δημιουργούν παθολογικές καταστάσεις, τουλάχιστον υπό ομαλές συνθήκες.
- III. *Σαπρόφυτους μικροοργανισμούς*, που αναπτύσσονται πάνω σε νεκρή οργανική ύλη και όχι σε ζωντανούς οργανισμούς. Αναπτυσσόμενοι όμως πάνω στα τρόφιμα προκαλούν αλλοιώσεις, οπότε και είναι ανεπιθύμητοι ή διασπάσεις προς ενδιάμεσα προϊόντα τα οποία είναι πολύτιμα για τον άνθρωπο, άρα είναι ωφέλιμοι.

Ανάλογα με τη θερμοκρασία στην οποία μπορούν να αναπτυχθούν οι μικροοργανισμοί ταξινομούνται σε (Ταούκης, 2008):

- 1) *Ψυχρόφιλους* (-5°C έως 20°C).
- 2) *Ψυχρότροφους* (0°C έως 30°C).
- 3) *Μεσόφιλους* (5°C έως 40°C).
- 4) *Θερμόφιλους* (35°C έως 60°C).

Οι μικροοργανισμοί με βάση τη συμπεριφορά τους στο οξυγόνο, κατατάσσονται σε (Ταούκης, 2008):

1. *Υποχρεωτικά αερόβιους*. Αντλούν τις ενεργειακές τους ανάγκες από την αερόβια αναπνοή, στην οποία το οξυγόνο λειτουργεί ως τελικός

οξειδωτικός παράγοντας δηλαδή ο τελικός δέκτης ηλεκτρονίων είναι το  $O_2$ . Δεν μπορούν να αναπτυχθούν αν απουσιάζει το  $O_2$ .

2. *Προαιρετικά αναερόβιους*. Αναπτύσσονται τόσο σε αερόβιες όσο και σε αναερόβιες συνθήκες.
3. *Μικροαερόφιλους*. Είναι αερόβιοι οργανισμοί που αναπτύσσονται καλύτερα με οξυγόνο μειωμένης πίεσης. Συνήθως αυτοί οι μικροοργανισμοί απαιτούν ατμόσφαιρα εμπλουτισμένη με  $CO_2$ .
4. *Υποχρεωτικά αναερόβιους*. Πολλαπλασιάζονται μόνο αν απουσιάζει το οξυγόνο και αντλούν την ενέργειά τους από αντιδράσεις που δεν χρησιμοποιούν το οξυγόνο. Σ' αυτούς τους οργανισμούς το οξυγόνο είναι τοξικό.

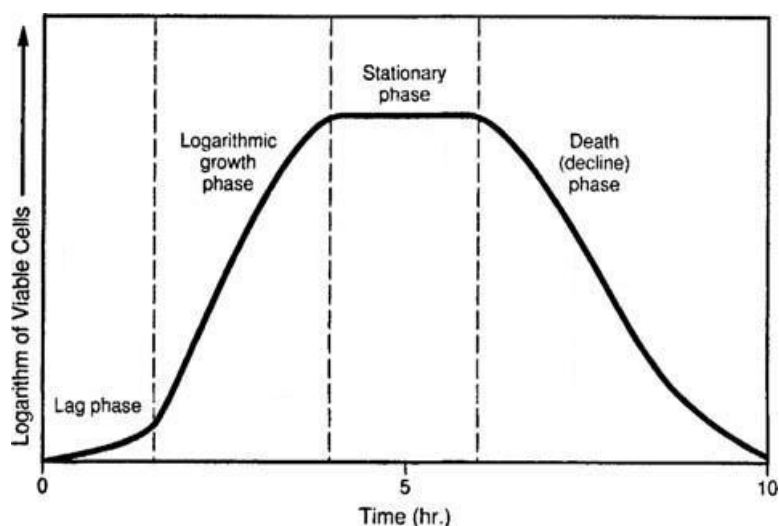
## 2.1 Παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών στα τρόφιμα.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το μεταβολισμό και τον πολλαπλασιασμό των μικροβίων στα τρόφιμα διακρίνονται σε *ενδογενείς* που σχετίζονται με τη σύσταση του ίδιου τροφίμου και *εξωγενείς* που σχετίζονται με τις συνθήκες συντήρησης. Οι κυριότεροι από αυτούς είναι οι ακόλουθοι (Ταούκης, 2008):

- Θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος.
- Υγρασία υποστρώματος και ενεργότητα νερού ( $a_w$ ).
- Θερμοκρασία.
- pH.
- Δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh) (μέτρο της τάσης του  $O_2$  στο χώρο του τροφίμου ή του υποστρώματος που αναπτύσσονται οι μικροοργανισμοί).
- Προσθετικές ουσίες & παρεμποδιστές.
- Ωσμωτική πίεση.
- Ακτινοβολίες.
- Άλλοι παράγοντες (π.χ. ανταγωνισμός λόγω μικτής χλωρίδας, ή παρουσία τοξικών ουσιών που προέρχονται από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών).

## 2.2 Κινητική ανάπτυξης μικροοργανισμών.

Σ' ένα περιβάλλον, στο οποίο τα θρεπτικά συστατικά δεν αποτελούν περιοριστικό παράγοντα, ένα βακτήριο ή γενικότερα ένας μικροβιακός πληθυσμός θα αναπαραχθεί και θα αυξηθεί σε αριθμό. Γενικά, για οποιονδήποτε ομοιογενή μικροβιακό πληθυσμό σε συνθήκες σταθερής κατάστασης, η ανάπτυξη σε ένα θρεπτικό υλικό εκφρασμένη σε δεκαδικούς λογάριθμους της πυκνότητας του πληθυσμού συναρτήσει του χρόνου έχει την ακόλουθη μορφή (Ταούκης, 2008):



Εικόνα 2.1: Τυπική καμπύλη μικροβιακής ανάπτυξης.

Οι τέσσερις φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών, όπως φαίνεται και από την καμπύλη είναι: η *λανθάνουσα φάση*, η *εκθετική φάση*, η *φάση στασιμότητας* και η *φάση θανάτου*. Ως λανθάνουσα φάση αναγνωρίζεται μία χρονική περίοδος στην οποία οι μικροοργανισμοί προσαρμόζουν τη φυσιολογία και τη βιοχημεία τους στο νέο περιβάλλον που βρίσκονται. Η διάρκεια αυτής της φάσης εξαρτάται από τις συνθήκες καλλιέργειας, τη σύσταση του υποστρώματος, την ηλικία των μικροοργανισμών, τον αριθμό και τη φυσιολογική κατάσταση των μικροβίων. Στην εκθετική φάση τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται με όσο το δυνατόν ταχύτερους ρυθμούς και όλη η μεταβολική δραστηριότητα κατευθύνεται προς την αναπαραγωγή. Ο πληθυσμός συνεχίζει να αυξάνει, ώσπου να συμβεί ένα από τα δύο: είτε ένα ή

περισσότερα θρεπτικά συστατικά από το υλικό εξαντλούνται, είτε τοξικά μεταβολικά προϊόντα συσσωρεύονται και αναστέλλουν την ανάπτυξη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης του πληθυσμού, μέχρι την εξισορρόπηση αναπαραγωγής-θανάτου (φάση στασιμότητας). Η διάρκεια της φάσης αυτής ποικίλλει, όμως καθώς προστίθενται ολοένα και περισσότεροι μεταβολίτες ο ρυθμός θανάτου των κυττάρων γίνεται μεγαλύτερος, με αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους της πυκνότητας των μικροοργανισμών και την είσοδό τους σε μια νέα φάση, που αναγνωρίζεται ως φάση θανάτου (Τσαούκης, 2008).

Έχει προταθεί ένας αριθμός μαθηματικών συναρτήσεων, οι οποίες περιγράφουν σιγμοειδείς καμπύλες και έχουν χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία μοντέλων ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Η κυριότερη από αυτές και η πλέον χρησιμοποιούμενη είναι η εξίσωση Monod. Στο μοντέλο Monod θεωρείται ότι ο ρυθμός αύξησης του μικροβιακού πληθυσμού είναι ανάλογος με τον αριθμό των μελών του. Αυτό είναι αποτελεσματικό μέσα σε ένα μικρό χρονικό διάστημα, πριν αρχίσει να μειώνεται το υπόστρωμα ή να μεταβάλλεται το περιβάλλον. Η ολοκληρωμένη μορφή του μοντέλου Monod είναι (Τσαούκης, 2008):

$$N = N_0 \cdot e^{k(t-t_L)}$$

Όπου, N: αριθμός των μικροοργανισμών σε χρόνο t.

$N_0$ : αρχικό μικροβιακό φορτίο.

k: ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.

$t_L$ : χρόνος της λανθάνουσας φάσης.

Το μοντέλο του Monod είναι γνωστό για την απλότητα και την ακρίβειά του και έχει χρησιμοποιηθεί ακόμη και για μικτούς πληθυσμούς.

Άλλα μοντέλα που χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν τη μικροβιακή ανάπτυξη είναι η λογιστική συνάρτηση, το μοντέλο Gompertz και το μοντέλο Baranyi.

## 2.3 Μοντέλα επίδρασης της θερμοκρασίας

Η μεγάλη σημασία της θερμοκρασίας για τη μικροβιακή ανάπτυξη οδήγησε στη δημιουργία διαφόρων μοντέλων. Τα μοντέλα αυτά χρησιμοποιούνται για την περιγραφή της επίδρασης της θερμοκρασίας στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης κατά την εκθετική φάση. Ειδικότερα, για την επίδραση της θερμοκρασίας έχουν προταθεί δύο τύποι μοντέλων, τα μοντέλα τύπου Arrhenius και τα μοντέλα τύπου Belehradek.

Καθώς η ανάπτυξη μικροοργανισμών είναι μία βιοχημική διαδικασία, είναι αναμενόμενο για ένα συγκεκριμένο θερμοκρασιακό εύρος να μπορεί να εφαρμοστεί ο νόμος του Arrhenius.

Η πιο απλή σχέση του τύπου Arrhenius είναι:

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}}$$

Όπου, k: ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.

$E_a$ : ενέργεια ενεργοποίησης.

A: εμπειρική σταθερά.

Σε ορισμένα τρόφιμα, όπως ψάρι, κρέας, γάλα και πουλερικά, τα οποία παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα ενεργότητας νερού και σχεδόν ουδέτερες τιμές pH, η θερμοκρασία είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που ελέγχει το ρυθμό της ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Σε πολλά όμως προϊόντα, η θερμοκρασία αποτελεί μόνο ένα από μία σειρά παραγόντων που επιδρούν στην αλλοίωσή τους. Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει προσπάθεια δημιουργίας μοντέλων που λαμβάνουν υπόψη τη συνδυαστική επίδραση διαφορετικών παραγόντων στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Έτσι, κατασκευάστηκαν εξισώσεις που εκφράζουν τις επιδράσεις της θερμοκρασίας και της ενεργότητας του νερού ( $a_w$ ), της θερμοκρασίας και του pH και τέλος της θερμοκρασίας, του pH και της ενεργότητας του νερού ( $a_w$ ). Η πρόβλεψη της συμπεριφοράς της ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε σχέση με τους παράγοντες που την επηρεάζουν είναι αναγκαία, ώστε να εντοπιστούν για κάθε τρόφιμο οι βέλτιστες συνθήκες που θα εξασφαλίσουν την ποιότητα και

την ασφάλεια του τροφίμου. Ακόμη, με την ανάπτυξη της τεχνολογίας των ηλεκτρονικών υπολογιστών έχουν αναπτυχθεί λογισμικά πακέτα που περιγράφουν τη χρονική εξέλιξη της μικροβιακής ανάπτυξης συγκεκριμένων μικροοργανισμών, με την ταυτόχρονη επίδραση ενός αριθμού παραγόντων. Παραδείγματα τέτοιων πακέτων είναι το *Pathogen Modeling Program* και το *Food MicroModel* (Food Micromodel Ltd., Surrey, UK) (Ταούκης, 2008).

## 2.4 Μικροβιολογία στο κρέας

Η πηγή μόλυνσης του ζωικού μύος, που χρησιμοποιείται ως τροφή είναι άμεσο αποτέλεσμα της θανάτωσης και των διεργασιών επεξεργασίας των ζωικών σφαγίων. Ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών από διαφορετικές πηγές εισάγεται πάνω στις επιφάνειες των μυών, που είναι πλούσιες σε θρεπτικά συστατικά. Από αυτούς, μόνο ένα μικρό μέρος (10%) είναι ικανό να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της διανομής των διαφόρων προϊόντων κρέατος. Επιπροσθέτως, μία ακόμη μικρότερη ομάδα από αυτούς θα υπερισχύσει και τελικά θα προκαλέσει μόλυνση. Η επιβίωση και ο πολλαπλασιασμός των μικροοργανισμών που μεταφέρονται στην επιφάνεια του κρέατος εξαρτώνται από τη δυνατότητά τους να επιβιώνουν στις συνθήκες της επεξεργασίας και αποθήκευσης και να χρησιμοποιούν τις διαθέσιμες θρεπτικές ουσίες στο μυ, μέσω της αφομοίωσης ή της πρωτεόλυσης των σύνθετων μορίων στα υποστρώματα (Y.H. Hui et. al., 2001).

Στην πάροδο των χρόνων, οι προσπάθειες για τη διατήρηση του κρέατος έχουν επικεντρωθεί στην καθυστέρηση της μικροβιολογικής ανάπτυξης ή στη θανάτωση συγκεκριμένων στελεχών μικροβίων με την εφαρμογή χημικής ή βιολογικής κατεργασίας, με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται ή να εμποδίζεται η μικροβιακή αλλοίωση. Σε κάθε περίπτωση από τις παραπάνω, οι επιτυχείς κατεργασίες επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής του προϊόντος.

Το κρέας και τα προϊόντα του προσελκύουν μία μεγάλη ομάδα παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών. Στους παθογενείς μικροοργανισμούς ανήκουν οι *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp.,

*Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* και *Aeromonas hydrophila*. Η αλλοίωση των προϊόντων του κρέατος εξαρτάται τόσο από την αρχική μικροβιακή χλωρίδα, όσο και από τις συνθήκες συσκευασίας και αποθήκευσης των προϊόντων. Για παράδειγμα, τα *Pseudomonas* εντοπίζονται σε κατεψυγμένα προϊόντα, τα εντεροβακτήρια σε προϊόντα που δεν έχουν αποθηκευτεί σε σωστή θερμοκρασία, οι *Micrococcaceae* και τα οξυγαλακτικά βακτήρια σε προϊόντα στα οποία έχουν προστεθεί συντηρητικά, και το *Brochothrix thermosphacta* σε προϊόντα που συσκευάζονται σε συσκευασίες κενού ή τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) (Υ.Η. Hui et. al., 2001).

Το μικροβιακό προφίλ του κρέατος και των προϊόντων του είναι το άθροισμα πολλών παραγόντων όπως η υγεία του σφαγιασμένου ζώου, οι συνθήκες υπό τις οποίες ενηλικιώθηκε, η ποιότητα του σφαγίου, και οι συνθήκες συσκευασίας και αποθήκευσης. Διάφορες τεχνικές μείωσης του μικροβιακού πληθυσμού έχουν προταθεί, όπως κατεργασίες μέσω οργανικών οξέων, βραστού νερού και ατμού. Η συνηθέστερη τεχνική είναι ο εμπλουτισμός με χημικές ουσίες (αραιά διαλύματα οργανικών οξέων, υπεροξειδίου του υδρογόνου, χλώριο, άλατα οργανικού οξέος). Τα βακτήρια ποικίλλουν στην αντοχή τους στις διαδικασίες μείωσης του μικροβιακού πληθυσμού, με αποτελέσματα μείωσης του πληθυσμού από 2 έως 3 log CFU/g (Υ.Η. Hui et. al., 2001).

## **2.5 Μικροβιολογία ζυμωμένων προϊόντων κρέατος.**

Στα ακατέργαστα κρέατα που ζυμώνονται στα διάφορα αλλαντικά (π.χ. λουκάνικα) γίνεται προσθήκη νιτρικών ή νιτροδών αλάτων, και επιθυμητών ζυμωτικών οξυγαλακτικών βακτηρίων. Όταν διαμορφώνονται τα προϊόντα κατάλληλα, οι παθογόνοι μικρόοργανισμοί μειώνονται σε αριθμούς και επιτρέπουν στα προϊόντα να διατηρούν τις ιδιότητές τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Υ.Η. Hui et. al., 2001).

Η ανάπτυξη των ζυμωτικών οξυγαλακτικών βακτηρίων ευνοείται σε pH κάτω από 6, ενεργότητα νερού ίση με 0,96, 100 rpm νιτρώδες νάτριο και 0,3%

γλυκόζη. Ειδικά για τα αλλαντικά, όταν η κρεατόμαζα γεμίζεται σε περιβλήματα (π.χ στα λουκάνικα), η οξειδοαναγωγική δυνατότητα των προϊόντων μειώνεται, κάτι που ενισχύει περαιτέρω τη δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Παρά τη μεγάλη ποικιλία των ζυμωμένων κρεατοσκευασμάτων ανά τον κόσμο και των χρησιμοποιούμενων διάφορων τεχνικών, τα βακτήρια που τείνουν να κυριαρχούν στα προϊόντα αυτά είναι συνήθως τα *Lactobacillus sake* και *Lactobacillus curvatus*. Η κυριαρχία αυτών των δύο ειδών βασίζεται στη δυνατότητά τους να πολλαπλασιάζονται σε μειωμένες τιμές ενεργότητας ( $a_w = 0.91$ ) και σε χαμηλές θερμοκρασίες (4°C).

Σε πολλά παραδοσιακά προϊόντα χρησιμοποιούνται νιτρικά άλατα ως προστατευτική ουσία. Υπό αυτήν τη μορφή, η παρουσία των *Micrococcus* είναι απαραίτητη για να παραχθούν τα αντίστοιχα νιτρώδη άλατα, τα οποία απαιτούνται για τη διατήρηση της ποιότητας (χρώμα) και της ασφάλειας (αντιμικροβιακή δραστηριότητα) των προϊόντων αυτών. Για αυτόν το λόγο στη βιομηχανία παραγωγής κρέατος προστίθενται και βακτήρια-εκκινητές μαζί με τα νιτρικά άλατα (κυρίως οξυγαλακτικά βακτήρια και μικρόκοκκοι). Τα είδη επιλέγονται με βάση τη δυνατότητά τους να επιταχύνουν την ωρίμανση και να βελτιώνουν την ένταση και τη σταθερότητα του χρώματος στην επιθυμητή θερμοκρασία ζύμωσης (Y.H. Hui et. al., 2001).

Οι μικροοργανισμοί που προκαλούν αλλοιώσεις στα λουκάνικα είναι γενικά παρόμοιοι με εκείνους που εντοπίζονται στο κρέας. Το είδος του κρέατος, η παρουσία συντηρητικών και οι συνθήκες αποθήκευσης (θερμοκρασία, ατμόσφαιρα) καθορίζουν το είδος των κυρίαρχων μικροοργανισμών στο προϊόν. Όπως και στα φρέσκα κρέατα, στα προϊόντα σε διαπερατή από τον αέρα συσκευασία θα κυριαρχούν τα *Pseudomonas* στις χαμηλές θερμοκρασίες και τα εντεροβακτήρια σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Η παρουσία των βακτηρίων αυτών στα μαγειρεμένα προϊόντα είναι κυρίως αποτέλεσμα μόλυνσης μετά τη θερμική διαδικασία, συνήθως κατά τη διάρκεια της αφαίρεσης των περιβλημάτων, του τεμαχισμού, και του επόμενου χειρισμού κατά τη διάρκεια της συσκευασίας. Εντούτοις, αυτή η ομάδα υστερεί σε σχέση με τα οξυγαλακτικά βακτήρια υπό τις κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης (Y.H. Hui et. al., 2001).



## 2.6 Το κρέας ως υπόστρωμα για μικροβιακή ανάπτυξη

### 2.6.1 Γενικά για τα βακτήρια

Τα βακτήρια είναι οι συχνότεροι, σημαντικότεροι και πιο επικίνδυνοι βιολογικοί παράγοντες που βρίσκονται μέσα στα τρόφιμα και προκαλούν σοβαρά προβλήματα στη βιομηχανία τροφίμων. Πρόκειται για μικροσκοπικούς ετερότροφους μονοκύτταρους οργανισμούς, χωρίς διακριτό κυτταρικό πυρήνα, χωρίς χλωροφύλλη και με σφαιρικό, ραβδόμορφο ή σπειροειδές σχήμα. Τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται με διαίρεση και βρίσκονται στο περιβάλλον σε δύο μορφές: τη βλαστική μορφή και τη μορφή σπορίων. Όλα τα βακτήρια αναπαράγονται, όταν βρίσκονται στη βλαστική μορφή. Τα σπόρια δεν έχουν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται, αλλά αποτελούν έναν τρόπο προστασίας και επιβίωσης των βακτηρίων, όταν αυτά βρίσκονται σε αντίξοες συνθήκες. Υπό τις κατάλληλες συνθήκες τα σπόρια βλαστάνουν και επανασχηματίζουν τη βλαστική μορφή των βακτηρίων. Τα βακτήρια αποτελούν την κυριότερη πηγή αλλοίωσης των τροφίμων σε σχέση με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς καθώς (Ταούκης, 2008):

- διαθέτουν μεγάλη παραλλακτικότητα ανάλογα με το είδος τους ως προς τις απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά, θερμοκρασία, οξυγόνο και pH.
- έχουν δυνατότητα σχηματισμού ενδοσπορίων.
- έχουν δυνατότητα αναερόβιας ανάπτυξης.
- εκκρίνουν τοξίνες.

#### Ταξινόμηση κατά Gram

Η χρώση κατά Gram εξαρτάται από τη σύσταση και τη στρωμάτωση του βακτηριακού τοιχώματος και είναι θεμελιώδης ιδιότητα που συνδέεται με διαφορετική συμπεριφορά όσον αφορά την παθογένεια, την αντοχή στα αντιβιοτικά και άλλους παράγοντες. Τα βακτήρια ταξινομούνται σε Gram θετικά βακτήρια και σε Gram αρνητικά βακτήρια ανάλογα με τη συμπεριφορά τους στη χρώση κατά Gram, μέθοδος που ονομάστηκε έτσι από το Δανό Hans Christian Gram που την επινόησε. Συγκεκριμένα, στα Gram θετικά

βακτήρια το κυτταρικό τοίχωμα αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη, οξέα σε σημαντική ποσότητα και πολλούς πολυσακχαρίτες και χρωματίζεται μωβ, ενώ στα Gram αρνητικά βακτήρια το κυτταρικό τοίχωμα είναι λιποπολυσακχαριδικό και χρωματίζεται με κόκκινο χρώμα (Gerhard Feiner, 2006).

Τα στάδια της χρώσης είναι τα εξής: στην αρχή το βακτηριακό επίχρισμα μονιμοποιείται με θέρμανση και χρωματίζεται με μια βασική χρωστική με ένα διάλυμα ιώδους της γενθιανής, στη συνέχεια γίνεται έκπλυση και εναπόθεση διαλύματος ιωδίου (Lugol). Ακολουθεί έκπλυση με ένα οργανικό διαλύτη, όπως αλκοόλη ή αλκοόλη-ακετόνη, το επίχρισμα εκπλένεται με νερό βρύσης και χρωματίζεται πάλι με διάλυμα φουξίνης και τελικά εκπλένεται με νερό. Ορισμένα βακτήρια αποχρωματίζονται από τον οργανικό διαλύτη και χρωματίζονται με τη δεύτερη χρωστική, τη φουξίνη. Άλλα όμως δεν αποχρωματίζονται και παραμένουν ιώδη, αφού έχουν κατακρατήσει την πρώτη χρωστική. Αυτά ονομάζονται Gram θετικά βακτήρια. Αυτά που αποχρωματίζονται και έχουν χρωματιστεί με τη δεύτερη χρωστική (φουξίνη) λέγονται Gram αρνητικά βακτήρια (Χίνη Θ., 2006)

Η βασική διαφορά μεταξύ των Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων είναι ότι τα Gram αρνητικά βακτήρια εκδηλώνουν παθογένεια μέσω της προσβολής του ανθρώπου, ενώ τα Gram θετικά βακτήρια εκδηλώνουν παθογένεια μέσω παραγόμενων τοξινών. Εξαίρεση αποτελεί το *Escherichia coli*, το οποίο είναι Gram αρνητικό και εκδηλώνει παθογένεια μέσω τοξίνης (Gerhard Feiner, 2006).

### **2.6.2 Βακτήρια στο κρέας και στα προϊόντα του.**

Ο πολλαπλασιασμός των μικροοργανισμών στο κρέας εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία του προϊόντος, οι προηγούμενες κατεργασίες που έχει υποστεί το προϊόν, το pH, τα διαθέσιμα θρεπτικά υλικά, η οξειδοαναγωγική δυνατότητα του προϊόντος και η ατμόσφαιρα που το περιβάλλει. Η μικροβιακή ανάπτυξη πραγματοποιείται στην υδατική φάση του προϊόντος. Αυτή η φάση είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά, χρήσιμα

σχεδόν σε όλους τους μικροοργανισμούς. Τα κατεψυγμένα κρέατα εμποδίζουν την ανάπτυξη μολυσμένων μικροβίων, αλλά επιτρέπουν την επιβίωσή τους κατά τα διάρκεια της αποθήκευσης (Y.H. Hui et. al., 2001).

Παρόλο που οι συγκεντρώσεις των υδατανθράκων όπως η γλυκόζη είναι ελάχιστες στην υδατική φάση του κρέατος σε σχέση με αυτές των πρωτεϊνών και είναι ικανές να ενισχύσουν τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών. Καθώς η γλυκόζη μειώνεται, οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν τα αμινοξέα για να καλύψουν τις ανάγκες τους σε ενέργεια. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή πτητικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση της χαρακτηριστικής οσμής της αλλοίωσης. Πολλά βακτήρια, όπως οι ψευδομονάδες, παράγουν αμμωνία κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού των αμινοξέων, η οποία είναι η κύρια αιτία αύξησης του pH στα αλλοιωμένα προϊόντα κρέατος.

Τα Gram αρνητικά βακτήρια υπερισχύουν κατά τη διάρκεια της αερόβιας μικροβιακής ανάπτυξης στα προϊόντα κρέατος και είναι γενικά υπεύθυνα για την παραγωγή των πτητικών ενώσεων. Η εμφάνιση της οσμής του μικροβιακά μολυσμένου κρέατος μπορεί να επιβραδυνθεί, με προσθήκη γλυκόζης στα κρέατα. Η παρουσία της γλυκόζης καθυστερεί τη χρησιμοποίηση των αμινοξέων από τα βακτήρια, και κατά συνέπεια επιβραδύνει την εμφάνιση των χαρακτηριστικών αυτών οσμών στα προϊόντα του κρέατος.

Ο μικροβιακός μεταβολισμός στα κατεψυγμένα προϊόντα κρέατος σε κανονική ατμόσφαιρα είναι οξειδωτικός. Τα αερόβια Gram αρνητικά βακτήρια είναι η κύρια αιτία της υποβάθμισης των κρεατοσκευασμάτων που αποθηκεύονται στους 4°C, με κυρίαρχα τα είδη *Pseudomonas*. Στα συσκευασμένα κρέατα σε συσκευασίες κενού ή τροποποιημένης ατμόσφαιρας κυρίαρχα βακτήρια για την εμφάνιση οσμών είναι τα οξυγαλακτικά και το *Brochothrix thermosphacta* (Y.H. Hui et. al., 2001).

### Salmonellae

Το γένος των σαλμονελών αποτελεί τυπικό μέλος της οικογένειας των εντεροβακτηρίων (μη σπορογόνα) και πήρε το όνομα του από τον Αμερικάνο μικροβιολόγο D.E. Salmon. Είναι αερόβια βακτήρια σχήματος ράβδου,

αρνητικά κατά Gram, αρνητικά σε οξειδάση και θετικά σε καταλάση. Τα περισσότερα στελέχη είναι κινητά με το μηχανισμό των βλεφαρίδων. Τα είδη όπως *Salmonella typhi*, *S. Typhimurium* και *S. enteritidis* σχετίζονται με την τεχνολογία του κρέατος. Στα τρόφιμα οι σαλμονέλες εγκαθίστανται είτε με τα χέρια των χειριστών (ως φορείς), είτε μέσω μολυσμένου νερού (Gerhard Feiner, 2006).

Πρόκειται για οργανισμούς που επιζούν σε θερμοκρασίες 5°C-45°C, με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C. Ακόμη, οι σαλμονέλες επιβιώνουν και πολλαπλασιάζονται σε pH 4,4 και πάνω και ενεργότητα νερού πάνω από 0,92.

Η *Salmonella* spp., που θα βρεθεί στο έντερο του ανθρώπου, ξεκινά να αναπτύσσεται, όταν ο πληθυσμός της φτάσει το  $10^5$ - $10^6$ . Τότε ελευθερώνονται τοξίνες που προκαλούν διαταραχές στην υγεία του. Συνήθως, το βακτήριο εντοπίζεται στο κρέας των πουλερικών και των χοίρων καθώς και στον κιμά, και προκαλεί τροφική δηλητηρίαση, πυρετό, διάρροια, εμετό και σηψαιμία. Η περίοδος των συμπτωμάτων είναι 10-16h μετά τη λήψη της μολυσμένης τροφής. Η καλύτερη πρόληψη έναντι του βακτηρίου *Salmonella* είναι το κατάλληλο μαγείρεμα του φαγητού και η αποθήκευσή του κάτω από τους 5°C (Gerhard Feiner, 2006). Τα διάφορα είδη σαλμονέλας καταστρέφονται με διεργασίες παστερίωσης και διαδίδονται συνήθως μέσω μόλυνσης των τροφίμων από ακατέργαστα τρόφιμα. Τα σχέδια HACCP πρέπει να περιλαμβάνουν ελέγχους για την καταστροφή και την εξαφάνιση του μικροοργανισμού αυτού και την αποφυγή επαναμόλυνσης (Τζιά Κ., 2008).

### Escherichia coli

Ανήκει στο γένος *Escherichia*, που πήρε το όνομά του από τον Theodor Escherich. Πρόκειται για μη σπορογόνο, αρνητικό κατά Gram μέλος της οικογένειας των εντεροβακτηρίων και, όπως στις σαλμονέλες. Ο αρχικός βιότοπός του είναι ο γαστρεντερικός σωλήνας και το εντερικό τμήμα του πεπτικού συστήματος του ανθρώπου και ορισμένων ζώων. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί του τύπου *E. Coli* είναι συμβιούντες οργανισμοί και δεν προκαλούν λοιμώξεις, αλλά υπάρχουν μερικά στελέχη που είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και τα ζώα, καθώς παράγουν τοξίνες. Χαρακτηριστικό

γνώρισμα του μικροοργανισμού αυτού είναι η ικανότητά του να ζυμώνει τη γλυκόζη σε υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα σε αναλογία 1:1. Τα παθογόνα στελέχη του *E. Coli* είναι γνωστά ως εντεροαιμορραγικά *E. Coli*, εντεροδιεισδυτικά *E. Coli* και εντεροπροσκολλητικά *E. Coli*.

Το πιο κοινό εντεροαιμορραγικό *E. Coli* βακτήριο είναι το στέλεχος O157:H7. Τα συμπτώματα της νόσησης από αυτό το βακτήριο είναι αιμορραγική κολίτιδα, αιμορραγική διάρροια και νεφρική ανεπάρκεια. Τα συμπτώματα εμφανίζονται 12-72h μετά τη μόλυνση και η ανάπτυξή του απαιτεί εύρος pH από 4,5 ως 8,8 και ενεργότητα νερού πάνω από 0,95. Υπό κατάλληλες συνθήκες, πολλαπλασιάζεται κάθε 20-30min. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης για το στέλεχος είναι οι 37°C και επίσης έχει την ικανότητα να επιβιώνει στην κατάψυξη. Οι περισσότερες τροφικές δηλητηριάσεις από τη χρήση μαγειρεμένων προϊόντων κρέατος οφείλονται στο βακτήριο *E. Coli* O157:H7, αλλά αν το κρέας μαγειρευτεί σε θερμοκρασιακό εύρος 70-72°C, το βακτήριο απενεργοποιείται. Η καλύτερη πρόληψη έναντι του βακτηρίου είναι το κατάλληλο μαγείρεμα του κρέατος και η αποθήκευσή του κάτω από τους 4°C (Gerhard Feiner, 2006).

#### Yersinia enterocolitica

Όσον αφορά το κρέας και τα προϊόντα του, το *Yersinia enterocolitica* είναι αντιπροσωπευτικό για το γένος των εντεροβακτηρίων. Είναι ένα μικρό κοκκοειδές, Gram αρνητικό βακτήριο. Πρόκειται για ψυχρόφιλο παθογόνο μικροοργανισμό που αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών από τους -1°C έως τους 42°C. Η βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη του βακτηρίου είναι γύρω στους 26°C. Ευδοκιμεί σε ένα εύρος pH ανάμεσα στο 4,4 και 9,2 και απαιτείται ενεργότητα νερού πάνω από 0,92 για να επιβιώσει.

Το *Yersinia enterocolitica* συχνά εντοπίζεται στα στρείδια, στο γάλα και στο κρέας. Η περίοδος επώασης του βακτηρίου είναι 24-36h. Τα συμπτώματα της νόσησης είναι πυρετός, ναυτία, εμετός και διάρροια. Το βακτήριο επιβιώνει στο κρέας συσκευασμένο υπό κενό στον 1°C. Ο καλύτερος τρόπος για την καθυστέρηση της ανάπτυξής του είναι η αποθήκευση του κρέατος κάτω από τους 5°C (Gerhard Feiner, 2006).

## Staphylococcus aureus

Ο *S. Aureus* αποτελεί ένα αερόβιο, Gram θετικό βακτήριο σε σχήμα κόκκου διαμέτρου 0,5 μm – 1,5 μm ο οποίος σε μικροσκοπικές παρατηρήσεις εμφανίζεται συνήθως με τη μορφή “τσαμπιών σταφυλιού” (εξ ου και η ονομασία του) κατά ζεύγη, ή σαν μικρές αλυσίδες. Η σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση αποτελεί μία από τις συχνότερες αιτίες γαστρεντερίτιδας στον κόσμο. Η ασθένεια αυτή οφείλεται στην κατανάλωση σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών, οι οποίες υπάρχουν σε τρόφιμα μολυσμένα με *S. Aureus*. Λόγω του ότι η ασθένεια προκαλείται από παραγόμενες τοξίνες και όχι από ανάπτυξη του μικροοργανισμού στον ξενιστή, κατανέμεται στις τροφοτοξικώσεις. Η συσχέτιση της ασθένειας με την παραγωγή των τοξινών έγινε στις αρχές του αιώνα (Gerhard Feiner, 2006).

Οι αποικίες του *S. Aureus* σχηματίζουν ένα σύμπλεγμα και όχι αλυσίδα. Οι τοξίνες που παράγονται είναι θερμικά σταθερές και υπεύθυνες για τις τροφικές δηλητηριάσεις. Ο χρόνος επώασης του βακτηρίου είναι 2-6h και προκαλεί συμπτώματα στον άνθρωπο όπως εμετό και διάρροια αλλά όχι πυρετό.

Το *S. Aureus* εντοπίζεται στα προϊόντα του κρέατος και αναπτύσσεται σε θερμοκρασιακό εύρος ανάμεσα στους 7°C και 45°C. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης του βακτηρίου είναι οι 37°C, η βέλτιστη τιμή του pH κυμαίνεται από 7,2 ως 7,6 και ενεργότητα νερού κάτω από 0,86. Η αποθήκευση του κρέατος και των προϊόντων του κάτω από τους 7°C είναι η πιο απλός και αποτελεσματικός τρόπος για την εμπόδιση της βακτηριακής ανάπτυξης (Gerhard Feiner, 2006).

## Campylobacter jejuni

Από τα διάφορα είδη καμπυλοβακτηρίων το *C. Jejuni* αποτελεί ένα από τα συχνότερα αίτια τροφολοιμώξεων. Πρόκειται για ένα Gram αρνητικό βακτήριο, το οποίο, για να αναπτυχθεί χρειάζεται μόλις 3% - 5% οξυγόνο και 2%-10% διοξείδιο του άνθρακα. Λόγω του ότι το στέλεχος αυτό είναι το συνηθέστερο είδος καμπυλοβακτηρίου στα ζώα και τα πτηνά (ιδιαίτερα στα κοτόπουλα), είναι συχνή η παρουσία του και στα αντίστοιχα τρόφιμα. Πρόκειται για σχετικά ψυχρόφιλο μικροοργανισμό που καταστρέφεται σε θερμοκρασίες

παστερίωσης και μαγειρέματος, επιβιώνει δύσκολα σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος, αλλά επιβιώνει σε χαμηλές θερμοκρασίες συντήρησης (3°C). Γενικά, είναι ικανό να επιβιώνει σε θερμοκρασίες των ψυγείων συντήρησης. Το *C. Jejuni* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στην ξήρανση. Ενδεικτικό είναι ότι ελάχιστη μείωση της υγρασίας μπορεί να απαλλάξει τα τρόφιμα από την παρουσία του. Ακόμη, είναι ευαίσθητο σε χαμηλό pH (pH<6) και ιδιαίτερα στην επίδραση διαφόρων οργανικών οξέων (Gerhard Feiner, 2006).

Τα κύρια συμπτώματα της τροφικής δηλητηρίασης που προκαλείται από το *Campylobacter* spp. είναι διάρροια, πυρετός και έντονος πόνος στο στομάχι. Η περίοδος επώασής του είναι περίπου 2-5 ημέρες καθώς επίσης πειράματα που έγιναν σε εθελοντές έδειξαν ότι η λοιμογόνος δόση του οργανισμού αυτού που είναι δυνατόν να προκαλέσει συμπτώματα κυμαίνεται από 2 – 3 log CFU/g. Η σοβαρότητα της λοίμωξης που προκαλείται φαίνεται να είναι ανάλογη με τη δόση (Gerhard Feiner, 2006).

#### Listeria monocytogenes

Το γένος των λιστεριών αποτελείται από δυνητικά αναερόβια, Gram θετικά, θετικά σε καταλάση και αρνητικά σε οξειδάση βακτήρια με κοκκοειδές σχήμα. Έχουν εντοπιστεί επτά είδη λιστεριών, από τα οποία μόνο η *L. Monocytogenes* είναι παθογόνος για τον άνθρωπο και συσχετίζεται με τροφολοιμώξεις. Η μεταφορά του στον ανθρώπινο οργανισμό γίνεται είτε απ' ευθείας, είτε με τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Επίσης, αφθονεί στο υδάτινο περιβάλλον, στο έδαφος και στη βλάστηση, και κατά συνέπεια είναι εύκολο να μολύνει τα ζώα και τον άνθρωπο. Εγκαθίσταται πολύ εύκολα σε εγκαταστάσεις παραγωγής τροφίμων και μολύνει συνεχώς τα τελικά προϊόντα. Πρόκειται δε για οργανισμό ιδιαίτερα σημαντικό για τη βιομηχανία τροφίμων, καθώς επιβιώνει σε αντίξοες συνθήκες.

Συγκεκριμένα, η *L. Monocytogenes* επιβιώνει σε ένα εύρος θερμοκρασιών από 4°C έως 38°C, ενώ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται με πιο βραδείς ρυθμούς. Ακόμη, υπάρχουν αναφορές επιβίωσής της σε τρόφιμα μετά από θέρμανση στους 85°C. Σημαντικό χαρακτηριστικό του μικροοργανισμού είναι ότι, αν επιζήσουν έστω και λίγα κύτταρα και το τρόφιμο διατηρηθεί στο ψυγείο, αυτά θα συνεχίσουν να

πολλαπλασιάζονται, φθάνοντας πάλι σε αριθμούς ικανούς να προκαλέσουν λοίμωξη. Η *L. Monocytogenes* επιζεί σε ένα εύρος pH 5,0– 5,9, ενεργότητα νερού πάνω από 0,92 και αντέχει σε συγκέντρωση NaCl έως και 10% (Gerhard Feiner, 2006).

Η κύρια λοίμωξη που προκαλείται από τη *L. Monocytogenes*, η λιστερίωση, προκαλεί συμπτώματα στο γαστρεντερικό σωλήνα, ενώ στις ευαίσθητες ομάδες (ηλικιωμένοι, παιδιά) μπορεί να οδηγήσει σε σηψαιμία, μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα, και να απειλήσει επικίνδυνα τη ζωή τους. Αν και η λιστερίωση είναι μία άκρως επίπονη ασθένεια, ο αριθμός των περιστατικών της είναι σχετικά χαμηλός σε σχέση με άλλες ασθένειες συνδεδεμένες με την κατανάλωση των τροφίμων.

Η περίοδος επώασης του βακτηρίου είναι από 1 έως 50 ημέρες. Φαίνεται πάντως γενικά πως η λοιμογόνος δόση εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων και η κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή. Πιστεύεται ότι η βαρύτητα των συμπτωμάτων εξαρτάται άμεσα από τη λοιμογόνο δράση, η οποία έχει καθοριστεί έμμεσα από καταμετρήσεις σε τρόφιμα που ευθύνονταν για λιστερίωση και είναι πλησίον σε 2 logCFU/g. Παράμετροι όπως η συγκέντρωση του NaCl περίπου 15% ή η τιμή του pH περίπου ίση με 4,1, σταματούν την ανάπτυξη του *L. Monocytogenes*, αλλά δεν είναι εφαρμόσιμοι σε προϊόντα του κρέατος (Gerhard Feiner, 2006).

### Clostridium perfringens

Το *C. Perfringens* είναι υποχρεωτικά αναερόβιο, Gram θετικό, αρνητικό σε καταλάση σπορογόνο βακτήριο, το οποίο αποτελεί μέρος της φυσιολογικής μικροβιακής χλωρίδας του γαστρεντερικού σωλήνα του ανθρώπου και των ζώων. Ακόμη, εντοπίζεται στο περιβάλλον, ιδιαίτερα στο χώμα, τη σκόνη και τον πυθμένα λιμνών και ποταμών (Gerhard Feiner, 2006).

Πρόκειται για ένα μικροοργανισμό που επιβιώνει σε θερμοκρασίες από 15°C έως 50°C, ενώ τα ενδοσπόριά του αντέχουν ακόμη και στους 100°C για αρκετές ώρες. Η εξαιρετική αντοχή των σπορίων του εξαρτάται τόσο από γενετικούς, όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, και τα έχει καταστήσει



ως τα πλέον θερμοάντοχα. Το *C. Perfringens* επιβιώνει σε pH 4,9 – 8,3 και σε ενεργότητα νερού (aw) τουλάχιστον 0,98.

Το *C. Perfringens* σχετίζεται κυρίως με περιπτώσεις τροφικής δηλητηρίασης που οφείλονται σε μολυσμένα προϊόντα κρέατος και πουλερικών. Η ασθένεια προκύπτει συνήθως από κατανάλωση βαριά μολυσμένων τροφίμων και τα χαρακτηριστικά συμπτώματα είναι διάρροια και έντονος κοιλιακός πόνος. Οι περιστασιακές έρευνες σχετικά με την ασθένεια δείχνουν ότι οφείλεται σε παραγωγή εντεροτοξίνης. Η παρουσία του στα τρόφιμα οφείλεται σε ακατάλληλο θερμοκρασιακό χειρισμό τους, όπως για παράδειγμα η αργή ψύξη και η ατελής επαναθέρμανσή τους (παραμονή για μεγάλο χρονικό διάστημα στην επικίνδυνη ζώνη θερμοκρασίας).

Η λοιμογόνος δόση του *C. Perfringens* είναι αρκετά υψηλή και κυμαίνεται από 6 – 7 logCFU/g. Η λοιμογόνος δόση είναι υψηλή, γιατί τα περισσότερα κύτταρα καταστρέφονται κατά τη διάρκεια της πέψης των τροφίμων και μόνο όταν υπάρχουν σε μεγάλες ποσότητες, υπάρχει η πιθανότητα κάποια να επιβιώσουν και να προκαλέσουν νόσο. Ακόμη, η τοξίνη που ευθύνεται για την εμφάνιση της νόσου παράγεται μόνο in vivo κατά τη διάρκεια σπορογονίας του μέσα στο έντερο (Gerhard Feiner, 2006).

### Clostridium botulinum

Το *C. Botulinum* είναι υποχρεωτικά αναερόβιο, Gram θετικό, σπορογόνο βακτήριο, το οποίο αφθονεί στο περιβάλλον και έχει απομονωθεί από το χώμα και τις κοίτες ποταμών και λιμνών. Αφθονεί επίσης στα πτώματα των άγριων ζώων, ενώ εντοπίζεται επίσης και στο πεπτικό σύστημα των ζώων και των πτηνών, σε μικρότερες όμως συγκεντρώσεις. Η λέξη 'botulinum' προέρχεται από τη λατινική λέξη 'botulus' που σημαίνει λουκάνικο (Gerhard Feiner, 2006).

Το είδος *C. Botulinum* περιλαμβάνεται από επτά διαφορετικά στελέχη βακτηρίων A-G, με κοινό τους γνώρισμα την παραγωγή συγγενικών τοξινών. Τον ανθρώπινο οργανισμό προσβάλλουν τα στελέχη A, B, E και F, από τα οποία τα τρία πρώτα στελέχη εντοπίζονται συχνά στα προϊόντα κρέατος. Τα

στελέχη A και B επιζούν σε εύρος θερμοκρασίας 10°C έως 50°C, σε pH 4,7 – 8,0 και σε ενεργότητα νερού πάνω από 0,95.

Ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη και τη δράση του *C. Botulinum* φαίνεται να έχουν τα διάφορα συντηρητικά που χρησιμοποιούνται στα κρεατοσκευάσματα και τα αλλαντικά (νιτρικά, νιτρώδη, πολυφωσφορικά, αντιοξειδωτικά, αντιβιοτικά κτλ.). Τα σπόρια του *C. Botulinum* θεωρούνται από τα πιο ανθεκτικά στην ακτινοβολήση. Το *C. Botulinum* αποτελεί την κύρια απειλή των κονσερβοποιημένων τροφίμων και των αφυδατωμένων προϊόντων. Η απουσία οξυγόνου είναι ζωτικής σημασίας για το βακτήριο, το οποίο αναπτύσσεται σ' αυτές τις συνθήκες και παράγει τοξίνες. Επίσης, τελευταία εκφράζονται ανησυχίες σχετικά με την επιβίωση του μικροοργανισμού σε τρόφιμα συσκευασμένα σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP), καθώς χρησιμοποιείται CO<sub>2</sub> για την αναστολή της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, αλλά σε συγκεντρώσεις που δεν ξεπερνούν το 30%, όταν για την αναστολή του *C. Botulinum* απαιτείται συγκέντρωση CO<sub>2</sub> μεγαλύτερη από 75%.

Το *C. Botulinum* προκαλεί την αλλαντίαση ή το βοτουλινισμό, μία σοβαρή τοξικολοίμωξη με υψηλή θνησιμότητα, αλλά γενικά σπάνια. Αυξημένη συχνότητα της ασθένειας παρατηρείται στις χώρες της τέως ανατολικής Ευρώπης, εξαιτίας της εκτεταμένης χρήσης κονσερβών οικιακής παρασκευής. Γενικά εντοπίζονται ενδοσπόρια του μικροοργανισμού στα τρόφιμα, αλλά σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (0,1 – 10 σπόρια/kg) (Gerhard Feiner, 2006).

### Lactobacillus

Πρόκειται για ψυχρόφιλα, μη σπορογόνα, ραβδόμορφα, Gram θετικά, αρνητικά σε καταλάση και προαιρετικά αναερόβια βακτήρια. Ο βασικός μεταβολισμός τους είναι να μετατρέπουν τα σάκχαρα σε γαλακτικό οξύ. Ορισμένα στελέχη κατά το μεταβολισμό αυτό παράγουν αέρια (CO<sub>2</sub>). Η παραγωγή των αερίων είναι η κύρια αιτία της αλλοίωσης του τροφίμου. Τα βακτήρια αυτά επιζούν σε pH μικρότερο του 5 στο κρέας και σε ενεργότητα νερού (aw) πάνω από 0,95 (Gerhard Feiner, 2006).

Ορισμένα στελέχη (*L. Viridescens* και *Lb. Curvatus*) παράγουν επίσης  $H_2O_2$ , το οποίο προκαλεί οξειδωση της μυοσφαιρίνης και οδηγεί σε μία πρασινογκρίζα ή κιτρινωπή ή λευκή απόχρωση των κρεατοσκευασμάτων. Το  $H_2O_2$  σχηματίζεται μόνο παρουσία οξυγόνου και ο αποχρωματισμός που προκύπτει είναι ένδειξη μη ορθού υλικού συσκευασίας σε περίπτωση συσκευασιών κενού. Τα βακτήρια αυτά ευθύνονται επίσης και για ορισμένες αλλαγές στη γεύση του κρέατος (το λεγόμενο “ξίνισμα”).

Η ομάδα των *Lactobacillus* αποτελεί μέρος της φυσικής μικροβιακής χλωρίδας του κρέατος, συνήθως όμως η βασική πηγή μόλυνσης του κρέατος και των προϊόντων του από αυτήν είναι από διάφορες ουσίες που προσθέτονται στα προϊόντα του κρέατος ως προσθετικά ή συντηρητικά. Επίσης, σε αρκετά προϊόντα προστίθενται σε ορισμένες δόσεις τα βακτήρια αυτά, καθώς δρουν και ως ανταγωνιστικοί μικροοργανισμοί σε παθογόνους μικροοργανισμούς (π.χ. σε *L. Monocytogenes*), εμποδίζοντας την ανάπτυξή τους και παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής των προϊόντων αυτών (Gerhard Feiner, 2006).

### **2.6.3 Μύκητες στο κρέας και στα προϊόντα του.**

Πέρα από τα βακτήρια, διάφοροι μύκητες είναι υπεύθυνοι για μικροβιακές μολύνσεις, κυρίως σε αλίπαστα προϊόντα κρέατος. Σε περιβάλλον με χαμηλή ενεργότητα νερού ( $a_w$ ) και παρουσία οξυγόνου βρίσκονται μύκητες από τα γένη *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Botrytis*, και *Penicillium*. Μερικά ξηρά αλίπαστα προϊόντα, όπως τα ευρωπαϊκά λουκάνικα, το ιταλικό σαλάμι, είναι ιδανικά για την ανάπτυξη των ειδών *Aspergillus* και *Penicillium*. Υπάρχουν ακόμη ενδείξεις ότι οι χαρακτηριστικές γεύσεις αυτών των προϊόντων οφείλονται εν μέρει στην παρουσία αυτών των μυκήτων (Y.H. Hui et. al., 2001).

Όπως και τα βακτήρια, ορισμένες ζύμες είναι σε θέση να αναπτύσσονται στα κρέατα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε θερμοκρασίες ψυγείου. Οι επιμολύνσεις των προϊόντων από μύκητες εμφανίζονται κυρίως, όταν εφαρμόζονται στα προϊόντα τεχνικές μείωσης του επιπέδου της

δραστηριότητας των βακτηρίων. Τέτοιες τεχνικές περιλαμβάνουν συνήθως το χαμηλό pH (οξίνιση), τη χαμηλή ενεργότητα νερού (αλάτισμα, ξήρανση ή ψύξη). Στα φρέσκα κρέατα εντούτοις, οι μύκητες δεν μπορούν να ανταγωνιστούν τα βακτήρια, κυρίως λόγω των πιο αργών ρυθμών ανάπτυξής τους. Στα κρέατα αυτά είναι κυρίαρχα τα γένη *Candida* και *Debaryomyces*. Η μόλυνση που προκαλείται από τους μύκητες συσχετίζεται χαρακτηριστικά με αλλαγές στην υφή της εξωτερικής επιφάνειας σε αλλαντικά όπως τα λουκάνικα, τα ζαμπόν και το σαλάμι (Y.H. Hui et. al., 2001).

Ορισμένοι μύκητες έχουν τη δυνατότητα να παράγουν μυκοτοξίνες κάτω από ακραίες συνθήκες, οι οποίες είναι πολύ τοξικές στους ανθρώπους ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις. Παράγονται σε τιμές ενεργότητας νερού  $a_w$  μεταξύ 0,93 και 0,82, μειώνοντας τη θερμοκρασία αποθήκευσης των προϊόντων κρέατος εμποδίζεται η παραγωγή των μυκοτοξινών. Επίσης, οι μυκοτοξίνες βρίσκονται στο βάθος των 0,5-0,8cm κάτω από την επιφάνεια του κρέατος (Gerhard Feiner, 2006).

Το γένος *Aspergillus flavus* χρησιμοποιεί υδατάνθρακες όπως τη γλυκόζη, τη φρουκτόζη, για να παράγει την αφλατοξίνη Β. Πρόκειται για μία τοξική ένωση που μπορεί να προκαλέσει καρκίνο στο ήπαρ του ανθρώπου. Το γένος *Penicillium* παράγει τις οχρατοξίνες, που είναι υπεύθυνες για τις νεφροπάθειες στους ανθρώπους (Gerhard Feiner, 2006).

#### **2.6.4 Παράσιτα – Πρωτόζωα στο κρέας και στα προϊόντα του.**

Διάφορα πρωτόζωα έχουν ανιχνευθεί στα κρέατα, τα οποία μπορούν να είναι μολυσματικά για τους καταναλωτές. Αντίθετα από τα βακτήρια και τους μύκητες, τα πρωτόζωα δεν πολλαπλασιάζονται στα τρόφιμα, αλλά μεταφέρονται είτε ενδομυϊκά είτε μέσω μολυσμένων επιφανειών. Η μόλυνση της επιφάνειας μπορεί να προέλθει ακόμη και από τη χρήση μολυσμένων παροχών νερού. Πάντως, τα περισσότερα πρωτόζωα θανατώνονται εύκολα με το κατάλληλο μαγείρεμα (80°C) και το σωστό χειρισμό των προϊόντων. Η μακροπρόθεσμη κατάψυξη ή το αλάτισμα των κρεάτων επίσης έχει αποδειχθεί ότι αδρανοποιεί πολλά από τα πρωτόζωα. Από αυτά, το *Toxoplasma gondi*

μπορεί να προκαλέσει τοξοπλάσμωση στα άτομα που καταναλώνουν μολυσμένα κρέατα από βοοειδή, χοίρους, πρόβατα και αίγες. Τα *Sarcocystis hominis* και *Sarcocystis suihominis* μπορεί να περιέχονται σε ακατέργαστα κρέατα από βοοειδή και χοίρους, ενώ το *Cryptosporidium parvum* έχει επίσης συνδεθεί με την κατανάλωση βοδινού κρέατος (Y.H. Hu et. al., 2001).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Μέθοδοι συντήρησης και συσκευασίας**

### **3.1 Επίδραση της συσκευασίας, της θερμοκρασίας και της αποθήκευσης στο κρέας.**

Η συσκευασία του κρέατος για την προστασία του από μικροβιακή επιμόλυνση και η αποθήκευσή του σε χαμηλή θερμοκρασία για επιβράδυνση της μικροβιακής ανάπτυξης είναι σχετικά πρόσφατες καινοτομίες στην εμπορία κρέατος. Αυτές οι τεχνολογίες έχουν καταστήσει το διακρατικό και διεθνές εμπόριο στα κρέατα εφικτό, και έχουν σημαντικά αποτελέσματα στο χρώμα του κρέατος όπως γίνεται αντιληπτό και αξιολογείται από τον τελικό καταναλωτή.

#### **3.1.1 Νωπό κρέας**

Το κρέας καταψύχεται στους  $-1,5^{\circ}\text{C}$ . Το κρέας που αποθηκεύεται σε οποιαδήποτε θερμοκρασία μεταξύ αυτής και της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος χαρακτηρίζεται ως νωπό. Η θερμοκρασία και ο χρόνος αποθήκευσης μεταξύ των παραπάνω ορίων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σταθερότητα του χρώματος, το οποίο με τη σειρά του μεταφράζεται σε μεγαλύτερη διάρκεια έκθεσης του προϊόντος, προτού συμβούν χρωματικές αλλαγές.

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αποθήκευση του κρέατος είναι η τοποθέτηση ενός ωμού τεμαχίου κρέατος σε ένα δίσκο από πολυστυρένιο με μία μεμβράνη διαπερατή από το οξυγόνο, ώστε να προστατεύεται από μικροβιακή επιμόλυνση και επιφανειακή ξήρανση. Το οξυγόνο διαχέεται ελεύθερα μέσα από τη μεμβράνη, έτσι το κρέας διατηρεί τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

Μια άλλη τεχνολογία είναι αυτή της αποθήκευσης προϊόντων νωπού κρέατος σε συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) πλούσιες σε οξυγόνο. Η μερική πίεση του οξυγόνου πρέπει να διατηρείται σε σχετικά

υψηλά επίπεδα, ώστε να διατηρηθεί η χρωστική μυοσφαιρίνη στην οξειδωμένη της μορφή, διατηρώντας το βαθύ κόκκινο χρώμα της.

Επιπρόσθετα, το κρέας που επιδεικνύεται σε μία διαφανή πλαστική συσκευασία κενού δεν θα μεταβάλει το χρώμα του σε καφετί, επειδή δεν υπάρχει οξυμυοσφαιρίνη για να οξειδωθεί. Η διάρκεια ζωής σε συσκευασία υπό κενό περιορίζεται μόνο από τη μικροβιολογική επιμόλυνση και την αλλοίωση της γεύσης με τη πάροδο του χρόνου. Για τα “κόκκινα” κρέατα, το χειρότερο περιβάλλον βρίσκεται μεταξύ των δύο άκρων αυτού της έκθεσης τους στον αέρα ή το οξυγόνο και αυτού της συσκευασίας υπό κενό, που αποκλείει συνολικά τον αέρα. Τα πλαστικά, που είναι ελαφρώς διαπερατά, επιτρέπουν σε αρκετό οξυγόνο να εισαχθεί εντός της συσκευασίας, ώστε να ικανοποιηθούν οι απαιτήσεις της κατανάλωσης του οξυγόνου από τα μιτοχόνδρια, αλλά όχι να μεταβάλουν το χρώμα του κρέατος. Αυτοί οι όροι ευνοούν το σχηματισμό της μεταμυοσφαιρίνης (Y.H. Hui et. al., 2001).

### **3.1.2 Κατεψυγμένο κρέας**

Όταν το κρέας καταψύχεται, ο σχηματισμός παγοκρυστάλλων εντός ενός πρωτύτερα ομογενοποιημένου προϊόντος, αλλάζει τις οπτικές ιδιότητές του. Το κατεψυγμένο κρέας ανακλά λιγότερο φως και έτσι γίνεται πιο σκούρο σε σχέση με το νωπό. Στην έκθεση στον ατμοσφαιρικό αέρα, το κατεψυγμένο κρέας διατηρεί το χρώμα που είχε τη στιγμή που καταψύχθηκε. Ωστόσο, αν παραμείνει εκτεθειμένο για αρκετό χρόνο, τότε θα αρχίσει να αλλοιώνεται το χρώμα του. Το χρώμα στο κατεψυγμένο κρέας γίνεται βαθύ κόκκινο-καφετί, αποτέλεσμα του συνδυασμού της ανάκλασης, της επιφανειακής ξήρανσης και του σχηματισμού της μεταμυοσφαιρίνης. Ιστορικά, μεγάλες ποσότητες κατεψυγμένου κρέατος στο διεθνές εμπόριο αποθηκεύονταν και διανέμονταν εκτεθειμένα στον αέρα, δημιουργώντας έτσι ένα μη ελκυστικό προϊόν (Y.H. Hu et. al., 2001).

Το κατεψυγμένο κρέας μπορεί να κοπεί και να γίνει πάλι νωπό. Μετά την απόψυξή του, η νέα εξωτερική επιφάνεια ανακτά το χρώμα της, το οποίο όμως ανακτά το φως σε λιγότερο βαθμό συγκριτικά με το κρέας που δεν είχε

καταψυχθεί ποτέ, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται πιο σκουρόχρωμο και λιγότερο ελκυστικό σε σχέση με το νωπό. Η θερμοκρασία των  $-55^{\circ}\text{C}$  έχει προταθεί ως μία ιδανική θερμοκρασία αποθήκευσης για το κατεψυγμένο κρέας και προλαμβάνει τις μεταβολές της ποιότητας του κρέατος. Σ' αυτή τη θερμοκρασία οι ενζυματικές και οι οξειδωτικές αντιδράσεις είναι ελάχιστες (Zhou G. et.al., 2010).

Ο σχηματισμός των παγοκρυστάλλων στο κρέας προκαλεί δομικές αλλοιώσεις στα μυϊκά κύτταρα. Οι μεμβράνες καταστρέφονται και τα ενδοκυτταρικά συστατικά, που ήταν σε κανονικές συνθήκες διαχωρισμένα στα κύτταρα, αναμιγνύονται μεταξύ τους. Ακόμη, επειδή οι παγοκρύσταλλοι αποβάλλουν τα άλατα, το ιοντικό περιεχόμενο του εναπομένου υδροποιημένου νερού αυξάνεται. Ιδιαίτερα παρουσία οξυγόνου, τα γεγονότα αυτά οδηγούν στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών που επιταχύνουν την αλλοίωση και την οξείδωση του μυϊκού ιστού, η οποία οδηγεί στην υποβάθμιση του χρώματος του κρέατος (Zhou G. et.al., 2010, Y.H. Hui et. al., 2001).

### **3.2 Ιοντίζουσες Ακτινοβολίες**

Οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες είναι μία μέθοδος συντήρησης του κρέατος από το 1940. Το 1980 προτάθηκε η χρήση ακτινοβολίας λιγότερο από 10kGy (1Mrad) για τη συντήρηση των τροφίμων. Επιπλέον όλα τα ακτινοβολούμενα προϊόντα απαιτείται να αναγράφουν στην ετικέτα τους ότι έχουν υποστεί τέτοιου είδους επεξεργασία. Τα ραδιονουκλείδια που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα είναι  $^{137}\text{Cs}$  και  $^{60}\text{Co}$ . Το ραδιενεργό κοβάλτιο αποσυντίθεται σε μη ενεργό νικέλιο με ταυτόχρονη εκπομπή υψηλής ενέργειας σωματίδια και ακτίνες X. Οι ακτίνες X σκοτώνουν τους μικροοργανισμούς και δεν αφήνουν το τρόφιμο ραδιενεργό (Zhou G. et.al., 2010).

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης ιοντίζουσών ακτινοβολιών για τη συντήρηση των τροφίμων περιλαμβάνουν την αποτελεσματική αποδραστικοποίηση των βακτηρίων και το γεγονός ότι το προϊόν είναι χημικώς μη μεταβλητό. Η μέγιστη δόση των 10kGy απαιτεί ελάχιστη ενέργεια και γι' αυτό η διεργασία



αυτή θεωρείται μη θερμική, διατηρώντας τη φρεσκάδα και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρέατος αναλλοίωτα (Aymerich et. al., 2008).

Το χρώμα του φρέσκου κρέατος αλλάζει μετά τη χρήση των ιοντιζουσών ακτινοβολιών εξαιτίας της ευαισθησίας των μορίων της μυοσφαιρίνης στην εισροή ενέργειας και την αλλαγή του χημικού περιβάλλοντος. Η διατήρηση του ιδανικού χρώματος του κρέατος μπορεί να γίνει με το συνδυασμό διαφόρων παραγόντων, όπως προσθήκη αντιοξειδωτικών στη τροφή των ζώων πριν τη σφαγή, προσθήκη αντιοξειδωτικών στο προϊόν του κρέατος, συσκευασία κενού ή τροποποιημένης ατμόσφαιρας και έλεγχος θερμοκρασίας αποθήκευσης (Zhou G. et.al., 2010).

### **3.3 Χημικά συντηρητικά**

Το διοξείδιο του άνθρακα και το όζον αποτρέπουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στην επιφάνεια του κρέατος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του. Παρόλο που το όζον δεν αφήνει τοξικά υπολείμματα στο κρέας, επιταχύνει την οξείδωση των λιπαρών και είναι πιο αποτελεσματικό ενάντια στους αερόβιους μικροοργανισμούς. Διάφοροι μικροοργανισμοί παράγουν οργανικά οξέα και αλκοόλες από την αναερόβια ζύμωση των συστατικών του τροφίμου και αυτά μπορεί να ανταγωνίζονται άλλους μικροοργανισμούς που είναι τοξικοί, συνεισφέροντας έτσι στη συντήρηση του προϊόντος.

Τα άλατα, όπως το γαλακτικό νάτριο, χρησιμοποιείται στη βιομηχανία κρέατος για την ικανότητα τους να ενισχύουν το άρωμα, να επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής του κρέατος και να το καθιστούν μικροβιολογικά ασφαλή. Η αντιμικροβιακή δράση των γαλακτικών είναι λόγω της ικανότητάς τους να μειώνουν την ενεργότητα νερού του τροφίμου. Πολλοί ερευνητές χρησιμοποιούν για την επιμήκυνση του χρόνου ζωής των προϊόντων του κρέατος το γαλακτικό νάτριο, συγκεκριμένα σε φρεσκοτεμαχισμένο κρέας αρνιού αποθηκευμένο στους 5-7°C για 3 και 2 μέρες, αντίστοιχα (Zhou G. et.al., 2010).

### 3.4 Υπερυψηλή επεξεργασία κρέατος

Η τεχνική της υπερυψηλής πίεσης ορίζεται ως μία διεργασία εφαρμογής πίεσης μεταξύ 100 και 1000 MPa και προέρχεται από τη βιομηχανία των κεραμικών. Στη βιομηχανία τροφίμων, η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης παρουσιάζει ολοένα και περισσότερο ενδιαφέρον, λόγω της δυνατότητάς της να μειώσει τη μικροβιακή χλωρίδα του τροφίμου χωρίς την εφαρμογή οποιασδήποτε θερμικής κατεργασίας. Τα βιομηχανικά τρόφιμα με εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης κατασκευάζονται κυρίως στην Ιαπωνία (χυμοί φρούτων, αλλαντικά, ψάρια και ρύζι), τις Η.Π.Α. (χυμοί φρούτων), το Μεξικό (χυμοί φρούτων) και την Ισπανία (αλλαντικά και προϊόντα κρέατος). Οι έρευνες για τις επιδράσεις της υπερυψηλής πίεσης στα τρόφιμα ξεκίνησαν περίπου 100 χρόνια πριν, αλλά απέκτησαν βιομηχανική εφαρμογή σχετικά πρόσφατα (Aymerich T. et. al., 2007).

Η υπερυψηλή πίεση αποδίδει το τρόφιμο πιο σταθερό εξαιτίας της ικανότητάς του να μειώνει τον αριθμό της μικροβιακής αλλοίωσης. Είναι ένα δυναμικό εργαλείο για τον έλεγχο των κινδύνων που σχετίζονται με τα βακτήρια όπως *Salmonella* spp. και *L.monocytogenes* στο ωμό κρέας. Η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου εξαρτάται από το επίπεδο της πίεσης, τη θερμοκρασία και το χρόνο εφαρμογής στο προϊόν, αλλά και από παράγοντες που σχετίζονται με το τρόφιμο, όπως το Ph (Zhou G. et.al., 2010).

Το χρώμα του φρέσκου μοσχαριού αλλάζει με την πίεση με αποτέλεσμα τη μετουσίωση της σφαιρίνης στη μυοσφαιρίνη και της οξειδωσης του σιδήρου. Η μετουσίωση και άλλων πρωτεϊνών, όπως η μυοσίνη, μειώνει το κόκκινο χρώμα στην εμφάνιση του κρέατος. Σε αντίθεση με το μοσχάρι, το κρέας των πουλερικών δεν αποχρωματίζεται δραστικά με την εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης, εξαιτίας της μικρότερης περιεκτικότητάς του σε μυοσφαιρίνη (Zhou G. et.al., 2010).

### 3.5 Συσσκευασία κρέατος

Η συσκευασία προϊόντων κρέατος, όπως και άλλων τροφίμων, πρέπει να προστατεύει επαρκώς το προϊόν, αλλά ταυτόχρονα να το καθιστά ελκυστικό για τον καταναλωτή. Η συσκευασία παρέχει στο προϊόν προστασία από τους μικροοργανισμούς, το οξυγόνο, την υγρασία και το φως (UV). Η παρουσία όλων αυτών των παραμέτρων συνεισφέρει στη μείωση της ποιότητας του κρέατος και των προϊόντων του. Τα υλικά συσκευασίας, επιπλέον, πρέπει να εμφανίζουν αντοχή έναντι μηχανικών δυνάμεων και να μην περιέχουν επιβλαβή συστατικά για την υγεία του ανθρώπου, αν έρχονται σε άμεση επαφή με το προϊόν (Gerhard Feiner, 2006).

Οι σημερινές τεχνικές συσκευασίας του κρέατος και των προϊόντων του είναι η συσκευασία υπό κενό και υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP). Τα φυσικά επικαλυπτικά μπορεί να θεωρηθούν ως ένας τύπος συσκευασίας, παρόλο που τα επικαλυμμένα προϊόντα πολύ συχνά καλύπτονται και από μία δεύτερη συσκευασία με σκοπό να αποφευχθεί η διείσδυση του οξυγόνου ή υγρασία μέσα στο προϊόν (Pathak V., 2006).

#### 3.5.1 Συσσκευασία υπό κενό

Η πιο ευρεία μέθοδος που χρησιμοποιείται για να επεκτείνει τη διάρκεια ζωής του κρέατος είναι η συσκευασία υπό κενό. Στις ΗΠΑ, υπολογίζεται ότι το 97% του βοδινού κρέατος παράγεται και μεταφέρεται σε συσκευασίες κενού. Οι συσκευασίες κενού επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής των κατεψυγμένων κρεάτων με τη διατήρηση ενός περιβάλλοντος ανεπαρκούς σε οξυγόνο μέσα στο πακέτο. Ο αέρας μέσα στη συσκευασία πρέπει να αφαιρεθεί σε ανοξικά επίπεδα (λιγότερο από 500 ppm), για να αποτρέψει την αλλαγή του χρώματος λόγω των χαμηλών επιπέδων του οξυγόνου (Humphreys, 1996, Joseph Kerry et. al., 2002).

Η έννοια συσκευασμένου κρέατος αναπτύχθηκε από Γάλλους επιστήμονες από το 1932, με σκοπό να παρατείνει τη διάρκεια ζωής του παγωμένου κρέατος που αποθηκευόταν στις στρατιωτικές τροφοδοσίες. Παρόλα αυτά το

βοδινό κρέας διανεμήθηκε με αυτήν τη μορφή για πρώτη φορά το 1966. Σήμερα, παρά τη χρήση διαφορετικών υλικών συσκευασίας, η έννοια παραμένει η ίδια. Τα σφάγια χωρίζονται σε μέρη, επεξεργάζονται και συσκευάζονται σε κενό πριν σταλούν στους λιανοπωλητές. Η μεταφορά γίνεται με κιβώτια, επειδή η απώλεια βάρους και η αφυδάτωση των προϊόντων μπορούν να αποτραπούν. Επίσης το χρώμα και η ποιότητα του κρέατος διατηρούνται, όταν χρησιμοποιούνται υλικά χαμηλής διαπερατότητας σε οξυγόνο, ενώ οι διαδικασίες διανομής και ελέγχου γίνονται ευκολότερα. Η επίδραση της συσκευασίας υπό κενό επιτυγχάνεται με τη διατήρηση μίας εσωτερικής ατμόσφαιρας φτωχής σε οξυγόνο, καθώς η βακτηριακή ανάπτυξη εμποδίζεται στο pH του κρέατος σε τέτοιες συνθήκες (Humphreys, 1996, Joseph Kerry et. al., 2002).

Το περιβάλλον εντός της συσκευασίας καθορίζει τον τύπο της μικροχλωρίδας που αναπτύσσεται. Όταν το κρέας συσκευάζεται για πρώτη φορά σε κενό, οποιοδήποτε υπόλοιπο οξυγόνο παραμένει εντός της συσκευασίας καταναλώνεται από τις χρωστικές ουσίες του κρέατος και των μυών και παράγεται CO<sub>2</sub> ως τελικό προϊόν του ιστού και της μικροβιακής αναπνοής. Σε μία καλή συσκευασία κενού η εσωτερική ατμόσφαιρα αποτελείται από λιγότερο από 1% O<sub>2</sub> και από 10% έως 20% CO<sub>2</sub>. Αυτός ο τύπος συσκευασίας περιορίζει σημαντικά την αύξηση των αερόβιων μικροοργανισμών όπως τα *Pseudomonas* και ευνοεί τους προαιρετικούς αναερόβιους οργανισμούς όπως ο *Lactobacillus* (επιθυμητός) και το *Thermospacta brochothrix* (ανεπιθύμητος). Αυτά τα βακτήρια είναι αργής ανάπτυξης και προκαλούν μικρότερη υποβάθμιση του προϊόντος σε υψηλότερους βακτηριακούς αριθμούς και μετά από πολλές εβδομάδες αποθήκευσης. Υπό αερόβιες συνθήκες η αύξηση του *Thermospacta brochothrix* στις ψυχρές (χαμηλές) θερμοκρασίες εμποδίζεται σε τιμές pH κάτω από 5,8. Ωστόσο, η αύξηση αυτού του οργανισμού συνδέεται συχνά με την πρόωρη υποβάθμιση του συσκευασμένου σε κενό κρέατος (Joseph Kerry et. al., 2002).

Εάν η διαδικασία της συσκευασίας κενού πραγματοποιείται σωστά, η διάρκεια ζωής του κρέατος κατά την αποθήκευση μπορεί να επεκταθεί. Η απαραίτητη προσοχή πρέπει να δίνεται, ώστε να εξασφαλίσει ότι το αρχικό

μικροβιακό φορτίο βρίσκεται σε όσο το δυνατόν χαμηλότερα επίπεδα με την τήρηση των πρακτικών υγιεινής. Η θερμοκρασία πρέπει να παραμένει όσο το δυνατόν πλησίον στους 0°C. Κρέατα με υψηλό pH πρέπει να αποφεύγονται, καθώς ενδέχεται να εμφανίσουν πρόωρες αλλοιώσεις. Πρωτίστως η επιτυχία της συσκευασίας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το κενό που δημιουργείται. Τα υψηλά επίπεδα κενού οδηγούν σε πιο επιθυμητό χρώμα των μυών και σε καλύτερη εμφάνιση των λιπαρών. Το κρέας κανονικού pH (<5,8) σε συσκευασία κενού μπορεί να αποθηκευτεί για 12 έως 14 εβδομάδες στους 0°C. Η συσκευασία υπό κενό είναι μία απλή και εύκολα ελεγχόμενη διαδικασία, με οποιαδήποτε αποτυχία να εντοπίζεται από τα ορατά σημεία αέρα που παραμένουν στη συσκευασία (Joseph Kerry et. al., 2002).

Παρόλα αυτά, η συσκευασία κενού θεωρείται ακατάλληλη για τα “κόκκινα” κρέατα, καθώς τα μειωμένα επίπεδα οξυγόνου οδηγούν σε αλλοίωση του χρώματος και δεν γίνονται αποδεκτά από τους καταναλωτές. Όσον αφορά το χοιρινό κρέας, δείγματα που αποθηκεύτηκαν σε κενό είχαν πιο αποδεκτό χρώμα σε σχέση με τα αντίστοιχα σε κανονική ατμόσφαιρα. Γενικά πάντως ο αριθμός των προϊόντων που μπορούν να συσκευαστούν σε κενό είναι περιορισμένος, καθώς τα διάφορα σχήματα των τεμαχίων δεν επιτρέπουν τη σωστή εφαρμογή του υλικού συσκευασίας στις επιφάνειες. Ακόμη, η συσκευασία υπό κενό θεωρείται ακατάλληλη για τα προϊόντα κρέατος που είναι ευαίσθητα στην πίεση, όπως για παράδειγμα οι πολύ λεπτές φέτες ζαμπόν όταν συσκευάζονται υπό κενό, είναι δύσκολο να διαχωριστούν χωρίς αλλοίωση (Humphreys, 1996, Joseph Kerry et. al., 2002).

Οι συσκευασίες κενού για τα προϊόντα κρέατος διαμορφώνονται με τέσσερις βασικούς τρόπους. Η πρώτη μέθοδος είναι μέσω θέρμανσης με ένα εύκαμπτο υλικό συσκευασίας, κλείνοντας τις γύρω περικοπές. Οι συσκευασίες περιέχουν πώματα σε κάθε άκρη και κατά μήκος των πλευρών. Όταν εκτίθενται στη θέρμανση, ελευθερώνεται τάση και οι συσκευασίες στενεύουν και στις δύο κατευθύνσεις. Αυτή η διαδικασία βελτιώνει τις μηχανικές αντοχές και τα επίπεδα του οξυγόνου στη συσκευασία. Οι περισσότερες από αυτές τις συσκευασίες δημιουργούνται από πολυστρωματικά πλέγματα βασισμένα σε πολυολεφινικές ρητίνες, με PVDC και αιθυλο-βινυλο-αλκοόλη (EVOH) ως

τμήμα εμποδίου (φράγματος) αερίου (Humphreys, 1996, Joseph Kerry et. al., 2002).

Η δεύτερη μέθοδος είναι με χρήση διαμορφωμένων πλαστικών συσκευασιών σε θάλαμο κενού. Οι συσκευασίες αυτές χρησιμοποιούν πολυαμίδιο (PA) ως εξωτερικό στρώμα και πολυαιθυλένιο. Οι συσκευασίες αυτές δεν μεταβάλλουν το σχήμα τους και επιτρέπουν έτσι το σχηματισμό σταγονιδίων στην επιφάνεια του τροφίμου.

Η τρίτη μέθοδος είναι η χρήση θερμικά διαμορφωμένων δίσκων από ένα βασικό πλέγμα. Αφού το προϊόν τοποθετηθεί στον πρόσφατα σχηματισμένο δίσκο, ένα δεύτερο στρώμα τοποθετείται στην κορυφή του δίσκου. Η συσκευασία τότε σφραγίζεται σε θάλαμο κενού.

Στην τελευταία μέθοδο το προϊόν λειτουργεί ως μήτρα. Το προς συσκευασία κρέας τοποθετείται σε μία λεία επιφάνεια του υλικού συσκευασίας. Το άνω άκρο της συσκευασίας διαμορφώνεται με τη θερμότητα και ο αέρας αφαιρείται, σχηματίζοντας τη συσκευασία κοντά στην επιφάνεια του προϊόντος (Humphreys, 1996, Joseph Kerry et. al., 2002).

Διάφορα συστήματα συσκευασίας υπάρχουν επίσης για τα προϊόντα κρέατος. Η συσκευασία κενού χρησιμοποιείται για τα τεμαχισμένα κρέατα και ολόκληρα κομμάτια των επεξεργασμένων κρεάτων. Η συσκευασία κενού με τεχνική συρρίκνωσης ατμού μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί. Αυτή η μέθοδος αφαιρεί τη χαλαρή ταινία και η επιφάνεια γίνεται πιο λεία. Το προϊόν πρέπει να αντέχει στη θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια της διαδικασίας. Οι συσκευασίες από συμπαγείς μήτρες χρησιμοποιούνται για μεμονωμένα τμήματα του επεξεργασμένου κρέατος. Το σχήμα του προϊόντος πρέπει να ταιριάζει απόλυτα στις διαστάσεις της συσκευασίας (Zhou G. et.al., 2010).

Μία άλλη μέθοδος που εφαρμόζεται ευρέως είναι η λεγόμενη “sous vide”. Αναπτύχθηκε στα μέσα του 1970 στη Γαλλία και σταδιακά βρίσκει εφαρμογή στις Η.Π.Α. και στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Η μέθοδος περιλαμβάνει συσκευασία υπό κενό των τροφίμων σε πολυστρωματικό πλαστικό υλικό, μαγείρεμα του συσκευασμένου τροφίμου σε θερμό υδατόλουτρο ή ατμομάγειρα, ταχεία ψύξη με ψυχρό νερό και αποθήκευση σε ψύξη. Έχει

αποδειχθεί ότι η μέθοδος αυτή είναι οργανοληπτικά και θρεπτικά ανώτερη. Η μειωμένη μερική πίεση του οξυγόνου εντός της συσκευασίας απαγορεύει τις αερόβιες μικροβιολογικές και χημικές δραστηριότητες, ενώ η συσκευασία απαγορεύει τη διαφυγή των πτητικών ουσιών που ευθύνονται για το άρωμα κατά το μαγείρεμα (Joseph Kerry et. al., 2002).

Μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με τη μικροβιολογική ασφάλεια της μεθόδου επικεντρώνονται στο παθογόνο *Clostridium botulinum*. Ο κίνδυνος που υπάρχει από τη μέθοδο είναι ότι οι χημικές οξειδώσεις και οι αλλοιώσεις από τους μικροοργανισμούς δεν παρατηρούνται, λόγω της αναερόβιας φύσης της διαδικασίας. Συνεπώς, η ανάπτυξη αναερόβιων παθογόνων οδηγεί σε ένα οργανοληπτικά αποδεκτό προϊόν, το οποίο όμως δεν είναι ασφαλές για κατανάλωση από μικροβιολογικής πλευράς. Εντούτοις, υπάρχουν λίγα στοιχεία για να δειχθεί μέχρι σήμερα ένας σημαντικός κίνδυνος από τη διεργασία, εκτός από ορισμένες περιπτώσεις που είναι αποτέλεσμα είτε της ανεπαρκούς θερμικής επεξεργασίας είτε του υπερβολικά μεγάλου χρόνου αποθήκευσης (Joseph Kerry et. al., 2002).

Η κονσερβοποίηση είναι επίσης μία μορφή συσκευασίας κενού που συνοδεύεται συχνά από θερμική επεξεργασία. Το κενό στα δοχεία μπορεί να επιτευχθεί γεμίζοντας πλήρως τη συσκευασία με το προϊόν σε υψηλή θερμοκρασία και ατμοσφαιρική πίεση. Το κενό μπορεί επίσης να επιτευχθεί σε θαλάμους κενού. Ο σημαντικότερος λόγος για τη χρήση των συσκευασιών αυτών σε προϊόντα κρέατος είναι η παραγωγή ασφαλών προϊόντων με επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η επιτυχής παραγωγή κονσερβοποιημένων προϊόντων κρέατος απαιτεί όλοι οι βιώσιμοι μικροοργανισμοί, είτε να καταστρέφονται, είτε να αδρανοποιούνται. Η διαδικασία πρέπει επίσης να αδρανοποιήσει τις ενζυμικές αντιδράσεις της πρώτης ύλης. Κατά την παρασκευή τους τα εμπορικά κονσερβοποιημένα προϊόντα κρέατος φθάνουν γενικά σε μία εσωτερική θερμοκρασία τουλάχιστον 107°C, αλλά αυτή η θερμοκρασία μπορεί να είναι τόσο χαμηλή όσο 101°C, ανάλογα με την περιεκτικότητα σε χλωριούχο νάτριο και σε νιτρώδη άλατα.

Μερικά προϊόντα κρέατος που διανέμονται με κονσέρβες έχουν υποστεί μόνο μία διαδικασία παστερίωσης και πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα.

Στη βιομηχανία κρέατος χρησιμοποιούνται τύποι δοχείων διαφόρων σχημάτων και μεγεθών. Τα δοχεία κατασκευάζονται από κασσίτερο ή επιστρωμένο χάλυβα με χρώμιο ή αλουμίνιο. Πρόσφατα τα υλικά αυτά αντικαταστάθηκαν με φύλλα PET-αλουμινίου. Το προϊόν που προκύπτει έχει βελτιωμένη γεύση, μεγαλύτερη θρεπτική αξία και λιγότερο κόστος ενέργειας. Υπάρχει μεγάλο εύρος κονσερβοποιημένων προϊόντων κρέατος που είναι διαθέσιμα για λιανική πώληση (Humphreys, 1996, Joseph Kerry et. al., 2002).

### **3.5.2 Συσσκευασία Τροποποιημένης Ατμόσφαιρας (MAP)**

Οι συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) αποτελούν τη διατήρηση των τροφίμων σε συσκευασίες από υλικά με μικρή διαπερατότητα στις οποίες το αέριο περιβάλλον αλλάζει, ώστε να επιβραδύνει το ρυθμό αναπνοής, να μειώσει τη μικροβιακή ανάπτυξη και να καθυστερήσει τις ενζυμικές αντιδράσεις, με τελικό σκοπό να επεκτείνει τη διάρκεια ζωής του τροφίμου. Τα συστήματα MAP χρησιμοποιούν συχνά αέρια μίγματα του CO<sub>2</sub>, του O<sub>2</sub> και του N<sub>2</sub>, στα οποία κάθε αέριο διαδραματίζει ένα συγκεκριμένο ρόλο στη διατήρηση του τροφίμου. Ιστορικά, πάνω από εκατό χρόνια πριν ένα δίπλωμα ευρεσιτεχνίας χορηγήθηκε για την εφαρμογή μίγματος αερίου CO<sub>2</sub> και CO για την αποθήκευση του κρέατος. Στη δεκαετία του 1970 οι συσκευασίες MAP χρησιμοποιήθηκαν σε λιανικά προϊόντα κρέατος στη Γαλλία και το Ηνωμένο Βασίλειο. Σήμερα, η τεχνική χρησιμοποιείται στις δυτικές ευρωπαϊκές χώρες στη λιανική αγορά κρέατος σε ποσοστό 10% - 40%. Εντούτοις, αυτή η μέθοδος συσκευασίας δεν υιοθετήθηκε τόσο γρήγορα στις Η.Π.Α. Η απαίτηση για τη συσκευασία του κρέατος στις Η.Π.Α. κατευθύνεται από επιχειρήσεις συσκευασίας κρέατος και όχι από τους λιανοπωλητές. Επιπλέον, η διανομή δεν είναι τόσο γρήγορη και ελεγχόμενη όπως στην Ευρώπη και οι αποστάσεις παραγωγού-πωλητή είναι μεγαλύτερες (Zagory D., 1997, Joseph Kerry et. al., 2002).



### 3.5.2.1 Αέρια που χρησιμοποιούνται στα κρέατα

Τα πιο συνήθη χρησιμοποιούμενα αέρια στη συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας του κρέατος είναι το CO<sub>2</sub>, το N<sub>2</sub> και O<sub>2</sub>, παρόλο που και άλλα αέρια (CO, Ar, O<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>, NO κτλ.) έχουν δοκιμαστεί σε κάποιο βαθμό. Η Ευρωπαϊκή Ένωση κατατάσσει τα αέρια αυτά ως πρόσθετες ουσίες και έχει δώσει σε κάθε ένα έναν αντίστοιχο αριθμό E. Επίσης σύμφωνα με τη νομοθεσία της ΕΕ, τα τρόφιμα που συσκευάζονται σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες πρέπει να έχουν την ένδειξη «συσκευασία σε προστατευτική ατμόσφαιρα». Τα αέρια που χρησιμοποιούνται για τη συσκευασία του κρέατος χρησιμοποιούνται κυρίως σε μίγματα και σπάνια μόνα τους (Sorheim O.et. al., 2000, Joseph Kerry et. al., 2002).

#### Οξυγόνο

Μία από τις σημαντικότερες λειτουργίες του οξυγόνου είναι να διατηρεί την κόκκινη χρωστική ουσία του κρέατος, τη μυοσφαιρίνη στη μορφή της οξυμυοσφαιρίνης, η οποία είναι υπεύθυνη για το φωτεινό κόκκινο χρώμα που συνδέεται με τη φρεσκάδα του κρέατος. Τα επίπεδα της μερικής πίεσης του οξυγόνου άνω των 240mmHg θεωρείται ότι επεκτείνουν την εμφάνιση των κρεάτων. Η αφαίρεση του οξυγόνου είναι ιδιαίτερα σημαντική για τα τρόφιμα που συσκευάζονται σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η υποβάθμιση των κρεάτων προκαλείται από την οξειδωση τμημάτων, ή από τους αερόβιους μικροοργανισμούς. Και οι δύο αυτές δράσεις επιταχύνονται παρουσία οξυγόνου. Το επίπεδο του οξυγόνου στα προϊόντα κρέατος σε συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας είναι επομένως ένας σημαντικός παράγοντας που πρέπει να εξετάζεται. Διάφοροι παράγοντες, όπως η διαπερατότητα του υλικού συσκευασίας και η ανεπαρκής σφράγιση του πακέτου μπορεί να οδηγήσουν σε διαρροή του αερίου και σε αλλαγή της σύστασης της αέρας ατμόσφαιρας εντός της συσκευασίας. Η μέτρηση του οξυγόνου στα πακέτα και η γνώση της διαπερατότητας των υλικών συσκευασίας μπορεί να παρέχει μία καλύτερη πρόβλεψη στην εφαρμογή αυτών των υλικών ως μέσων για τη συντήρηση των τροφίμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Hood D.E. et. al., 1993, Joseph Kerry et. al., 2002).

## Διοξείδιο του άνθρακα

Το διοξείδιο του άνθρακα είναι ένας γνωστός ανασταλτικός παράγοντας της μικροβιακής αύξησης, συμπεριλαμβανομένων των μικροοργανισμών του κρέατος, με τις συντηρητικές ιδιότητές του να είναι γνωστές ήδη από το 1882 .

Τα Gram-αρνητικά βακτήρια στο κατεψυγμένο κρέας είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στο CO<sub>2</sub>, ενώ τα οξυγαλακτικά βακτήρια επηρεάζονται λιγότερο. Αυτές οι ιδιότητες του CO<sub>2</sub> έχουν αποδοθεί στην αλλαγή των βακτηριακών κυττάρων, στις αλλαγές του pH και στην ενζυμική παρεμπόδιση. Όσον αφορά τη μικροβιακή ανάπτυξη φαίνεται να υπάρχει μία αύξηση στο χρόνο της λανθάνουσας φάσης. Παράγοντες όπως το αρχικό μικροβιακό φορτίο, ο χρόνος της εφαρμογής, η θερμοκρασία αποθήκευσης και η σύσταση του αερίου έχουν επιπτώσεις στο επιθυμητό τελικό αποτέλεσμα (Joseph Kerry et. al., 2002).

Τα επίπεδα του CO<sub>2</sub> που φαίνεται πως προκαλούν τη μεγαλύτερη μικροβιακή παρεμπόδιση είναι της τάξης των 200mmHg (ή 26% CO<sub>2</sub> σε ατμοσφαιρική πίεση (Gill και Tan, 1980). Έχει ακόμη παρατηρηθεί ότι η ανασταλτική δράση του CO<sub>2</sub> αυξάνεται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Αυτό οφείλεται πιθανώς στο γεγονός ότι η διαλυτότητα των αερίων είναι πολύ υψηλότερη στις χαμηλές θερμοκρασίες, με συνέπεια η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> στο τρόφιμο να αυξάνεται καθώς τη θερμοκρασία μειώνεται. Ένα σύστημα συσκευασίας που χρησιμοποιεί ατμόσφαιρα διοξειδίου του άνθρακα είναι σε εμπορική χρήση για κατεψυγμένα “κόκκινα” κρέατα που μεταφέρονται σε μακρινές αγορές. Η πρώτη χρήση συσκευασιών με τροποποιημένη ατμόσφαιρα που περιέχουν υψηλά επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα ως συντηρητικό του κρέατος ήταν στη μεταφορά σφαγίων βοδινού κρέατος από την Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία στη Μεγάλη Βρετανία στη δεκαετία του 1930.

Το διοξείδιο του άνθρακα αντιδρά με το νερό και σχηματίζει ανθρακικό οξύ, το οποίο μπορεί να διαλυθεί στο φρέσκο κρέας και επίσης στα λιπαρά. Καθώς το αέριο διαλύεται στο νερό του φρέσκου κρέατος, η ποσότητα του αερίου μέσα στη συσκευασία ελαύνεται και παράγεται ένα μερικό κενό. Αυτό μπορεί να επιφέρει την κατάρρευση του πακέτου. Επίσης, έχουν αναφερθεί σχισμές

στο βοδινό κρέας που αποθηκεύτηκε σε 100% CO<sub>2</sub>, οι οποίες αποδόθηκαν στο απορροφημένο διοξείδιο του άνθρακα από το κρέας κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος. Υπάρχουν απόψεις ότι οι αυξανόμενες πιέσεις του CO<sub>2</sub> έχουν μία αρνητική επίπτωση στη δυνατότητα του κρέατος να κατακρατεί το νερό, ενώ έχει ακόμα αναφερθεί ότι ποσοστά CO<sub>2</sub> μεγαλύτερα από 30% στο “κόκκινο” κρέας επιταχύνουν τον αποχρωματισμό των προϊόντων (Hood D.E. et. al., 1993, Joseph Kerry et. al., 2002).

Στα περισσότερα προϊόντα κρέατος που συντηρούνται σε συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας χρησιμοποιείται μίγμα αερίων που αποτελείται από 70% N<sub>2</sub> και 30% CO<sub>2</sub>. Για τα μαγειρεμένα κρέατα ο βασικός κίνδυνος προέρχεται από τη διάλυση του CO<sub>2</sub> στο νερό των τροφίμων. Υπερβολική ποσότητα CO<sub>2</sub> οδηγεί σε αλλαγές στο άρωμα. Κατά την αποθήκευση πρέπει επομένως να υπάρχει σύστημα παρακολούθησης της σύστασης του αερίου. Όσον αφορά τα προμαγειρευμένα προϊόντα, αυτά αποθηκεύονται σε συσκευασίες με υψηλότερα ποσοστά CO<sub>2</sub> (μέχρι και 50%) και ανθεκτικότερα υλικά (Sorheim O.et. al., 2000, Joseph Kerry et. al., 2002).

### Άζωτο

Το άζωτο είναι ένα αδρανές, άχρωμο και άοσμο αέριο που αφθονεί στη φύση και είναι διαθέσιμο σε σχετικά χαμηλό κόστος. Έχει χαμηλή διαλυτότητα σε νερό και λιπαρά. Στις συσκευασίες υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα το άζωτο χρησιμοποιείται για να αντικαταστήσει το οξυγόνο, ώστε να παρεμποδιστούν η αερόβια μικροβιακή ανάπτυξη και η ενζυμική οξείδωση. Ένας άλλος ρόλος του αζώτου είναι να δράσει ως πληρωτικό αέριο, ώστε να αποτραπεί η κατάρρευση της συσκευασίας (Zagory D., 1997, Joseph Kerry et. al., 2002).

### Μονοξείδιο του άνθρακα

Η θετική επίδραση του μονοξειδίου του άνθρακα (CO) στο χρώμα του κρέατος ήταν γνωστή και κατοχυρωμένη πάνω από 100 χρόνια πριν, αλλά μέχρι σήμερα το CO έχει εφαρμοστεί σε περιορισμένη έκταση στις συσκευασίες MAP του κρέατος. Η βιομηχανία κρέατος έχει χρησιμοποιήσει μίγμα αερίου 60%-70% CO<sub>2</sub>, 30%-40% N<sub>2</sub> και 0,3%-0,4% CO για τη

συσκευασία βοδινού, χοιρινού αρνίσιου κρέατος. Η παρουσία 0,4%-1,0% CO στις συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας του κρέατος φαίνεται επαρκής για να παραγάγει ένα σταθερό κόκκινο χρώμα. Ωστόσο, το ανεπιθύμητο ροζ χρώμα, που προκύπτει μερικές φορές στο μαγειρευμένο λευκό κρέας, μπορεί να οφείλεται σε έκθεση στο CO. Έχει επίσης αναφερθεί ότι η ερυθρότητα στα μαγειρευμένα τρόφιμα βοδινού κρέατος επηρεάζεται από το CO. Κρέατα που περιέχουν καρβοξυμυοσφαιρίνη μαγειρεύτηκαν σε θερμοκρασία άνω των 80°C, έχοντας ακόμη τα ίχνη του ροζ χρώματος και της άψητης εμφάνιση (Joseph Kerry et. al., 2002).

Επειδή το μονοξείδιο του άνθρακα είναι ένα τοξικό αέριο για τον άνθρωπο η χρήση του στις συσκευασίες τροφίμων δεν έχει επιτραπεί στις περισσότερες χώρες σε Αμερική και Ευρώπη. Πολύ λίγες πληροφορίες υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με την έκθεση στο μονοξείδιο του άνθρακα μετά την κατανάλωση του κρέατος που έχει συντηρηθεί με αυτό, αλλά θεωρείται ιδιαίτερα απίθανο ότι η έκθεση σε μονοξείδιο του άνθρακα από τις συσκευασίες του κρέατος σε μία ατμόσφαιρα που περιέχει μέχρι 0,5% CO θα οδηγήσει σε σχηματισμό καρβοξυαιμοσφαιρίνης (COHb) και θα αποτελέσει απειλή τοξικότητας για τους καταναλωτές (Sorheim O.et. al., 2000).

Η ασφάλεια των εργαζομένων που έρχονται σε επαφή με το μονοξείδιο του άνθρακα σε μονάδες συσκευασίας κρέατος αποτελεί έναν ακόμη παράγοντα ανησυχίας. Εάν χρησιμοποιούνται αέρια σε μεγάλα ποσοστά, αυτά μπορούν να γίνουν ιδιαίτερα επικίνδυνα. Η πρακτική της βιομηχανίας κρέατος είναι να χρησιμοποιεί μονοξείδιο του άνθρακα ως μίγμα 1% CO και 99% N<sub>2</sub> ή 0,3% CO, 70% CO<sub>2</sub> και 30% N<sub>2</sub>. (Joseph Kerry et. al., 2002).

Σε σχετική έρευνα φάνηκε ότι σε μία συσκευασία υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα με 50% CO<sub>2</sub>, και 0,5%-0,75% CO παρουσία οξυγόνου (24%), η διάρκεια ζωής του προϊόντος επεκτάθηκε για 5-10 ημέρες, σε σχέση με την ατμόσφαιρα με 70% O<sub>2</sub>, 20%CO<sub>2</sub> και 10%N<sub>2</sub>. Η παρουσία μονοξειδίου και διοξειδίου του άνθρακα επεκτείνει τη διάρκεια ζωής καθώς επιβραδύνει τη μικροβιακή ανάπτυξη, καθυστερεί το σχηματισμό της μεταμυοσφαιρίνης, σταθεροποιεί το κόκκινο χρώμα και επιβραδύνει τις αντιδράσεις οξειδωσης. Ορισμένοι ερευνητές προτείνουν να έρχεται σε επαφή το βοδινό κρέας με 5%

CO για 24 h πριν συσκευαστεί, ώστε το τελικό προϊόν να έχει αυξημένη σταθερότητα στο χρώμα. Θεωρείται ότι το χρώμα των μαγειρευμένων προϊόντων κρέατος μπορεί επίσης να ωφεληθεί από την έκθεση σε ατμόσφαιρα σε μονοξείδιο του άνθρακα. Ο λόγος για τη βελτίωση του χρώματος στα προϊόντα αυτά είναι άγνωστος, αλλά το μονοξείδιο του άνθρακα μπορεί να δεσμευτεί στα εναπομείναντα μόρια μυοσφαιρίνης (Zagory D., 1997, Joseph Kerry et. al., 2002).

#### Διοξείδιο του θείου

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

#### Αργό

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

### **3.5.3 Εξοπλισμός για συσκευασία MAP**

Αρκετές μηχανές είναι διαθέσιμες για τη συσκευασία των τροφίμων σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, χρησιμοποιώντας κυρίως μίγματα μεταξύ 60%-80% O<sub>2</sub> και 40%-20% CO<sub>2</sub> τα οποία παρατείνουν τη διάρκεια ζωής του φρέσκου κρέατος για μία περίπου εβδομάδα. Η πιο κοινή από αυτές είναι η μηχανή που παράγει μία μεμβράνη πλαστικού, εισάγει το μίγμα του αερίου στη συσκευασία και τη σφραγίζει με μία δεύτερη μεμβράνη από την άλλη πλευρά. Η χρήση της τεχνολογίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας για τη μαζική συσκευασία τροφίμων αναπτύχθηκε στα μέσα της δεκαετίας του 1970.

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιεί προσχηματισμένες συσκευασίες από εύκαμπτα υλικά. Ο αέρας που περιβάλλει το προϊόν μέσα στη συσκευασία αφαιρείται και αντικαθίσταται με ένα συγκεκριμένο μίγμα αερίων (Joseph Kerry et. al., 2002).

Τα τροποποιημένα μίγματα αερίων που χρησιμοποιούνται για τη μαζική παραγωγή συσκευασιών αερίων, καθώς επίσης και οι απαιτήσεις της συσκευασίας, διαφέρουν πολύ από τα αντίστοιχα των λιανικών πακέτων. Το οξυγόνο δεν χρησιμοποιείται κανονικά σε συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας, καθώς η επέκταση της διάρκειας ζωής των περισσότερων προϊόντων βασίζεται στην απουσία του (Joseph Kerry et. al., 2002).

### **3.5.3.1 Υλικά συσκευασίας για προϊόντα κρέατος**

Οι πλαστικές ταινίες (φύλλα) είναι τα υλικά που επιλέγονται για την πλειοψηφία των προϊόντων κρέατος. Οι βασικές ιδιότητες μίας πλαστικής ταινίας εξαρτώνται από τα μονομερή από τα οποία αποτελείται. Πολυμερή που αποτελούνται από μονομερή με άνθρακα και υδρογόνο (π.χ. πολυαιθυλένιο, πολυπροπυλένιο κτλ.) είναι καλά προστατευτικά από την υγρασία, αλλά σχετικά διαπερατά από αέρια. Η παρουσία του χλωρίου στη μονάδα των μονομερών μειώνει κατά πολύ τη διαπερατότητα των αερίων, αλλά μπορεί να καταστήσει την ταινία εύθραυστη. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να λυθεί με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων από άλλα μονομερή, όπως οι ακετάλες, που αλλάζουν την κανονική δομή του πολυμερούς και το καθιστούν πιο εύκαμπτο. Άλλες ενώσεις μπορούν επίσης να προστεθούν στα πολυμερή για να βελτιώσουν τις ιδιότητές τους για το χειρισμό τους στις συσκευαστικές μηχανές. Η μέθοδος με την οποία η ταινία παράγεται επίσης έχει επιπτώσεις στις ιδιότητές της. Οι περισσότερες ταινίες για τις συσκευασίες κρέατος είναι θερμοπλαστικές και εξωθούνται σε τηγμένη κατάσταση. Μπορούν επίσης να επιμηκυνθούν και να σχηματίσουν λεπτότερες μεμβράνες πριν ψυχθούν, κάτι που μπορεί να επηρεάσει τη δυνατότητά τους να συσσωρευτούν σε πιθανή επαναθέρμανση (Sorheim O.et. al., 2000, Joseph Kerry et. al., 2002).

### **3.6 Αντιμικροβιακή Συσκευασία στη βιομηχανία κρέατος - Ενεργός Συσκευασία**

Η ενεργός συσκευασία είναι μία καινοτομία στη συσκευασία των τροφίμων και είναι η απάντηση στις συνεχείς απαιτήσεις της καταναλωτικής αγοράς. Ορίζεται ως ένας τύπος συσκευασίας που αλλάζει την έννοια της συσκευασίας, ώστε να επιμηκύνει το χρόνο ζωής ή να βελτιώσει την ασφάλεια και την ποιότητα του τροφίμου. Η ενεργός συσκευασία παρέχει πολλές λειτουργίες που δεν υπάρχουν στα συμβατικά συστήματα συσκευασίας, όπως προσρόφηση του οξυγόνου, της υγρασίας ή του αιθυλενίου, απελευθέρωση της αιθανόλης και των αρωματικών ουσιών και αντιμικροβιακή δραστηριότητα (Quintavalla S. et. al., 2002).

Η μικροβιακή αλλοίωση μειώνει το χρόνο ζωής των τροφίμων και αυξάνει τον κίνδυνο τροφικών δηλητηριάσεων. Οι παραδοσιακές μέθοδοι συντήρησης των τροφίμων είναι η θερμική επεξεργασία, η ξήρανση, η ψύξη, η κατάψυξη, η ακτινοβολία, η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και η προσθήκη αντιμικροβιακών συστατικών, όπως το αλάτι. Δυστυχώς, κάποιες από αυτές τις τεχνικές δε μπορούν να εφαρμοστούν στα προϊόντα, όπως στο φρέσκο κρέας και στα έτοιμα-μαγειρεμένα προϊόντα. Η αντιμικροβιακή συσκευασία είναι μία μορφή της ενεργού συσκευασίας, κυρίως στα προϊόντα κρέατος. Επειδή η μικροβιακή επιμόλυνση των προϊόντων αυτών γίνεται κυρίως στην επιφάνεια, προσπάθειες έχουν γίνει για να ενισχύσουν την ασφάλεια και να καθυστερήσουν την αλλοίωση με τη χρήση αντιμικροβιακών σπρέι. Όμως η απευθείας εφαρμογή των αντιμικροβιακών συστατικών στην επιφάνεια του κρέατος ελαχιστοποιεί τη δράση τους εξαιτίας της αδρανοποίησης τους λόγω της άμεσης επαφής ή της διάχυσής τους στο εσωτερικό του τροφίμου. Έτσι, η χρήση των αντιμικροβιακών μεμβρανών μπορεί να είναι αποτελεσματική με την αργή διασπορά των συστατικών από το υλικό της συσκευασίας στην επιφάνεια του τροφίμου. Τα αντιμικροβιακά συστατικά ενσωματωμένα στα υλικά συσκευασίας μπορούν να ελέγξουν τη μικροβιακή μόλυνση, μειώνοντας το ρυθμό ανάπτυξης του πληθυσμού και επεκτείνοντας τη λανθάνουσα φάση των μικροοργανισμών (Quintavalla S. et. al., 2002, Zhou G. et.al., 2010).

Ένα σύστημα συσκευασίας/τροφίμου είναι ένα στερεό τρόφιμο που έρχεται σε επαφή με το υλικό συσκευασίας, για παράδειγμα τα έτοιμα/μαγειρεμένα

προϊόντα κρέατος. Τα κύρια φαινόμενα μεταφορά μάζας είναι η διάχυση μεταξύ των υλικών συσκευασίας και του τροφίμου. Γι' αυτό το λόγο η αντιμικροβιακή συσκευασία χρησιμοποιεί απενεργοποιημένα αντιβιοτικά ή ενεργές ομάδες όπως αμινομάδες, που βοηθούν στη μείωση της μικροβιακής ανάπτυξης.

Η επιλογή της αντιμικροβιακής ουσίας περιορίζεται λόγω της μη συμβατότητας του συστατικού με το υλικό συσκευασίας. Για παράδειγμα, 1% σορβικό κάλιο σε μεμβράνη χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλενίου ( LDPE) σχηματίζουν ένα ικανό μίγμα που εμποδίζει την ανάπτυξη των μυκήτων. Επιπλέον, το pH των τροφίμων επηρεάζει τον ιονισμό των περισσότερων ενεργών χημικών και μεταβάλλει την αντιμικροβιακή δράση των οργανικών οξέων. Η ενεργότητα νερού επηρεάζει, επίσης, την αντιμικροβιακή δραστηριότητα και τη χημική σταθερότητα των ενσωματωμένων ενεργών συστατικών. Η θερμοκρασία αποθήκευσης του τροφίμου επιταχύνει τη διάχυση των ενεργών συστατικών στο τρόφιμο, όσο πιο υψηλή είναι, ωστόσο η ψύξη μειώνει το ρυθμό (Zhou G. et.al., 2010).

Υπάρχουν δύο τύποι αντιμικροβιακών συσκευασιών, ο πρώτος περιλαμβάνει την πρόσδεση του ενεργού συστατικού στην επιφάνεια της συσκευασίας και αυτό απαιτεί μεγάλη μοριακή δομή ώστε να διατηρήσει τη δράση του ως μικροβιακό τείχος στο τρόφιμο. Τα ενεργά συστατικά αυτού του τύπου είναι συνήθως ένζυμα ή αντιμικροβιακές πρωτεΐνες. Ο δεύτερος τύπος περιλαμβάνει την απελευθέρωση του ενεργού συστατικού απευθείας στην επιφάνεια του προϊόντος. Τα μη εδωδιμα συστήματα συσκευασίας μπορεί να περιέχουν οποιοδήποτε τύπο προσθετικής ουσίας στα υλικά συσκευασίας τους, κυρίως όμως είναι χημικά πρόσθετα.

Μεγάλο ενδιαφέρον υπάρχει για τις εδωδιμες μεμβράνες για λόγους περιβαλλοντικούς, ανάπτυξης νέων τεχνικών συσκευασίας και δημιουργίας νέων αγορών για τα υποχρησιμοποιούμενα αγροτικά προϊόντα με πιθανότητα σχηματισμού μεμβράνης. Οι εδωδιμες μεμβράνες σχηματίζονται από πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και λίπη, και έχουν πολλά πλεονεκτήματα, όπως η βιοδιάσπαση, η βρωσιμότητα, η βιοσυμβατότητα και η αισθητική εμφάνισή τους (Quintavalla S. et. al., 2002).



### **3.7 Τάσεις για το μέλλον στη συσκευασία**

Τα πιο πολυχρησιμοποιούμενα εργαλεία για τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων συσκευασίας και αποθήκευσης των προϊόντων, ώστε να παραταθεί η διάρκεια ζωής τους, είναι διάφορα υπολογιστικά λογισμικά και προσομοιωτές. Σε αυτά τα προγράμματα, τα διάφορα μοντέλα μεταβολής της σύνθεσης του αερίου εντός της συσκευασίας πρέπει να συνδυάζονται με τα αντίστοιχα μοντέλα που περιγράφουν τις αλλαγές στις σημαντικότερες ποιοτικές παραμέτρους. Γενικότερα, σε ένα τέτοιο υπολογιστικό πρόγραμμα πρέπει να δοθούν δεδομένα για τη διαπερατότητα του υλικού συσκευασίας, τη θερμοκρασία αποθήκευσης, τη σχετική υγρασία κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, τη σύνθεση των αερίων της συσκευασίας, τις συνθήκες φωτισμού που επικρατούν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και τον όγκο των προϊόντων (Joseph Kerry et. al., 2002).

Χρησιμοποιώντας αυτά τα προγράμματα-προσομοιωτές μπορούν να προβλεφθούν οι χρόνοι για τους οποίους το προϊόν φθάνει σε οριακές ποιοτικές παραμέτρους. Επιπλέον, οι απαιτήσεις για τη διαπερατότητα του υλικού συσκευασίας μπορούν να τεθούν στο πρόγραμμα και να προβλεφθεί η διάρκεια ζωής του προϊόντος, χρησιμοποιώντας κάποιο συγκεκριμένο υλικό συσκευασίας. Τέτοια προγράμματα προσομοίωσης αναπτύχθηκαν από τον Pfeiffer και την ομάδα του (1999), κυρίως με στόχο την πρόβλεψη των ποιοτικών αλλαγών, της μεταβολής της υγρασίας και της οξειδωσης των λιπιδίων σε διάφορα ξηρά προϊόντα. Τα μοντέλα που περιγράφονται παραπάνω είναι προσαρμοσμένα στον καθορισμό των κρίσιμων παραγόντων και των τιμών τους για τη διατήρηση της σταθερότητας του χρώματος των προϊόντων κρέατος (Sorheim O.et. al., 2000, Joseph Kerry et. al., 2002).

### **3.8 Πρόσφατες εξελίξεις της ρομποτικής στη βιομηχανία κρέατος**

Τα αυτόματα ρομπότ είναι σε χρήση για πολλά έτη σε πολλές βιομηχανίες. Εντούτοις, οι βιομηχανίες του κρέατος είναι επιφυλακτικές στο να εισαγάγουν τυποποιημένα βιομηχανικά ρομπότ για τους παρακάτω λόγους: (Purnell G., 1998)

- Το σκληρό περιβάλλον εργασίας στη βιομηχανία κρέατος για τα ρομπότ.
- Η ταχύτητα, η αξιοπιστία και το κόστος των ρομπότ.
- Η πολυπλοκότητα των διαδικασιών που περιλαμβάνουν βιολογικά υλικά.

Τα σύγχρονα τυποποιημένα πολυαξονικά ρομπότ που χρησιμοποιούνται, σε συνδυασμό με προηγμένες ψηφιακές τηλεοπτικές κάμερες μεγάλης ταχύτητας, έχουν αποτελέσει τη βάση για την ανάπτυξη αυτόματων μηχανημάτων για τη βιομηχανία κρέατος. Αυτές οι τεχνικές έχουν επιταχύνει τη διαδικασία παραγωγής και έχουν βοηθήσει στην εύρεση λύσεων που δεν ήταν δυνατές πριν από μερικά χρόνια. Πολλά από τα μηχανήματα αυτά αποτελούνται από ανοξείδωτο χάλυβα που είναι ανθεκτικός στα σκληρά υλικά καθαρισμού και το διαβρωτικό περιβάλλον που υπάρχει στα σφαγεία (Purnell, 1998). Τα ρομπότ που εκτελούν συγκεκριμένες τομές στα σφάγια χοίρων καθοδηγούνται από οπτικές κάμερες. Τα παραδοσιακά βιομηχανικά ρομπότ

χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο κατά τη διάρκεια της συσκευασίας στις βιομηχανίες τροφίμων, καθώς τα προϊόντα σε αυτό το στάδιο έχουν μία καθορισμένη μορφή και είναι εύκολο να χειριστούν (Aymerich T. et. al., 2007)



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Διασφάλιση ποιότητας-ασφάλειας κρέατος και προϊόντων**

### **4. Εισαγωγή**

Ποιότητα είναι η ικανότητα ενός προϊόντος να ανταποκρίνεται στο σκοπό για τον οποίο προορίζεται. Είναι το σύνολο των ιδιοτήτων και χαρακτηριστικών του προϊόντος, που εξυπηρετούν καθορισμένες ή υπονοούμενες ανάγκες. Τα κυριότερα χαρακτηριστικά της ποιότητας των τροφίμων είναι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, η θρεπτική αξία, η συμφωνία με τη νομοθεσία, η συσκευασία, η ασφάλεια, η τιμή και η διαθεσιμότητα (Τζιά Κ., 2007).

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 ασφαλεία τους (ολική ποιότητα) (Τζιά Κ., 2007).

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.α.) 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. Η ασφάλεια αποτελεί προϋπόθεση για τα τρόφιμα και θεωρείται αδιαπραγμάτευτη. Η ασφάλεια των προϊόντων κρέατος από τη διαδικασία της παραγωγής έως την κατανάλωση πρέπει ιδανικά να είναι

συνεχώς κάτω από την παρακολούθηση από τους αρμόδιους, τους παραγωγούς, τους χειριστές, τους προμηθευτές, καθώς και τους ίδιους τους καταναλωτές. Αν και στις αναπτυγμένες χώρες τα περισσότερα τρόφιμα είναι συνήθως ασφαλή για κατανάλωση μετά από την κατάλληλη προετοιμασία, πολλοί παράγοντες μπορούν να οδηγήσουν σε εκδήλωση τροφικών ασθενειών (Τζιά Κ., 2007).

Η διασφάλιση της ποιότητας στη βιομηχανία των τροφίμων συνεπάγεται για τη βιομηχανία μεν, ότι διαθέτει Σύστημα Διασφάλισης ποιότητας και για τον καταναλωτή δε, εξασφαλίζει αποδεκτά προϊόντα και σύμφωνα με τις προδιαγραφές. Για τη διασφάλιση της ποιότητας στη βιομηχανία έχουν αναπτυχθεί από το Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (ISO) Πρότυπα Διασφάλισης Ποιότητας της σειράς ISO 9000, τα οποία έχουν υιοθετηθεί και από τη βιομηχανία τροφίμων στην οποία το έργο του ελέγχου ποιότητας διεξάγεται από ειδικό τμήμα, το τμήμα Διασφάλισης Ποιότητας. Συγκεκριμένα, συστήματα διαχείρισης ποιότητας, τα οποία είναι αποδεκτά από τις βιομηχανίες τροφίμων είναι το ISO 9001 (Τζιά Κ., 2007).

Στις Η.Π.Α. υπολογίζεται ότι οι ετήσιες περιπτώσεις τροφικών ασθενειών κυμαίνονται από 1,4 εκατομμύρια έως 150 εκατομμύρια περιπτώσεις. Οι ετήσιες εθνικές δαπάνες υπολογίστηκαν από 2,9 έως 6,7 δισεκατομμύρια δολάρια για τις τροφικές ασθένειες που προκλήθηκαν από *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* *Salmonella* και *Staphylococcus aureus* (1993). Πιο πρόσφατες εκτιμήσεις (16 Σεπτεμβρίου 1999) από το CDC ήταν 325.000 σοβαρές ασθένειες, με συνέπεια την εισαγωγή σε νοσοκομείο, 76 εκατομμύρια περιπτώσεις γαστρεντερικών ασθενειών, και 5.000 θάνατοι ανά έτος στις Ηνωμένες Πολιτείες (Y.H. Hui et. al., 2001).

Η πιο χαρακτηριστική περίπτωση τροφολοίμωξης από προϊόντα που σχετίζονταν με το κρέας ήταν οι λοιμώξεις που προκάλεσε το *Escherichia coli* O157:H7 σε ατελώς μαγειρεμένα χάμπουργκερ από μία αλυσίδα fast food στις αρχές του 1993 που οδήγησε σε 501 συμπτώματα, 151 εισαγωγές σε νοσοκομείο και 4 θανάτους. Αυτή η περίπτωση άλλαξε κυριολεκτικά τη συνείδηση των Αμερικανών καταναλωτών για ζητήματα ασφάλειας των

τροφίμων και οδήγησε άμεσα σε αλλαγές στην κυβερνητική πολιτική που βελτίωσαν την ασφάλεια των τροφίμων σε όλους τους τομείς της βιομηχανίας τροφίμων (Υ.Η. Hui et. al., 2001).

#### **4.1 Ανάλυση επικινδυνότητας στα κρίσιμα σημεία ελέγχου (HACCP)**

Ένα σύστημα ασφάλειας υγιεινής και πρότυπο ασφάλειας με γενική αποδοχή, που επίσης εστιάζει και στις φάσεις της προκατεργασίας των προϊόντων είναι 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 Κ., 2007).

##### **4.1.1 Αρχές HACCP**

Για να εφαρμοστεί ένα σύστημα HACCP επιτυχώς σε μία βιομηχανία τροφίμων, όλες οι αρχές πρέπει να εφαρμοστούν προσεκτικά για κάθε επιμέρους διεργασία. Επειδή η ομάδα HACCP έχει την ευθύνη να αναπτύξει ένα επιτυχές σύστημα HACCP, ένα από τα πρώτα βήματα περιλαμβάνει την προσεκτική επιλογή της ομάδας ή των ατόμων που θα την απαρτίζουν. Είναι σημαντικό να εξασφαλιστεί ότι το προσωπικό της ομάδας έχει την απαραίτητη κατάρτιση. Οι βασικές γνώσεις που απαιτούνται από τα μέλη της ομάδας είναι (Τζιά Κ., 2007):

- η επικινδυνότητα των παθογόνων μικροοργανισμών και των τοξινών τους,
- η κατανόηση των αρχών του HACCP,

- η ικανότητα κατασκευής διαγράμματος ροής της παραγωγικής διαδικασίας,
- η ικανότητα αναγνώρισης των CCPs στο διάγραμμα ροής,
- η ικανότητα προσδιορισμού των προληπτικών μέτρων για την αποφυγή της μόλυνσης, την καταστροφή των μικροοργανισμών ή την αναστολή της ανάπτυξής τους,
- η ικανότητα να προτείνουν λύσεις για την πορεία των τροφίμων που παραβιάζουν τα κρίσιμα όρια στα CCPs.

Το HACCP προσεγγίζει την ασφάλεια των τροφίμων εστιάζοντας στους πιθανούς κινδύνους και στα κρίσιμα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας (CCPs). Όταν μία αποτυχία εμφανίζεται, οι διαδικασίες ελέγχου HACCP πρέπει να προειδοποιήσουν το χειριστή και οι προγραμματισμένες διαδικασίες διορθωτικής δράσης πρέπει να εφαρμοστούν, ώστε να εξαλείψουν τους κινδύνους στο τελικό προϊόν (Τζιά Κ., 2007).

#### **4.1.2 Πρότυπα για την υγιεινή και την ασφάλεια τροφίμων**

Οι γενικοί κανόνες για την υγιεινή των τροφίμων στην Ευρωπαϊκή Ένωση συνοψίζονται στον κανονισμό 852/2004, όπου και υπάρχουν γενικοί κανόνες για τον έλεγχο της υγιεινής κατά τα στάδια της επεξεργασίας του κρέατος σε βιομηχανικό επίπεδο. Η υγιεινή των τροφίμων ορίζεται ως «τα απαραίτητα μέτρα που απαιτούνται για τη διασφάλιση της ασφάλειας και της υγιεινής των τροφίμων». Τα κράτη μέλη ωστόσο μπορούν να θεσπίζουν εθνικούς κανόνες για την υγιεινή των τροφίμων πιο συγκεκριμένους, υπό τον όρο ότι αυτοί δεν είναι ελαστικότεροι, και ότι δεν αποτελούν εμπόδιο στο εμπόριο των παραγόμενων τροφίμων που παράγονται σύμφωνα με τη νομοθεσία. Το σύστημα HACCP έχει γίνει πλέον υποχρεωτικό, όμως σε αρκετούς τομείς της παραγωγής είναι ακόμη περιορισμένο (π.χ. στον αγροτικό τομέα υπάρχουν ποικίλες πηγές μικροβιολογικών μολύνσεων όπως το πρόβλημα της σαλμονέλας στα κοτόπουλα).

Όσον αφορά την ασφάλεια των πρώτων υλών πρωτογενούς παραγωγής, αυτή εξασφαλίζεται με την τήρηση των Ορθών Πρακτικών των Γεωργικών και της Μεταχείρισης των Ζώων (Good Agricultural Practices – GAPs, Good Animal Affair – GAA). Κατ' αυτό τον τρόπο και μέσω του HACCP επιδιώκεται να επιτευχθεί η διατήρηση της ασφάλειας σε όλα τα στάδια της παραγωγής των τροφίμων. Αξίζει σε αυτό το σημείο να σημειωθεί ότι η εφαρμογή του HACCP απαιτεί όλα τα υποστηρικτικά μέτρα υγιεινής που εξασφαλίζονται με τα Προγράμματα Υγιεινής (Prerequisites Programs - PRPs).

Η ποιότητα του κρέατος είναι θεμελιώδης έννοια στις διεργασίες παραγωγής προϊόντων κρέατος. Γίνεται κατανοητό ότι η παραγωγή του κρέατος πρέπει να σχετίζεται με την παραγωγή ενός προϊόντος που οι καταναλωτές βρίσκουν οπτικά αποδεκτό, το οποίο θα αγοράσουν συνεχώς και είναι αποδεκτό για κατανάλωση. Η έννοια της ποιότητας του κρέατος περιλαμβάνει την οπτική εμφάνιση και την ποιότητα της γεύσης. Και οι δύο αυτές ποιοτικές παράμετροι μπορούν να επηρεαστούν από προθανάτιους και μεταθανάτιους παράγοντες (Davies A. et. al,1998).

## **4.2 Προκλήσεις για την ασφάλεια του κρέατος**

### **4.2.1 Αντιμικροβιακές παρεμβάσεις στον αγρό**

Τα προγράμματα μείωσης της παθογένειας του αγρού συνεισφέρουν στον έλεγχο της ασφάλειας των τροφίμων γιατί μειώνεται η πιθανότητα παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών και μειώνεται και η περιβαλλοντική μόλυνση. Ο μικροβιολογικός έλεγχος των ζώων πριν τη σφαγή είναι δύσκολος να εφαρμοστεί εξαιτίας των περιορισμένων επιστημονικών πληροφοριών, της ύπαρξης πολλών και σύνθετων παραγόντων και του γεγονότος ότι το ζώο μπορεί να μεταφέρει σημαντικά βακτήρια, όπως το E.coli O157:H7 έως και βακτήρια με μικρή σημαντικότητα παθογένειας. Ο έλεγχος των ζώων πριν τη σφαγή περιλαμβάνει συγκεκριμένη διατροφή, χρήση πρόσθετων/συμπληρωμάτων τροφής, αντιβιοτικά, προβιοτικά αλλά και καθαρό αγρό, χλωριωμένο νερό και καθαρές μετακινήσεις (Sofos J.,2008).



#### **4.2.2 Αντιμικροβιακές παρεμβάσεις στο σφαγείο**

Η αναφορά για τροφικές δηλητηριάσεις που προκλήθηκαν από παθογενή βακτήρια, όπως το βακτήριο *E.coli* O157:H7 και το *L.monocytogenes*, έχει αυξήσει το ενδιαφέρον για την ασφάλεια του κρέατος. Οι προσπάθειες της βιομηχανίας κρέατος για τον έλεγχο της μόλυνσης του κρέατος στο σφαγείο, περιλαμβάνει τον καθαρισμό του ζώου και των εξαρτημάτων του σφαγείου, καλό πλύσιμο του κρέατος του νεκρού ζώου είτε με ατμό είτε με θερμική ή χημική επεξεργασία.

#### **4.2.3 Αντιμικροβιακές παρεμβάσεις στα προϊόντα κρέατος**

Οι φυσικές παρεμβάσεις περιλαμβάνουν χαμηλή και υψηλή θερμοκρασία, μη θερμικές διεργασίες, όπως ακτινοβολίες και υπερυψηλή πίεση και συσκευασία, όπως τροποποιημένη ατμόσφαιρα, ενεργός συσκευασία. Οι φυσικοχημικές παρεμβάσεις περιλαμβάνουν οξύτητα ή χαμηλό pH, μείωση της ενεργότητας νερού ή ξήρανση, τροποποίηση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού μέσω της συσκευασίας και εφαρμογή αντιμικροβιακών πρόσθετων. Οι βιολογικές παρεμβάσεις περιλαμβάνουν μικροβιακούς ανταγωνιστές, όπως οξυγαλακτικά βακτήρια, ή τα αντιμικροβιακά τους παράγωγα, όπως η νισίνη (Sofos J.,2008).

#### **4.3 Καταναλωτικές ανάγκες και προσδοκίες**

Οι δραστηριότητες που σχετίζονται με τον έλεγχο παθογένειας μπορεί να περιπλέκονται εξαιτίας των διαφορετικών αναγκών των καταναλωτών και των προσδοκιών τους για τη διατροφή τους. Έτσι κρίνεται επιτακτική η ανάγκη για την ανάπτυξη μεθοδολογιών εντοπισμού μικροοργανισμών στα τρόφιμα, την επιτήρηση για αποφυγή τροφικών δηλητηριάσεων και την εφαρμογή του συστήματος HACCP, καθώς και την εκπαίδευση, σχετικά με την ασφάλεια τροφίμων των καταναλωτών.

Όσο ο πληθυσμός αυξάνεται και το επίπεδο ζωής βελτιώνεται, τόσο η κατανάλωση του κρέατος αυξάνεται. Παρόλο που η κατανάλωση του κρέατος στις ανεπτυγμένες χώρες έχει φτάσει σε επίπεδα κορεσμού, οι καταναλωτές εκφράζουν την προτίμησή τους για τρόφιμα χωρίς συντηρητικά ή χημικά πρόσθετα, ασφαλή και οικονομικά. Γενικά, οι οικονομικά ανεπτυγμένες κοινωνίες έχουν υποστεί πολλές αλλαγές στο πληθυσμό και στις διατροφικές προτιμήσεις των πολιτών. Οι κίνδυνοι της ασφάλειας των τροφίμων γίνονται όλο και μεγαλύτεροι και η μικροβιολογική μόλυνση των καταναλωτών είναι πιο έντονη. Οι καταναλωτές τρώνε περισσότερα γεύματα έξω από το σπίτι, ο αριθμός των παραγγελιών των έτοιμων γευμάτων έχει αυξηθεί και τα προμαγειρευμένα γεύματα, σαλάτες και άλλα τρόφιμα χρησιμοποιούνται κατά κόρον. Οι καταναλωτές, επιπλέον, επιλέγουν τρόφιμα με χαμηλά λιπαρά, αλάτι και άλλα συντηρητικά, με καλύτερη ποιότητα και μεγαλύτερο χρόνο ζωής (Sofos J.,2008).

Οι κανονισμοί για την ασφάλεια τροφίμων πρέπει να βασίζονται στους κινδύνους, που έχουν καθοριστεί. Η έννοια της ανάλυσης κινδύνου χρειάζεται περαιτέρω ανάπτυξη που θα επιτρέψει την συνεργασία και την εναρμόνιση μεταξύ των προμηθευτών και των καταναλωτών σε διεθνές επίπεδο. Έτσι κρίνεται αναγκαίο να γίνει καθορισμός των μικροβιολογικών κινδύνων, ώστε να ταυτοποιούνται οι παράγοντες κινδύνου (Sofos J.,2008).



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Φυσικά αντιμικροβιακά και εδώδιμες μεμβράνες**

### **5.1 Εισαγωγή**

Η ισχυρή καταναλωτική ζήτηση για ασφαλή και υψηλής ποιότητας τρόφιμα ανέπτυξε την πρόκληση της αντικατάστασης των χημικών συντηρητικών και των τεχνητών αντιμικροβιακών με φυσικά αντιμικροβιακά συστατικά. Τα φυσικά αντιμικροβιακά μειώνουν την ανάγκη για αντιβιοτικά, ελέγχουν τη μικροβιακή αλλοίωση και βελτιώνουν τη διάρκεια ζωής των τροφίμων.

Τα αντιμικροβιακά χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα για δύο κύριους λόγους, αρχικά για να ελέγχουν τις φυσικές διεργασίες αλλοίωσης ( συντήρηση τροφίμου) και δεύτερον εμποδίζουν/ελέγχουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, περιλαμβανομένων των παθογόνων μικροοργανισμών. Τα φυσικά αντιμικροβιακά προέρχονται από ζώα, φυτά και μικροοργανισμούς.

Πέρα από την επίδρασή τους στο άρωμα, κάποια καρυκεύματα και βότανα έχουν αντιμικροβιακή δράση. Η ενσωμάτωση των ουσιών αυτών στα υλικά συσκευασίας αναπτύσσεται τα τελευταία χρόνια. Τα αιθέρια έλαια που παράγονται από τα αντιμικροβιακά φυτά έχουν αντιμικροβιακή δράση ενάντια των βακτηρίων *L.monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli O157:H7*, *Bacillus cereus* και *Staphylococcus aureus* (Tajkarimi M. et. al., 2010).

### **5.2 Ιστορική αναδρομή των φυσικών αντιμικροβιακών**

Οι φυσικοί αντιμικροβιακοί παράγοντες, που προέρχονται από πηγές, όπως φυτά, έχουν αναγνωρισθεί και χρησιμοποιούνται για αιώνες στη συντήρηση των τροφίμων. Τα αιθέρια έλαια και τα καρυκεύματα χρησιμοποιούνταν από τους Αιγύπτιους και από τους Ασιάτες. Κάποια καρυκεύματα, όπως το σκόρδο, το τζίντζερ, η κανέλλα και η μέντα αποτελούσαν εναλλακτικές φαρμακευτικές ουσίες στην Ινδία. Τα φυσικά εκχυλίσματα, πέρα από το άρωμα, μπορούν να δράσουν ενάντια των gram-θετικών βακτηρίων και να

ενισχύσουν την σταθερότητα του τροφίμου κατά την αποθήκευσή του, εξαιτίας των ενεργών συστατικών που περιέχουν, όπως φαινόλες, αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες και αιθέρες. Επίσης, χρησιμοποιούνται για να συντηρήσουν το κρέας, τις σάλτσες και τα σιρόπια. Το 1910, τα καρυκεύματα ,όπως η δάφνη, η ρίγανη, το θυμάρι , το δενδρολίβανο, ο κορίανδρος και το πιπέρι, επιβεβαιώθηκαν να έχουν αντιβακτηριακή δράση (Tajkarimi M. et. al., 2010).

### **5.3 Ρόλος των πρόσθετων ουσιών στα τρόφιμα**

Οι πρόσθετες ουσίες των τροφίμων μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τις λειτουργίες που εξυπηρετούν σε συντηρητικά, βελτιωτικά της θρεπτικής αξίας, προσθετικά του χρώματος, προσθετικά της γεύσης, βελτιωτικά της υφής, βοηθητικές ουσίες διεργασιών κ.α. Παρά την ολοένα και αυξανόμενη απαίτηση για νέες προσθετικές ουσίες τροφίμων, η ασφάλειά τους σχετικά με τις δυνητικές τοξικές επιπτώσεις τους στην υγεία των καταναλωτών συνεχίζει να εξετάζεται και να αξιολογείται συνεχώς. Λίγες είναι οι νέες προσθετικές ουσίες που έχουν εγκριθεί από τους διάφορους ρυθμιστικούς οργανισμούς τα τελευταία χρόνια, και δεν φαίνεται να είναι πιθανόν να εγκριθούν πολλές ακόμη στο μέλλον (Davidson M. et. al., 2005).

Παρόλο που οι οποιοδήποτε κίνδυνοι από μία πρόσθετη ουσία πρέπει να είναι πάντα σε ελάχιστα επίπεδα, είναι προφανές ότι οι κίνδυνοι αυτοί πρέπει να υπολογίζονται σε αντιδιαστολή με τα οφέλη της χρήσης της ουσίας αυτής στα τρόφιμα. Για παράδειγμα, η μείωση του αριθμού των περιστατικών τροφικής δηλητηρίασης ή η μείωση της απώλειας των τροφίμων, λόγω αυξημένης μικροβιακής παρουσίας σε αυτά, είναι μερικά από τα οφέλη που παρέχονται από τις αντιμικροβιακές πρόσθετες ουσίες. Η εξισορρόπηση των κινδύνων έναντι των οφελών της χρήσης των πρόσθετων ουσιών δεν είναι εύκολη και απαιτεί εκτενή έρευνα για τη χρησιμότητα και την τοξικολογική ασφάλεια των πρόσθετων ουσιών. Σε πολύ λίγες περιπτώσεις οι προσθετικές ουσίες είναι πλήρως απαλλαγμένες από τέτοιους κινδύνους, κατά συνέπεια απαιτείται η αξιολόγηση του αποδεκτού βαθμού του κινδύνου. Η ευθύνη για την αντιστάθμιση οφελών και κινδύνων για οποιαδήποτε προσθετική ουσία

αναλαμβάνεται από τους επιστήμονες, τους νομοθέτες, το ρυθμιστικό προσωπικό, τους επεξεργαστές τροφίμων και τους ίδιους τους καταναλωτές. Είναι ουσιαστικό όλοι οι παραπάνω που περιλαμβάνονται στη διαδικασία της τελικής απόφασης να γνωρίζουν καλά τους κινδύνους και τα οφέλη όλων των πρόσθετων ουσιών (Davidson M. et. al., 2005, Roller S., 2003).

#### **5.4 Ορισμός και δράση χημικών προσθέτων**

Η χρήση χημικών ουσιών που παρεμποδίζουν ή αναστέλλουν τη μικροβιακή δραστηριότητα είναι μία από τις παλαιότερες και παραδοσιακές τεχνικές συντήρησης τροφίμων. Οι αντιμικροβιακές ουσίες είναι χημικές ενώσεις που προστίθενται, ή προϋπάρχουν στα τρόφιμα, και καθυστερούν τη μικροβιακή ανάπτυξη, ή προκαλούν μικροβιακό θάνατο. Ήδη από το 8000π.Χ. οι άνθρωποι συντηρούσαν το κρέας και τα ψάρια με κάπνισμα, ξήρανση και αλάτισμα. Κατά τη διάρκεια του 6000 π.Χ. έως το 1000 π.Χ., το διοξείδιο θείου (από την καύση του θείου) χρησιμοποιήθηκε για να αποστειρώσει τον εξοπλισμό της ζύμωσης και της αποθήκευσης στην παραγωγή του κρασιού στην Αίγυπτο (Davidson M. et. al., 2005).

Ορισμένα χημικά συντηρητικά τροφίμων, όπως το αλάτι, τα νιτρώδη άλατα και τα θειώδη άλατα, χρησιμοποιούνταν για πολλά χρόνια, ενώ άλλα έχουν αποκτήσει εκτενή χρήση μόλις πρόσφατα. Ένας από τους λόγους για την αυξανόμενη χρήση των χημικών συντηρητικών στα τρόφιμα είναι η αλλαγή στον τρόπο παρασκευής και διακίνησής τους. Σήμερα, οι καταναλωτές απαιτούν τα τρόφιμα να είναι εύκολα διαθέσιμα καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου, χωρίς παθογόνα τροφίμων ή άλλους κινδύνους και να έχουν μία εύλογη διάρκεια ζωής. Αν και έχουν γίνει σημαντικές βελτιώσεις στον τομέα της συσκευασίας και της επεξεργασίας των τροφίμων για τη συντήρηση απουσία χημικών προσθετικών ουσιών, τα αντιμικροβιακά συντηρητικά εξακολουθούν να διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην προστασία των τροφίμων (Davidson M. et. al., 2005).

Οι αντιμικροβιακές ουσίες στα τρόφιμα είναι γνωστές ως συντηρητικά. Τα χημικά συντηρητικά χρησιμοποιούνται για να εμποδίσουν ή να

καθυστερήσουν τη χημική ή βιολογική αλλοίωση των τροφίμων και περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικά, τα οποία εμποδίζουν την οξείδωση των λιπαρών, των βιταμινών και των αρωμάτων, ουσίες που εμποδίζουν το ενζυμικό και μη μαύρισμα και ουσίες που εμποδίζουν αλλαγές στην υφή του προϊόντος (Davidson M. et. al., 2005).

### **5.5 Φυσικά απαντώμενα συστατικά – Φυτικές πηγές**

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες διαφόρων φυτών που χρησιμοποιούνται σήμερα ως καρυκεύματα στα τρόφιμα και τα ποτά έχουν αναγνωριστεί εδώ και αιώνες. Πρώτοι οι Αιγύπτιοι χρησιμοποίησαν εκχυλίσματα φυτών (μπαχαρικά και έλαια) ως αντιμικροβιακά για τη συντήρηση των τροφίμων, καθώς επίσης και για τη βαλσάμωση. Αν και οι αρχαίοι πολιτισμοί αναγνώρισαν την αντισηπτική ή την αντιμικροβιακή δυνατότητα πολλών φυτικών εκχυλισμάτων, μόλις το 18ο αιώνα οι επιστημονικές πληροφορίες καθιέρωσαν τα αντιμικροβιακά αποτελέσματα των ουσιών αυτών από διάφορα φυτά.

Τα φυσικά αντιμικροβιακά περιλαμβάνουν ουσίες που εντοπίζονται στα φυτά, στα μικρόβια, στα έντομα και στα ζώα. Οι φυσικές αντιμικροβιακές ενώσεις αφθονούν στο περιβάλλον. Μερικές από αυτές χρησιμοποιούνται ήδη για τη συντήρηση τροφίμων, ενώ πολλές άλλες μελετώνται για να χρησιμοποιηθούν στα τρόφιμα (Davidson M. et. al., 2005, Roller S., 2003).

### **5.6 Πηγές φυσικών αντιμικροβιακών από φυτά**

Τα φυτά, τα βότανα, και τα μπαχαρικά, καθώς επίσης και τα παραγόμενα από αυτά εκχυλίσματα, έλαια και ενώσεις, περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό ουσιών που είναι γνωστές για την παρεμποδιστική δράση τους στις διάφορες μεταβολικές δραστηριότητες των βακτηρίων και των μυκήτων, αν και πολλές από αυτές τις ουσίες αξιοποιούνται ακόμα ημιτελώς.

Οι Wilkins και Board (1989) αναφέρουν περισσότερα από 1340 γνωστά φυτά με πιθανές πηγές αντιμικροβιακών ουσιών, ενώ οι Nychas (1995) & Beuchat (1994) αναφέρουν περίπου 60 τέτοιες ουσίες. Αυτές οι αντιμικροβιακές ουσίες ενδέχεται να είναι θανατηφόρες για τα μικροβιακά κύτταρα ή μπορεί να παρεμποδίζει την παραγωγή μεταβολιτών, όπως μυκοτοξίνες (Roller S., 2003, Davidson M. et. al., 2005).

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται ορισμένα από τα φυτά αυτά με τους αντίστοιχους αντιμικροβιακούς παράγοντες: (Davidson M. et. al., 2005).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1 Φυτά και οι σημαντικότερες αντιμικροβιακές ενώσεις τους.

Φυτά	Σημαντικότερα συστατικά
Ινδοπέπερι ( <i>Pimenta dioica</i> )	Eugenol, methyl ether cineol
Βασιλικός ( <i>Ocimum basilicum</i> )	d-linalool, methyl chavicol, eugenol, cineol, geraniol
Μαύρο πιπέρι ( <i>Piper nigrum</i> )	Monoterpenes, sesquiterpenes
Δάφνη ( <i>Laurus nobilis</i> )	Cineol, l-linalool, eugenol, geraniol
Κάρων κυμινοειδές ( <i>Carum carvi</i> )	Carvone, limonene
Σέλινο ( <i>Apium graveolens</i> )	d-limonene
Κανέλλα ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> )	Cinnamic aldehyde, l-linalool, p-cymene, eugenol
Γαρίφαλο ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	Eugenol, cariofilene
Κοριανδρός ( <i>Coriandum sativum</i> )	d-linalool, d- $\alpha$ -pinene, $\beta$ -pinene
Κύμινο ( <i>Cuminum cyminum</i> )	Cuminaldehyde, p-cymene
Μάραθο ( <i>Foeniculum vulgare</i> )	Anethole
Σκόρδο ( <i>Allium sativum</i> )	Diallyl disulfide, diethyl sulfide, diallyl trisulfide, allicin

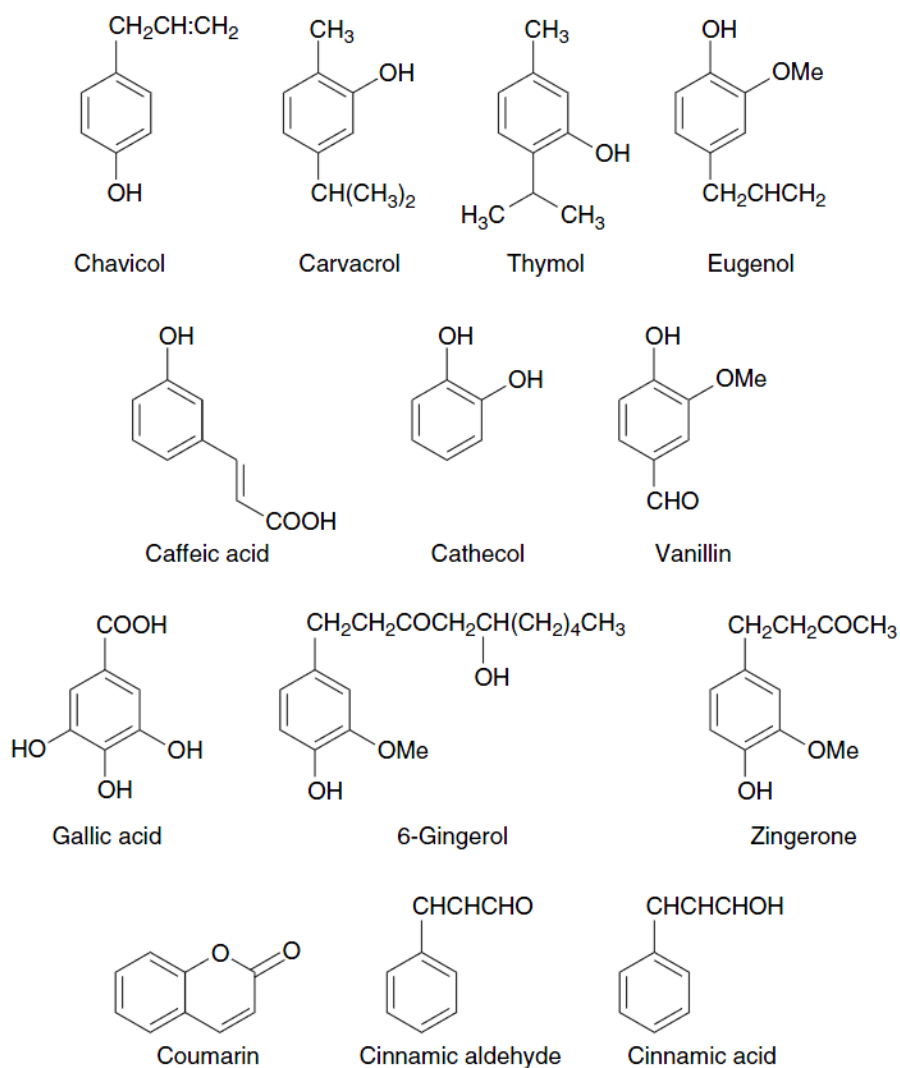


Λεμόνι ( <i>Cymbopogon citratus</i> )	Citral, geraniol
Μαντζουράνα ( <i>Origanum majorana</i> )	Linalool, cineol, methyl chavicol, eugenol, terpinineol
Μουστάρδα ( <i>Brassica hirta</i> )	Allyl-isothiocyanate
Κρεμμύδι ( <i>Allium cepa</i> )	d-n-propyl disulfide, methyl-n-propyl disulfide
Ρίγανη ( <i>Origanum vulgare</i> )	Thymol, carvacrol, α-pinene, p-cymene
Μαϊντανός ( <i>Petroselinum crispum</i> )	α-pinene, fenol-eter-apiol
Δενδρολίβανο ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	Borneol, cineol, camphor, α-pinene, bornyl acetate
Φασκόμηλο ( <i>Salvia officinalis</i> )	Thujone, cineol, borneol, thymol, eugenol
Τραχούρι ( <i>Artemisia dracunculus</i> )	Methyl chavicol, anethole
Θυμάρι ( <i>Thymus vulgaris</i> )	Thymol, carvacrol, l-linalool, geraniol, pcymene
Βανίλια ( <i>Vanilla planifolia</i> )	Vanillin, vanillic, p-hydroxybenzoic, pcoumaric acids

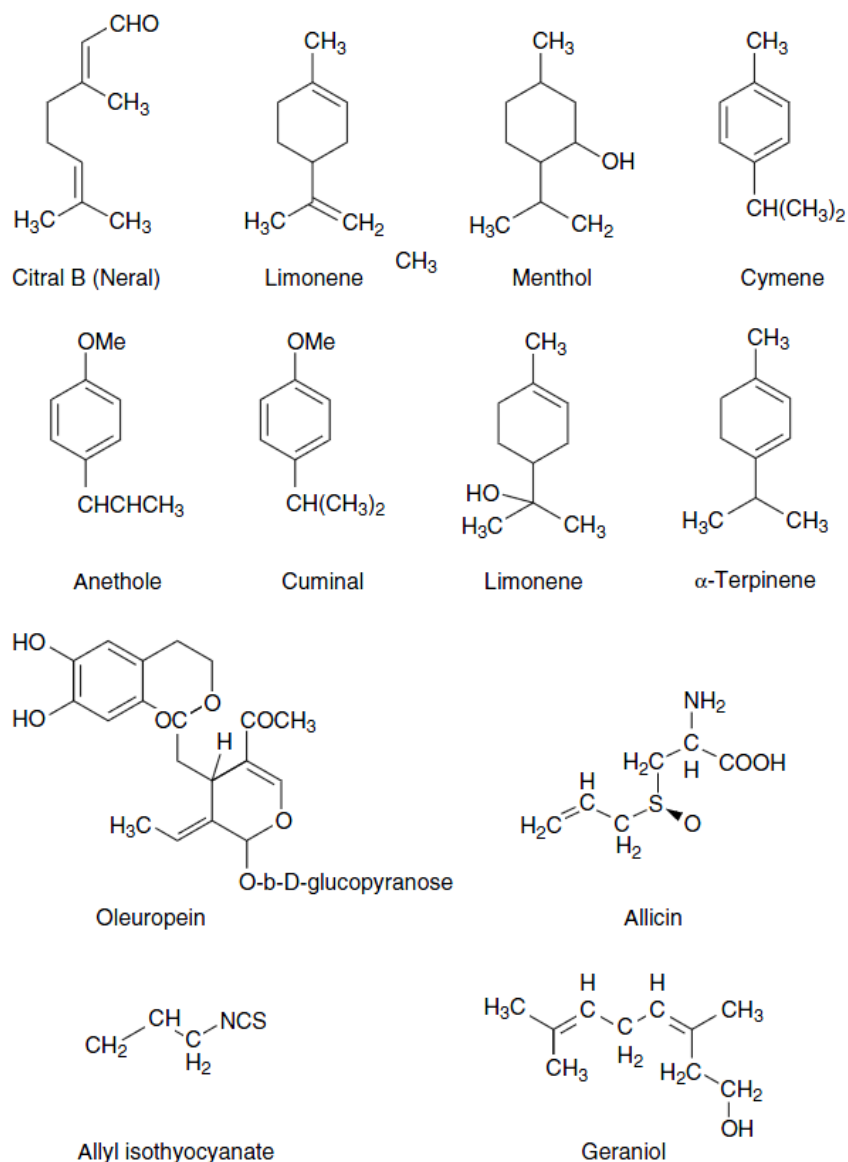
Source: Adapted from López-Malo et al., 2000; Davidson and Naidu, 2000; Shelef, 1983; Farrell, 1990.

Πολλά συστατικά με αντιμικροβιακή δράση που βρίσκονται στα φυτά, τα βότανα και τα μπαχαρικά είναι φαινολικές ενώσεις, τερπένια, αλειφατικές αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, οξέα και ισο-φλαβονοειδή. Ως κανόνας αναφέρεται ότι η αντιμικροβιακή δραστηριότητα των εκχυλισμάτων και των ελαίων εξαρτάται από τη χημική δομή των συστατικών τους και από τη συγκέντρωσή τους. Ο Shelef (1983) ανέφερε ότι απλά και σύνθετα παράγωγα της φαινόλης είναι οι κύριες αντιμικροβιακές ενώσεις που βρίσκονται στα έλαια και τα εκχυλίσματα από τα μπαχαρικά. Οι Katayama και Nagai (1960) αναγνώρισαν την ευγενόλη, την καρβακρόλη, τη θυμόλη, και τη βανιλίνη ως ενεργές αντιμικροβιακές ενώσεις από τα εκχυλίσματα και τα έλαια των φυτών.

Οι φαινολικές ενώσεις και οι αλειφατικές αλκοόλες εμποδίζουν την ανάπτυξη των μυκήτων (Davidson M. et. al., 2005).



Σχήμα 5.1: Αντιμικροβιακές ενώσεις που εντοπίζονται σε φυτά και μπαχαρικά.



Σχήμα 5.2: Αντιμικροβιακές ενώσεις που εντοπίζονται σε φυτά και μπαχαρικά.

Τα αιθέρια έλαια λαμβάνονται από τα φυτά κυρίως με απόσταξη ή εκχύλιση. Η αντιμικροβιακή δράση των ελαίων αυτών εξαρτάται από τη μέθοδο παραλαβής τους αλλά και από την αρχική ποιότητα του ελαίου στο φυτό. Μεταξύ του ίδιου είδους φυτών, τα συστατικά τους ενδέχεται να διαφέρουν. Ακόμα και ο διαφορετικός τρόπος καλλιέργειας τους μπορεί να επιδράσει τη σύνθεση του εκχυλισμένου ελαίου. Η αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου του λεμονόχορτου ποικίλει ανάλογα με την εποχή συγκομιδής του. Από

το Μάιο έως το Σεπτέμβριο παρουσιάζει 100% μικροβιακή αντίσταση, ενώ το έλαιο που συλλέγεται από το Φεβρουάριο ως τον Απρίλιο έχει μόνο 73%-80% αποτελεσματικότητα έναντι των μικροβίων (Davidson M. et. al., 2005).

Υπάρχουν πολλές δημοσιεύσεις για την αντιμικροβιακή δραστηριότητα των εκχυλισμάτων και των ελαίων από φυτά στην επιστημονική λογοτεχνία σχετικά με τα τρόφιμα. Εντούτοις, είναι δύσκολο να γίνουν ποσοτικές συγκρίσεις των αποτελεσμάτων τους, τουλάχιστον μερικώς, λόγω της μεγάλης ποικιλίας των μεθόδων που χρησιμοποιούνται, για να αξιολογήσουν την αντιμικροβιακή δραστηριότητα (Davidson M. et. al., 2005).

## 5.7 Φυσικά φαινορικά συστατικά

Τα παράγωγα της φαινόλης αποτελούνται από μόρια φαινολών με έναν ή περισσότερους υποκατάστατες. Αυτή η δομική αλλαγή της φαινόλης μπορεί να αυξήσει την αντιμικροβιακή της δραστηριότητα. Ιστορικά, οι φαινολικές ενώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί ως αντιμικροβιακοί παράγοντες από την εποχή της χρήσης της φαινόλης ως αντισηπτικού το 1867 (Davidson M. et. al., 2005).

Οι φαινολικές ενώσεις υπάρχουν από τη φύση τους στα φυτικά προϊόντα και μερικές φορές σε σημαντικές ποσότητες. Λίγες από τις φυσικές φαινόλες είναι τοξικές και μόνο μερικές έχουν αναφερθεί ως αιτία αλλεργικών αντιδράσεων στα ζώα. Σε σπάνιες περιπτώσεις, όπου οι φαινολικές ενώσεις είναι επιβλαβείς για τον άνθρωπο, η αλόγιστη κατανάλωση φαινολών φυτικής προέλευσης ή η κατανάλωση ακατάλληλων για τη διατροφή φαινολών έχει προσδιοριστεί ως πιθανή αιτία των ασθενειών αυτών (Davidson M. et. al., 2005, Roller S., 2003).

Η αντιμικροβιακή δράση των φαινολικών ενώσεων έχει επιβεβαιωθεί ενάντια σε αρκετά βακτήρια και μάλιστα διαπιστώθηκε ότι τα Gram θετικά βακτήρια είναι πιο ευαίσθητα σ' αυτές τις ενώσεις. Οι φαινολικές ενώσεις δρουν ανασταλτικά έναντι πολλών βακτηρίων συμπεριλαμβανομένων των *Salmonella* Senftenberg, *S. Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*,

*Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas fluorescens* (Davidson M. et. al., 2005).

Η ρίγανη, το θυμάρι και η θύμβρα έχουν σημαντική αντιμικροβιακή δραστηριότητα. Τα τερπένια καρβακρόλη, p-κυμένιο, και θυμόλη είναι τα σημαντικότερα πτητικά συστατικά των φυτών αυτών, και πιθανότατα ευθύνονται για την αντιμικροβιακή δραστηριότητα των φυτών αυτών. Τα αιθέρια έλαια της ρίγανης περιέχουν 50% θυμόλη, του θυμαριού 36% θυμόλη και 43% p-κυμένιο και της θύμβρας 30% - 45% καρβακρόλη και 30% p-κυμένιο. Πειράματα έχουν δείξει ότι η ανάπτυξη των μικροοργανισμών *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morganii* και *Escherichia coli* παρεμποδίστηκε από καρβακρόλη και θυμόλη σε διαλύματα 1:2000 (Davidson M. et. al., 2005).

Η ευγενόλη είναι ένα από τα αποτελεσματικότερα φυσικά αντιμικροβιακά φυτικής προέλευσης με σποροκτόνη δράση. Χαρακτηριστικό είναι ότι πληθυσμοί από σπόρια *Bacillus subtilis* παρουσίασαν σημαντική μείωση σε έκθεση ευγενόλης από 0,1% έως 1,0% στους 37 °C για 8 ημέρες. Επίσης, η γκινγκερόνη, η ζινγκερόνη και η καψαϊκίνη έχουν και αυτές σποροκτόνη δράση στο *Bacillus subtilis*. Οι Buchanan και Shepherd (1981) βρήκαν ότι 100ppm θυμόλη παρεμποδίζουν την ανάπτυξη του *Aspergillus parasiticus* στους 28°C για 7 ημέρες, ενώ υπάρχουν αναφορές ότι η κινναμική αλδεΐδη σε χαμηλές συγκεντρώσεις παρεμποδίζει την ανάπτυξη του *Aspergillus flavus* στους 28 °C για 8 ημέρες (Davidson M. et. al., 2005).

Όσον αφορά τη σχέση μεταξύ δομής και αντιμικροβιακής δράσης, οι Katayama και Nagai (1960) εξέτασαν 32 διαφορετικές φαινολικές ενώσεις και βρήκαν ότι οι: ευγενόλη, καρβακρόλη, ισοβορνεόλη, θυμόλη, βανιλίνη και σαλικυλαδεΐδη σε συγκέντρωση 0,05% στο άγαρ δρούσαν παρεμποδιστικά στην ανάπτυξη του *Bacillus subtilis*, της *Salmonella enteritidis*, της *Pseudomonas aeruginosa*, του *Proteus morganii* και του *Escherichia coli*, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η παρουσία του υδροξυλίου ενισχύει την αντιμικροβιακή δράση. Επίσης πειράματα κατέδειξαν ότι η παρουσία της βανιλίνης επιδρά στην ανάπτυξη των μυκήτων τύπου *Aspergillus*, ανάλογα

με τη συγκέντρωσή της και το είδος του μύκητα. Χαρακτηριστικό είναι ότι παρουσία 1000 ppm βανιλίνης η ανάπτυξη του *Aspergillus ochraceus* παρεμποδίστηκε για πάνω από 2 μήνες στους 25 °C, ενώ για την ίδια παρεμπόδιση στον *Aspergillus niger* χρειάστηκαν 1500 ppm (Davidson M. et. al., 2005, Naidu S.A., 2000).

Ο Marth (1966) επανεξέτασε μελέτες που έδειχναν αντιμικροβιακή δράση ορισμένων ελαίων και εκχυλισμάτων από διάφορα φυτά, όπως τη γλυκιά μαντζουράνα, τον κορίανδρο, τη δάφνη, το γλυκάνισο, τη μέντα, το κύμινο, το κάρδαμο, το μάραθο, το σέλινο, τον άνηθο και τη μουστάρδα. Τα αποτελέσματά του δείχνουν ότι πολλά από αυτά φαίνεται να είναι ενεργά ενάντια σε μία μόνο συγκεκριμένη μικροβιακή επιμόλυνση. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιούνται σε αυτές τις μελέτες είναι πολύ υψηλές, δείχνοντας έτσι σχετικά περιορισμένη δραστηριότητα. Επίσης, διάφορα άλλα είδη, συμπεριλαμβανομένου του δεντρολίβανου, του φασκόμηλου και της κουρκούμης, βρέθηκαν ότι κατέχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες (Davidson M. et. al., 2005).

Τα δεδομένα για τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των εκχυλισμάτων και των ελαίων είναι περισσότερα. Παρόλο που τα έλαια περιέχουν ποικίλες ενώσεις διαφορετικών χημικών κατηγοριών, τα φυσικά φαινορικά παράγωγα φαίνεται να είναι οι κύριες αντιμικροβιακές ενώσεις. Ακόμη, σε μελέτες διάφορων ελαίων από φυτά και μπαχαρικά ενάντια σε διάφορες ζύμες, βρέθηκε ότι η κάθε ζύμη αντιδρούσε με διαφορετικό τρόπο, δείχνοντας ότι τα εκχυλίσματα μπορούν να παρουσιάσουν διαφορετικούς τρόπους δράσης ή ότι υπάρχουν διαφορετικές αποκρίσεις της ζύμης στη δράση των ελαίων (Davidson M. et. al., 2005, Naidu S.A., 2000).

Για παράδειγμα, το *Rhodotorula rubra* φάνηκε ιδιαίτερα ευαίσθητο στα έλαια της κανέλλας, του γαρίφαλου, του σκόρδου, του κρεμμυδιού, της ρίγανης και του θυμαριού σε συγκεντρώσεις μεταξύ 25ppm και 200ppm. Για τις ίδιες συγκεντρώσεις το *Kloeckera apiculata* έδωσε πιο μέτρια αποτελέσματα, ενώ το *Torulopsis glabrata* ήταν ιδιαίτερα ανθεκτικό σε όλα τα έλαια, εκτός του κρεμμυδιού και του σκόρδου. Πειράματα αξιολόγησης της μυκητοκτόνου δράσης των ελαίων της ρίγανης και του γαρίφαλου ενάντια σε τρία είδη του

*Aspergillus* έδειξαν ότι οι τα είδη διέφεραν στο βαθμό της ευαισθησίας τους στα εκχυλίσματα, με το *Aspergillus flavus* να εμφανίζει τη μεγαλύτερη ευαισθησία στα αιθέρια έλαια της ρίγανης (Davidson M. et. al., 2005, Naidu S.A., 2000).

Ο Zaika (1983) παρατήρησε παρεμπόδιση στην ανάπτυξη των *Lactobacillus plantarum* και *Pediococcus acidilactici* παρουσία 40ppm ελαίου ρίγανης, ενώ ποσότητες άνω των 200ppm αποδείχθηκαν βακτηριοκτόνες και για τα δύο είδη. Επίσης, παρατήρησαν ότι βακτήρια που εκτέθηκαν σε μη θανατηφόρες ποσότητες ελαίου της ρίγανης μπόρεσαν να ξεπεράσουν την παρεμπόδιση και να αναπτύξουν ανθεκτικότητα στην τοξική επίδραση της ρίγανης και του ελαίου της. Τα αιθέρια έλαια του θυμαριού και της ρίγανης είναι ανασταλτικά για το *Vibrio parahaemolyticus* και το *Staphylococcus aureus*, τα έλαια του φασκόμηλου στα *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* και *Salmonella typhimurium*, και τα εκχυλίσματα δεντρολίβανου παρεμποδίζουν την αύξηση του *Salmonella typhimurium* και του *Staphylococcus aureus* (Davidson M. et. al., 2005, Naidu S.A., 2000).

Ο Resnik (1996) ανέλυσε την επίδραση της συγκέντρωσης της βανιλίνης στο ρυθμό ανάπτυξης και στη συσσώρευση αφλατοξίνης του *Aspergillus parasiticus*. Ο ρυθμός ανάπτυξης μειώθηκε απότομα παρουσία 250ppm βανιλίνης, ενώ 1500 ppm βανιλίνης εμπόδισαν την ανάπτυξη στους 28°C για τουλάχιστον 37 ημέρες. Ωστόσο, τα 500ppm βανιλίνης ενίσχυσαν την αφλατοξίνη B1 (AFB1) και τη συσσώρευση της αφλατοξίνης G1 (AFG1) σε επίπεδα που υπερβαίνουν εκείνα του ελέγχου (Davidson M. et. al., 2005).

## 5.8 Μηχανισμοί δράσης

Οι παραπάνω αναφορές δείχνουν ότι μερικά εκχυλίσματα φυτών έχουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών επιδράσεων, ενώ άλλα μπορεί να δρουν συγκεκριμένα προς ορισμένες ομάδες μικροοργανισμών, όπως τα Gram-θετικά ή Gram-αρνητικά βακτήρια, ή μόνο τα βακτήρια και όχι τους μύκητες. Μερικά έλαια από εκχυλίσματα φυτών επηρεάζουν συγκεκριμένες βιοχημικές και μεταβολικές λειτουργίες, όπως η αναπνοή ή η παραγωγή τοξινών και

οξέων, καταδεικνύοντας ότι τα ενεργά συστατικά που περιέχονται στα διάφορα έλαια μπορούν να έχουν διαφορετική δράση όσον αφορά τις περιοχές-στόχους στα μικροβιακά κύτταρα. Οι διάφορες έρευνες πάνω στις αντιμικροβιακές ιδιότητες των φυτών έχουν επικεντρωθεί στη συμβολή των τερπενίων. Εντούτοις, λίγες από αυτές έχουν προχωρήσει τόσο πολύ, ώστε να προσπαθήσουν να απομονώσουν και να προσδιορίσουν το αντιμικροβιακό μέρος των εκχυλισμάτων, και ακόμη λιγότερες παραθέτουν θέματα σχετικά με το μηχανισμό δράσης τους. Φαίνεται πάντως λογικό ότι, επειδή πολλά από τα συστατικά των εκχυλισμάτων και των ελαίων είναι δομικά παρόμοια με τα ενεργά φαινορικά αντιμικροβιακά, οι τρόποι δράσης τους να αναμένονται παρόμοιοι (Davidson M. et. al., 2005).

Η αντιμικροβιακή επίδραση των φαινολικών ενώσεων εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις οι φαινολικές ενώσεις επηρεάζουν τη δραστηριότητα των ενζύμων, ειδικά εκείνων που συνδέονται με την ενεργειακή παραγωγή. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οι φαινόλες προκάλεσαν μέχρι και αλλοιώσεις πρωτεϊνών. Η επίδραση των φαινολικών ουσιών στη μικροβιακή ανάπτυξη και στην παραγωγή τοξινών πιθανότατα οφείλεται στην ικανότητα των ουσιών αυτών να μεταβάλλουν τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης, οδηγώντας σε απώλεια των μακρομορίων στο εσωτερικό. Μπορούν επίσης να αλληλεπιδράσουν με τις πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης, προκαλώντας παραμόρφωση στη δομή και τη λειτουργία της (Davidson M. et. al., 2005).

Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα των εκχυλισμάτων και των ελαίων εναντίον των μυκήτων θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα της διαταραχής διαφόρων ενζυμικών συστημάτων που περιλαμβάνονται στην παραγωγή ενέργειας και σύνθεση δομικών συστατικών. Μόλις η φαινολική ένωση διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη, οι αλληλεπιδράσεις με τα ένζυμα και τις πρωτεΐνες της προκαλούν μία αντίθετη ροή πρωτονίων, επηρεάζοντας τη δραστηριότητά της (Davidson M. et. al., 2005).

Τα καρκεύματα και τα βότανα χρησιμοποιούνται σε εύρος από 0,05-0,1% στα συστήματα τροφίμων. Κάποια φυσικά συστατικά έχουν ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση σε σχέση με τα υπόλοιπα και μπορεί να είναι



αποτελεσματικά σε συγκέντρωση των 1000ppm. Παρόλα αυτά, μερικά φυσικά αντιμικροβιακά απαιτούν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Τα φυσικά αντιμικροβιακά συστατικά επιδρούν κυρίως στο στρώμα φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης των παθογόνων μικροοργανισμών.

Η καρβακρόλη εμποδίζει τη σύνθεση της πρωτεΐνης φλαγγελίνης στο βακτήριο *E.coli* O157:H7. Υπάρχουν αναφορές ότι το άρωμα και η γεύση της ρίγανης ενισχύεται, όταν εφαρμόζεται στα τρόφιμα σε επίπεδο 1%. Η δραστηριότητα των φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η μέθοδος εξαγωγής των αιθέριων ελαίων από τα φυτά, η φάση ανάπτυξης των μικροοργανισμών καθώς και από το pH του τροφίμου, τη περιεκτικότητά του σε λίπος, πρωτεΐνες, την ενεργότητα νερού, το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης (Tajkarimi M. et. al., 2010).

## **5.9 Παράγοντες που επηρεάζουν τη δραστηριότητα**

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες των εκχυλισμάτων από διάφορα φυτά που χρησιμοποιούνται ως ενισχυτικοί παράγοντες της γεύσης και του αρώματος στα τρόφιμα έχουν αναγνωρισθεί εδώ και πολλά χρόνια. Εντούτοις, δεν έχουν αναφερθεί πολλά στοιχεία σχετικά με την επίδραση των εκχυλισμάτων και των ελαίων σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες στη μικροβιακή ανάπτυξη. Η χρήση τους ως ολικά ή μερικά υποκατάστατα των συνήθων αντιμικροβιακών συντηρητικών πρέπει να αξιολογηθεί μόνη της, ή/και σε συνδυασμό με παραδοσιακούς παράγοντες-εμπόδια συντήρησης (π.χ. με τη θερμοκρασία αποθήκευσης, το pH, την ενεργότητα του νερού, τη συσκευασία υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα κτλ.). Αυτά τα αποτελέσματα θα μπορούσαν να είναι πολύ χρήσιμα για τους ερευνητές που συμμετέχουν στην παραγωγή προϊόντων με την τεχνολογία των εμποδίων, καθώς θα μπορούν να αξιολογούν γρήγορα τον αντίκτυπο της αλλαγής οποιουδήποτε συνδυασμού των μελετώμενων μεταβλητών (Davidson M. et. al., 2005, Naidu S.A., 2000).

## 5.10 Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση των συστατικών

Η συνεργατικότητα μεταξύ της καρβακρόλης και του ρ-κυμένιου, μπορεί να διευκολύνει τη μεταφορά της καρβακρόλης στο κύτταρο διογκώνοντας έτσι το κυτταρικό τοίχωμα του *B.cereus*. Η αντιμικροβιακή δράση του συνδυασμού των αιθέριων ελαίων της κανέλλας και του σκόρδου, έδειξε καλύτερα αποτελέσματα. Η θυμόλη και η καρβακρόλη σε συνδυασμό με την ευγενόλη έδειξαν συνεργατικά και ανταγωνιστικά αποτελέσματα με διαφορετικούς συνδυασμούς με τα αιθέρια έλαια του κορίανδρου, ευκάλυπτου και άνηθου ενάντια στα βακτήρια *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. και *Enterobacter* sp. Η συσκευασία υπό κενό σε συνδυασμό με το αιθέριο έλαιο της ρίγανης παρουσιάζει συνεργατικό αποτέλεσμα κατά του βακτηρίου *L.monocytogenes*.

Το διαθέσιμο οξυγόνο είναι ένας άλλος παράγοντας ανταγωνιστικότητας για τα αιθέρια έλαια, αφού μειώνοντας τα επίπεδα οξυγόνου, η ευαισθησία των μικροοργανισμών σε αυτά αυξάνεται. Επίσης, η εφαρμογή της νισίνης με της καρβακρόλη ή τη θυμόλη, έχει θετικό αποτέλεσμα κατά του βακτηρίου *Bacillus cereus* και η εφαρμογή της νισίνης με το εκχύλισμα δενδρολίβανου ενισχύει την αντιβακτηριακή δράση της νισίνης. Τέλος, τα αιθέρια έλαια της ρίγανης σε συνδυασμό με συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας έχει θετικά αποτελέσματα στην επιμήκυνση της διάρκειας ζωής του κοτόπουλου και τα αιθέρια έλαια του σκόρδου εμποδίζουν την ανάπτυξη του *Clostridium perfringens* σε συγκέντρωση 0,4% v/w (Tajkarimi M. et. al., 2010).

## 5.11 Εφαρμογές στο κρέας

Έρευνες έχουν δείξει ότι τα παράγωγα των φυτών είναι χρήσιμα στη μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών, που σχετίζονται με το κρέας και τα προϊόντα του. Παρόλα αυτά, κάποιοι ερευνητές αναφέρουν μειωμένη αντιμικροβιακή δράση κατά των παθογόνων μικροοργανισμών στο κρέας. Η υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος των προϊόντων έχει επίδραση στην εφαρμογή των αιθέριων ελαίων, εξαιτίας της διαλυτότητας των λιπιδίων των αιθέριων

ελαίων στο υδατικό περιβάλλον του τροφίμου. Ο συνδυασμός 1% του ελαίου του σκόρδου και της ρίγανης έδειξε καταπολέμηση της ανάπτυξης του *L.monocytogenes*. Επίσης, το εκχύλισμα του κορίανδρου, του σκόρδου, της ρίγανης και του θυμαριού παρουσιάζουν θετικά αποτελέσματα ενάντια στα βακτήρια *L.monocytogenes* και *Aeromonas hydrophilia* στα προϊόντα του κρέατος (Tajkarimi M. et. al., 2010).

Η δράση των αιθέριων ελαίων στα προϊόντα του κρέατος μειώνεται από το υψηλό επίπεδο λιπιδίων. Το εκχύλισμα του δενδρολίβανου έδειξε καλύτερα αποτελέσματα κατά του βακτηρίου *L.monocytogenes* σε λουκάνικο χοιρινού κρέατος. Η δράση του αιθέριου ελαίου της ρίγανης ενάντια στο *Clostridium botulinum* σε συνδιασμό με το νιτρώδες νάτριο σε χαμηλά επίπεδα, ενισχύει τη καθυστέρηση της ανάπτυξης των βακτηρίων περισσότερο από το νιτρώδες νάτριο μόνο του. Επιπρόσθετα, το εκχύλισμα του θρούμπι σε συνδιασμό με άλλες μεθόδους συντήρησης, όπως μείωση της θερμοκρασίας αποθήκευσης, παλμικό φως, υπερυψηλή πίεση, παλμικά ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία, ακτινοβολία και συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της ανάπτυξης των βακτηρίων και ενισχύουν την ποιότητα του τεμαχισμένου χοιρινού.

Ο συνδυασμός των εκχυλισμάτων των φυτών με αντιμικροβιακή δράση με την πρωτεΐνη, νισίνη, ενισχύουν την αντιμικροβιακή δραστηριότητα ενάντια στο *L.monocytogenes*. Επίσης, η ομογενοποίηση του κρέατος με αιθέρια έλαια από ρίγανη και φασκόμηλο μειώνει την οξειδωση, ενώ και η θερμική επεξεργασία και ο χρόνος αποθήκευσης, επιδρούν στην αντιοξειδωτική δραστηριότητα του κρέατος. Το εκχύλισμα από ματζουράνα είναι αποτελεσματικά κατά των βακτηρίων στα λουκάνικα. Τέλος, τα εκχυλίσματα του σκόρδου, του δενδρολίβανου και της γλυκόριζας παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι τεσσάρων τύπων μικροοργανισμών, *L.monocytogenes*, *E.coli*, *Pseudomonas fluorescens* και *Lactobacillus sake* σε κομμάτια ζαμπόν σε συσκευασία υπό κενό στους 4°C (Tajkarimi M. et. al., 2010).

Το κρέας είναι ιδανικό θρεπτικό υλικό για πολλούς παθογόνους μικροοργανισμούς διευκολύνοντας τον πολλαπλασιασμό τους. Το παθογόνο

βακτήριο *L.monocytogenes*, το οποίο είναι ανθεκτικό σε υψηλές θερμοκρασίες, αποτελεί ένα πολύ σημαντικό κίνδυνο για το κρέας και τα προϊόντα του, τα οποία αποθηκεύονται σε θερμοκρασία ψύξης. Γενικά, η μικροβιακή αλλοίωση μπορεί να λάβει χώρα τόσο στα φρέσκα όσο και στα προμαγειρευμένα προϊόντα κρέατος. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα εκχυλίσματα των φυσικών αντιμικροβιακών όπως δενδρολίβανο, σκόρδο, ρίγανη και θυμάρι, είναι πιο δραστικά έναντι των gram-θετικών βακτηρίων, στα οποία ανήκει και το *L.monocytogenes*.

Η ισχυρότερη μικροβιακή δράση επιτυγχάνεται με συνδυασμό αντιμικροβιακών ουσιών. Ο συνδυασμός εκχυλισμάτων κινέζικου σχοινόπρασου και κανέλας σε φρέσκο κομμάτι κρέατος εμπόδισε τη μικροβιακή αλλοίωση του προϊόντος και προσέφερε σταθερότητα στις τιμές του pH, παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής του. Επίσης, το εκχύλισμα δενδρολίβανου ανέστειλε την ανάπτυξη του βακτηρίου *L.monocytogenes* σε φέτες ζαμπόν, προσφέροντας παράλληλα και επιπλέον άρωμα στο προϊόν (Huiyun Z. et. al., 2008, M. Viuda-Martos et. al.,2009).

## 5.12 Συνοψίζοντας για τα φυσικά αντιμικροβιακά

Λαμβάνοντας υπόψη το ενδιαφέρον των καταναλωτών για περισσότερο “φυσικά” τρόφιμα, η δυνατότητα για εφαρμογές σε επεξεργασμένα προϊόντα εμφανίζεται να είναι καλή. Βέβαια, για μία ευρύτερη και πιο ορθολογική χρήση αυτών των φυσικών ενώσεων πρέπει να εξεταστούν μερικά σημεία όπως (Davidson M. et. al., 2005, Roller S., 2003):

- Η μέθοδος παραλαβής του εκχυλίσματος.
- Η απόκριση των σημαντικών μικροοργανισμών σε *in vitro* σύστημα συντήρησης πολλαπλών στόχων και η αξιολόγηση της *in vivo* αποτελεσματικότητας στα τρόφιμα.
- Οι ανασταλτικές ιδιότητες των φυσικών αντιμικροβιακών που χρησιμοποιούνται σε χαμηλή συγκέντρωση (για να μην επηρεαστεί το άρωμα και η γεύση του τροφίμου), μόνων τους ή σε συνδυασμό με άλλα “εμπόδια”. Η

ενσωμάτωση των ενεργών συστατικών και η μελέτη τους σε σχέση με το αντίστοιχο φυσικό αντιμικροβιακό σε υψηλή καθαρότητα.

- Η μορφή στην οποία τα φυτά, μπαχαρικά, εκχυλίσματα, αιθέρια έλαια ή μεμονωμένα συστατικά θα ενσωματωθούν στα τρόφιμα, χωρίς να επηρεάσουν τα οργανοληπτικά και τα θρεπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, την ασφάλεια της κατανάλωσής του και χωρίς να αυξήσουν σημαντικά το κόστος και το χρόνο της παραγωγής των προϊόντων.

## **5.13 Εδώδιμες μεμβράνες**

### **5.13.1 Εισαγωγή**

Τα τελευταία χρόνια, μεγάλο ενδιαφέρον υπάρχει για την εύρεση υλικών με δυνατότητα σχηματισμού μεμβρανών και αντιμικροβιακής δραστηριότητας, που θα ενισχύουν την ασφάλεια των τροφίμων και θα επιμηκύνουν το χρόνο ζωής τους. Η αντιμικροβιακή συσκευασία είναι από τις πιο υποσχόμενες μεθόδους ενεργούς συσκευασίας, καθώς εμφανίζεται ιδιαίτερα αποτελεσματική στην μείωση της μικροβιολογικής αλλοίωσης και στο πληθυσμό των παθογόνων μικροοργανισμών που μολύνουν τα τρόφιμα (Dutta P., et. al., 2008).

Οι μικροβιακές αλλαγές είναι υπεύθυνες για την αλλοίωση των τροφίμων και με την πάροδο των χρόνων, έχουν αναπτυχθεί πολλές χημικές και φυσικές διεργασίες για να επιμηκύνουν το χρόνο ζωής τους. Η συσκευασία αποτελεί μια μέθοδο συντήρησης και παίζει κυρίαρχο ρόλο στη διατήρηση της ποιότητας του τροφίμου. Η αντιμικροβιακή συσκευασία χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της μικροβιακής ανάπτυξης στο προϊόν, χρησιμοποιώντας υλικά συσκευασίας και εδώδιμες μεμβράνες που περιέχουν αντιμικροβιακούς παράγοντες και καμιά φορά χρησιμοποιώντας και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Εξαιτίας της ζήτησης των καταναλωτών για προϊόντα χωρίς συντηρητικά, οι συντηρητικοί παράγοντες πρέπει να εφαρμόζονται στη συσκευασία με τέτοιο τρόπο, ώστε μικρή ποσότητα από αυτούς να έρχεται σε επαφή με το τρόφιμο.

Ο κύριος στόχος των συμβατικών συσκευασιών, όπως η διαβεβαίωση της ασφάλειας, η διατήρηση της ποιότητας και η επιμήκυνση του χρόνου ζωής του τροφίμου, δίνει τη θέση του και αντικαθίσταται από τις αντιμικροβιακές συσκευασίες. Οι αντιμικροβιακές συσκευασίες μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στην διασφάλιση της ποιότητας των τροφίμων σε παγκόσμια κλίμακα. Ωστόσο, η εφαρμογή τους στα τρόφιμα είναι περιορισμένη εξαιτίας της διαθεσιμότητας των κατάλληλων αντιμικροβιακών παραγόντων, της νομοθεσίας και των πειραματικών δόκιμων (Dutta P., et. al., 2008, Mohammed A., 2010).

#### **5.14 Η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών**

Η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών για την προστασία και συντήρηση των τροφίμων εφαρμόζεται ευρέως εξαιτίας των πολλών πλεονεκτημάτων τους έναντι των συνθετικών υλικών, όπως το γεγονός ότι είναι βιοδιασπώμενα και φιλικά προς το περιβάλλον (Ponce A. et. al, 2008).

Κάθε τύπος υλικού που χρησιμοποιείται για να περιβάλλει διάφορα είδη τροφίμων, με σκοπό την επιμήκυνση του χρόνου ζωής του προϊόντος και το οποίο μπορεί να καταναλώνεται μαζί με το τρόφιμο ονομάζεται εδώδιμη μεμβράνη. Οι εδώδιμες μεμβράνες παρέχουν μια φυσική επίστρωση στο τρόφιμο που μπορεί να εμποδίζει την απώλεια υγρασίας και να επιτρέπει την ανταλλαγή αερίων, όπως είναι το οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα. Επίσης, εμποδίζει το τρόφιμο να επιμολυνθεί μικροβιακά καθώς και να χάσει σημαντικά χαρακτηριστικά του, όπως το χρώμα, το άρωμα και η υφή. Γενικά, το πάχος της μεμβράνης φτάνει το πολύ τα 0,3mm (Embuscado M. et. al. 2009, Bourtoom T., 2008).

Τα τελευταία χρόνια, το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων έχει στραφεί προς τις εδώδιμες μεμβράνες εξαιτίας των πλεονεκτημάτων τους έναντι των παραδοσιακών συνθετικών μεμβρανών. Το κύριο πλεονέκτημα των επικαλυπτικών μεμβρανών είναι ότι μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το επικαλυπτόμενο προϊόν. Αυτό συμβάλλει στη μείωση της περιβαλλοντικής μόλυνσης, αφού το περίβλημα των προϊόντων δεν πετάγεται ή ακόμα και αν

δε καταναλώνεται, είναι φιλικό προς το περιβάλλον διότι τα υλικά που το συνθέτουν είναι βιοδιασπώμενα. Οι μεμβράνες αυτές ενισχύουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των επικαλυμμένων προϊόντων (άρωμα, χρώμα κ.α.) και έχουν αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται στην επιφάνεια των τροφίμων ελέγχοντας το επίπεδο διάχυσης των διαφόρων ουσιών από την επιφάνεια στο εσωτερικό του τροφίμου. (Dutta P., et. al., 2008, Mohammed A., 2010, Bourtoom T., 2008).

Μία άλλη εφαρμογή των επικαλυπτικών μεμβρανών είναι η χρήση τους ως περιβλήματα μαζί με μη εδώδιμες μεμβράνες, δημιουργώντας πολυστρωματική συσκευασία στο τρόφιμο. Στη περίπτωση αυτή, οι εδώδιμες μεμβράνες αποτελούν το εσωτερικό στρώμα που έρχεται σε επαφή με το τρόφιμο. Η παρασκευή των επικαλυπτικών μεμβρανών έχει λιγότερο κόστος, αλλά η διαπερατότητα τους, καθώς και οι μηχανικές τους ιδιότητες είναι πεινιχρές σε σχέση με τις συνθετικές μεμβράνες (Bourtoom T., 2008).

Τα υλικά, για τη παρασκευή των εδώδιμων μεμβρανών, διαλυτοποιούνται σε ένα διάλυμα νερού ή αλκοόλης ή και μίγμα νερού αλκοόλης. Στη συνέχεια της διαδικασίας προστίθενται οι πλαστικοποιητικές ουσίες, οι αντιμικροβιακοί παράγοντες και τα ενισχυτικά γεύσης ή χρώματος. Ρυθμίζεται το pH και η θερμοκρασία, ώστε να ομογενοποιηθεί το διάλυμα. Στις εφαρμογές στα τρόφιμα, το διάλυμα των εδώδιμων μεμβρανών μπορεί να εφαρμοστεί στα τρόφιμα με πολλές μεθόδους, όπως εμβαπτίζοντας το προϊόν στο διάλυμα ή ψεκάζοντας το με αυτό. Τα συστατικά που χρησιμοποιούνται για τη παρασκευή μεμβρανών μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες, τα υδροκολλοειδή, όπως οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες, τα λίπη και τα συνθετικά (Bourtoom T., 2008).

Τα ιδανικά χαρακτηριστικά των εδώδιμων μεμβρανών είναι (Embuscado M. et. al. 2009, Kong M. et. al., 2010):

- Μη τοξικά, υποαλλεργικά και εύπεπτα συστατικά.
- Παροχή δομικής και μηχανικής σταθερότητας, ώστε να αποφευχθεί η φθορά κατά τη μεταφορά και εμπορευματοποίηση του προϊόντος.
- Καλή προσκόλληση στην επιφάνεια του τροφίμου.

- Έλεγχος της διάχυσης του νερού εντός και εκτός του τροφίμου, ώστε να διατηρείται η επιθυμητή υγρασία.
- Παροχή ημι-διαπερατότητας για να διατηρήσουν την εσωτερική ισορροπία των αερίων.
- Αποτροπή απώλειας των συστατικών που σταθεροποιούν το άρωμα, το χρώμα και όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που είναι απαραίτητα για την αποδοχή του προϊόντος από τους καταναλωτές.
- Παροχή βιοχημικής και μικροβιακής σταθερότητας προστατεύοντας το προϊόν από τη μικροβιακή επιμόλυνση και άλλους τύπους αποσύνθεσης.

Τα κύρια συστατικά των τροφίμων, όπως οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λίπη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών. Γενικά, οι μεμβράνες που έχουν ως βάση τα λίπη μειώνουν τη διάχυση νερού, αυτές από πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται για να ελέγξουν τη διάχυση του οξυγόνου και άλλων αερίων, και οι πρωτεϊνικές μεμβράνες παρέχουν μηχανική σταθερότητα. Ο κύριος στόχος της δημιουργίας των επικαλυπτικών μεμβρανών για τα διάφορα τρόφιμα είναι να διασφαλίζεται ότι οι μεμβράνες αυτές έχουν τις φυσικές και χημικές ιδιότητες που είναι απαραίτητες για να διατηρηθεί η μεταφορά των αερίων και των υγρών στα ίδια επίπεδα μ' εκείνα που είχαν τα τρόφιμα στο φυσικό τους περιβάλλον (Embuscado M. et. al. 2009).

Οι μεμβράνες από διάφορες πηγές πρωτεϊνών όπως το καλαμπόκι, το γάλα, η σόγια και το σιτάρι, χρησιμοποιούνται για πολλά χρόνια και το κύριο γνώρισμα τους είναι η φυσική τους σταθερότητα. Οι χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνες διαλυτοποιούνται πιο εύκολα από αυτές με υψηλό μοριακό βάρος και εμφανίζουν μεγαλύτερη διαπερατότητα. Είναι σημαντικό, ωστόσο, να σημειωθεί ότι μία εύλογη μερίδα πληθυσμού είναι αλλεργική σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες όπως αυτές του σιταριού. Επίσης, το κολλαγόνο, εξαιτίας της εύκολης παρασκευής του, αντικατέστησε τα παραδοσιακά υλικά που χρησιμοποιούνταν ως περίβλημα των λουκάνικων (όπως έντερο ζώων). Το κύριο πλεονέκτημα αυτών των μεμβρανών είναι η δομική τους σταθερότητα, που τα καθιστά κατάλληλα να πάρουν οποιοδήποτε επιθυμητό σχήμα (περίβλημα λουκάνικου). Τέλος, η σύνθεση των πρωτεϊνών επηρεάζει



τη διαπερατότητα της μεμβράνης και ανάλογα το pH του διαλύματος από το οποίο παράγεται η επικαλυπτική μεμβράνη προκύπτουν και διαφορετικές ιδιότητες όπως στο χρώμα, την υφή κ.α (Embuscado M. et. al. 2009).

Οι λιπαρές ενώσεις, που χρησιμοποιούνται ως εδωδιμες μεμβράνες αποτελούνται από μονογλυκερίδια, φυσικό κερί και τασιενεργά. Η κύρια λειτουργία των λιπαρών μεμβρανών είναι να εμποδίζουν την υγρασία λόγω της μη πολικότητας τους. Η υδροφοβική φύση τους δημιουργεί μεμβράνες πιο και πιο εύθραυστες. Γι' αυτό συνδυάζονται με άλλους παράγοντες παρασκευής μεμβρανών, όπως πρωτεΐνες και κυτταρίνη, παρέχοντας έτσι μία μεμβράνη μηχανικά σταθερή (Bourtoom T., 2008).

Οι πολυσακχαρίτες που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή εδωδιμων μεμβρανών περιλαμβάνουν την κυτταρίνη, τα παράγωγα του αμύλου, τα παράγωγα της πηκτίνης, της χιτοζάνης κ.α. (Bourtoom T., 2008). Εξαιτίας της υδρόφιλης φύσης των μεμβρανών αυτών, καθώς εφαρμόζονται στην επιφάνεια του τροφίμου, απορροφούν νερό και παρέχουν έτσι στο τρόφιμο την απαραίτητη υγρασία που χρειάζεται για να μην αλλοιωθεί ποιοτικά. Το επικαλυμμένο τρόφιμο θα χάσει την υγρασία του μόνο όταν αφυδατωθεί η μεμβράνη. Γενικά, τα επικαλυπτικά φιλμ που δεν παρέχουν προστασία από τη διάχυση νερού, εμποδίζουν τη μεταφορά οξυγόνου και γι' αυτό οι μεμβράνες από πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται για να προστατέψουν τα τρόφιμα από την οξείδωση (Embuscado M. et. al. 2009).

#### **5.14.1 Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)**

Το HPMC παρασκευάζεται από την αντίδραση της καθαρής κυτταρίνης με ένα αλκαλικό συστατικό (μεθυλοχλωρίδιο) παρουσία βάσης κυρίως υδροξειδίου του νατρίου και ενός αδρανή διαλύτη για να σχηματίσει τη μεθυλοκυτταρίνη. Η προσθήκη της βάσης σε συνδυασμό με το νερό ενεργοποιεί το διάλυμα της κυτταρίνης διασπώντας την κρυσταλλική της δομή και αυξάνοντας τη πρόσβαση της υδροξυλ-ομάδας στον παράγοντα αλκυλίωσης προωθώντας την αντίδραση της αιθεροποίησης. Το HPMC είναι διαλυτό στο κρύο νερό,

αλλά η θερμοκρασία κροκίδωσης του είναι περίπου στους 82°C και σχηματίζει μία ιδιαίτερα δυνατή μεμβράνη (Embuscado M. et. al. 2009).

Η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC) είναι ένα υδροκολλοειδές, που χρησιμοποιείται στο σχηματισμό μεμβρανών εξαιτίας των καλών ιδιοτήτων που προσδίδει σε αυτές, όπως η συγκρατημένη διαπερατότητα σε οξυγόνο και η διαφανής και ελαστική μεμβράνη, που σχηματίζει. Παρόλα αυτά, οι μεμβράνες HPMC εμποδίζουν ελάχιστα τη διαπερατότητα του νερού, λόγω της υδροφιλικής φύσης τους. Αυτό μπορεί να βελτιωθεί με την προσθήκη υδροφοβικών υλικών σε αυτές, όπως λιπαρά οξέα και φυσικά κεριά. Αυτά τα υλικά ενισχύουν την αντίσταση της διαπερατότητας της μεμβράνης στο νερό, αλλά μειώνουν τη μηχανική αντοχή της (Pastor C. et. al., 2010).

#### **5.14.2 Χιτοζάνη**

Η χιτοζάνη (πολύ-(b-1,4)-2-άμινο-2-δεοξύ-D-γλυκοπυρανόζη) είναι το κύριο παράγωγο της χιτίνης, του υλικού που συνθέτει τον εξωσκελετό των οστρακοειδών και το κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων. Η χιτοζάνη παράγεται από αποκετυλίωση της χιτίνης και είναι ο δεύτερος πολυσακχαρίτης μετά την κυτταρίνη, που βρίσκεται στη φύση σε αφθονία. (Kong M. et. al., 2010, Aider M., 2010, Embuscado M. et. al. 2009).

Λόγω της μη-τοξικής της φύσης, της αντιμικροβιακής και αντιοξειδωτικής της δράσης, της βιοσυμβατότητά της με άλλα συστατικά, όπως βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και της βιοδιάσπασής της, η χιτοζάνη είναι ελκυστική ως φυσική προσθετική ουσία στα τρόφιμα και ιδιαίτερα ως επικαλυπτική μεμβράνη (Wenjiao F. et. al., 2009). Οι επικαλυπτικές μεμβράνες που έχουν ως βάση τη χιτοζάνη, μειώνουν την απώλεια υγρασίας, την αλλοίωση του χρώματος και προστατεύουν από μικροβιακές επιμολύνσεις τα επικαλυμμένα προϊόντα (Lin D. et. al., 2007).

Η χιτοζάνη συγκρίθηκε με άλλες βιομοριακές ενεργές μεμβράνες ως υλικό συσκευασίας στα τρόφιμα και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι έχει περισσότερα πλεονεκτήματα, εξαιτίας της αντιβακτηριακής της δράσης. Η αντιμικροβιακή

της δράση εντοπίζεται ενάντια σε πολλά βακτήρια και μύκητες. Έχει ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης, κυρίως κατά των gram-θετικών και gram-αρνητικών βακτηρίων. Οι αντιμικροβιακές μεμβράνες χιτοζάνης που περιέχουν οργανικά οξέα και αιθέρια έλαια, εμποδίζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, όπως οξυγαλακτικά βακτήρια, Enterobacteriaceae, Lactobacillus sakei, Serratia liquefaciens, σε προϊόντα κρέατος. Ισχυρότερη δράση παρατηρείται στην επιφάνεια προϊόντων λουκάνικου, όταν η μεμβράνη χιτοζάνης περιέχει κινναμαλδεύδη (Kong M. et. al., 2010, Aider M., 2010).

#### **5.14.2.1 Αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης**

Η αποτελεσματικότητα της αντιμικροβιακής δράσης της χιτοζάνης έγκειται σε πολλούς παράγοντες. Οι παράγοντες αυτοί είναι: μικροβιολογικοί, όπως το είδος του μικροοργανισμού, ενδογενείς, όπως το μοριακό βάρος της χιτοζάνης, η συγκέντρωσή της, τα υδροφιλικά/υδροφοβικά χαρακτηριστικά της και περιβαλλοντικοί, όπως η δύναμη ιοντισμού, το pH και η θερμοκρασία του περιβάλλοντος (Kong M. et. al., 2010, Aider M., 2010).

##### **5.14.2.1.1 Μικροβιολογικοί παράγοντες**

###### *Είδος του μικροοργανισμού*

Παρόλο που η χιτοζάνη εμφανίζει ένα μεγάλο εύρος αντιμικροβιακής δράσης, η αποτελεσματικότητα της καταπολέμησης των μικροοργανισμών είναι διαφορετική στα gram-θετικά βακτήρια, στα gram-αρνητικά βακτήρια και στους μύκητες. Η χιτοζάνη καταβάλλει αντιμυκητιακή δράση γιατί καταστέλλει την ανάπτυξη των σπορίων των μυκήτων. Επίσης, η διαφορά στη δράση του μεταξύ των βακτηρίων υπάρχει εξαιτίας των διαφορετικών χαρακτηριστικών του κυτταρικού τους τοιχώματος. Πολλές έρευνες δείχνουν τη δραστηριότητα της χιτοζάνης ενάντια στα gram-αρνητικά βακτήρια σε σχέση με τα gram-θετικά. Ωστόσο, τα βακτήρια εμφανίζονται λιγότερο ευαίσθητα στη δράση της χιτοζάνης σε σύγκριση με τους μύκητες (Kong M. et. al., 2010).

#### **5.14.2.1.2 Ενδογενείς παράγοντες**

##### Μοριακό βάρος

Πολλές έρευνες σχετικά με την αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης, επικεντρώνονται στη σχέση της δράσης αυτής με το μοριακό βάρος της χιτοζάνης. Κάποιες μελέτες έδειξαν ότι όσο αυξάνεται το μοριακό βάρος της χιτοζάνης, τόσο μειώνεται η δράση της ενάντια στο E.coli, ενώ σε άλλες μελέτες η υψηλού μοριακού βάρους χιτοζάνη είναι πιο αποτελεσματική σε σχέση με τη μικρού μοριακού βάρους. Ωστόσο, ανεξάρτητα από το μοριακό βάρος, η χιτοζάνη εμφανίζει ισοδύναμη δραστηριότητα κατά των βακτηρίων E.coli και Bacillus subtilus. Γενικά, η μικρού μοριακού βάρους χιτοζάνη (4,6 kDa) δείχνει αποτελεσματικότερη δράση έναντι των βακτηρίων και των μυκήτων (Kong M. et. al., 2010, Aider M., 2010).

##### Υδροφιλικά/Υδροφοβικά χαρακτηριστικά

Ανεξάρτητα από την ποιότητα του αντιμικροβιακού παράγοντα, η δράση του απαιτεί νερό. Η υδροφιλικότητα και η υδροφοβικότητα είναι έννοιες που βασίζονται στο υδάτινο περιβάλλον. Τα υδροφιλικά χαρακτηριστικά της χιτοζάνης καθορίζουν τη διαλυτότητα στο νερό. Η χρήση της χιτοζάνης περιορίζεται από ενώσεις που διαλύονται ελάχιστα στο νερό. Ο σχηματισμός υδατο-διαλυτής χιτοζάνης είναι ο κύριος στόχος των πειραμάτων σχετικά με την αντιμικροβιακή της δράση και περιλαμβάνουν την αλκυλίωση, την ακετυλίωση και το σχηματισμό τεταρτοταγούς δομής. Για παράδειγμα, η τεταρτοταγής δομή της χιτοζάνης εμφανίζει ισχυρότερη αντιμικροβιακή δραστηριότητα, μεγαλύτερο εύρος και ποσοστό θανάτωσης μικροοργανισμών σε σχέση με τη χιτοζάνη (Kong M. et. al., 2010).

#### **5.14.2.1.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες**

##### pH

Η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης εξαρτάται από το pH. Έρευνες δείχνουν ότι η χιτοζάνη εμφανίζει αντιβακτηριακή δράση σε όξινο περιβάλλον.

Η αδυναμία της χιτοζάνης να παραμένει δραστική σε pH ίσο με 7, οφείλεται στην παρουσία ελεύθερων αμινο-ομάδων, μειώνοντας έτσι τη διαλυτότητά της. Επίσης, δεν έχει αναφερθεί η δράση της σε αλκαλικό περιβάλλον (Dutta P., 2008)

#### Θερμοκρασία περιβάλλοντος

Κατά την αποθήκευση, τα χαρακτηριστικά της χιτοζάνης μπορεί να αλλάξουν. Ερευνήθηκε η αποθήκευση της χιτοζάνης στους 4°C και 25°C για 15 εβδομάδες και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στους 4°C η χιτοζάνη διατηρεί τη σταθερότητάς της και την αντιμικροβιακή της δράση ενάντια στα gram-θετικά βακτήρια, όπως *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* και στα gram-αρνητικά βακτήρια, όπως *Salmonella enteritidis* και *E.coli* αποτελεσματικότερα από τους 25°C (Kong M. et. al., 2010).

#### **5.14.2.2 Αντιμικροβιακή εφαρμογή εδώδιμων μεμβρανών χιτοζάνης στα τρόφιμα**

Η αυξανόμενη απαίτηση των καταναλωτών για υψηλής ποιότητας και μικροβιολογικά ασφαλή προϊόντα, οδήγησε τους επιστήμονες και τη βιομηχανία στην ανάπτυξη νέων στρατηγικών συντήρησης. Οι περισσότερες τροφικές δηλητηριάσεις προκαλούνται από βακτήρια, όπως *S.enteritidis*, *E.coli* O157:H7, *L.monocytogenes* και *Campylobacter jejuni*, που εντοπίζονται στο φρέσκο γάλα, το τυρί και το κρέας. Η χιτοζάνη εφαρμόζεται στα τρόφιμα ως πρόσθετο και ως υλικό συσκευασίας, καθυστερώντας την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και βελτιώνοντας την ποιότητα και το χρόνο ζωής του τροφίμου (Kong M. et. al., 2010).

Ως πρόσθετο, η μικρή διαλυτότητα στο νερό, καθιστά τη χιτοζάνη διαλυτή σε όξινο περιβάλλον σε πολλές εφαρμογές στα τρόφιμα. Το όξινο περιβάλλον επιδρά στα μόρια της χιτοζάνης μέσω της υδρόλυσης. Ο σχηματισμός του τροποποιημένου υδατο-διαλυτού παράγωγου της χιτοζάνης έχει πρακτική εφαρμογή, η δομή του είναι σταθερή και έχει παρατηρηθεί ότι παρεμποδίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων *E.coli* και *S.aureus* (Kong M. et. al., 2010).

Ως επικαλυπτική μεμβράνη, στη προσπάθεια αντικατάστασης των πετροχημικών υλικών, όπως το πολυπροπυλένιο και το πολυαιθυλένιο, τα οποία είναι μη εδώδιμα, η χιτοζάνη εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη τεχνολογία βιοδιασπώμενων, φιλικών προς το περιβάλλον εδώδιμων μεμβρανών. Η αντιμικροβιακή δράση των μεμβρανών της χιτοζάνης έχει παρατηρηθεί ενάντια μίας μεγάλης ποικιλίας μικροοργανισμών και μυκήτων. Στα gram-θετικά βακτήρια, το κύριο συστατικό του κυτταρικού τους τοιχώματος είναι η πεπτιδογλυκάνη και μία μικρή ποσότητα πρωτεϊνών. Από την άλλη πλευρά, το κυτταρικό τοίχωμα των gram-αρνητικών βακτηρίων είναι λεπτότερο και αποτελείται από πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και λίπη (Dutta P., 2008).

Η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης ενισχύεται με την ενσωμάτωση αιθέριων ελαίων και άλλων αντιμικροβιακών ουσιών. Η ενσωμάτωση ελαίου από σκόρδο, σορβικό κάλιο και νισίνη σε μεμβράνη χιτοζάνης παρεμποδίζει την ανάπτυξη των παθογενών βακτηρίων *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *L.monocytogenes* και *B.cereus*. Επίσης, εδώδιμες μεμβράνες χιτοζάνης με ενσωματωμένα αιθέρια έλαια από άνηθο, βασιλικό, κορίανδρο και ρίγανη ανέστειλαν την ανάπτυξη των βακτηρίων *L.monocytogenes* και *E.coli* O157:H7 στην επιφάνεια προϊόντων κρέατος (Dutta P., 2008, Aider M., 2010, Kong M. et. al., 2010).

### **5.15 Ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών σε εδώδιμες μεμβράνες**

Η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών για την προστασία και συντήρηση των τροφίμων εφαρμόζεται ευρέως εξαιτίας των πολλών πλεονεκτημάτων τους έναντι των συνθετικών υλικών, όπως το γεγονός ότι είναι βιοδιασπώμενα και φιλικά προς το περιβάλλον.

Οι μελέτες της δράσης των ενσωματωμένων φυσικών αντιμικροβιακών στις εδώδιμες μεμβράνες είναι όλο και περισσότερες. Τα επικαλυπτικά φιλμ αυτά επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής και διατηρούν τη ποιότητα στα τρόφιμα, εμποδίζοντας τη μικροβιολογική ανάπτυξη και αλλοίωση.

Η ικανότητα των εδώδιμων μεμβρανών να επιβραδύνουν τη διαπερατότητα του οξυγόνου, της υγρασίας και των αρωματικών ουσιών του τροφίμου ενισχύεται με την προσθήκη σε αυτές φυσικές αντιμικροβιακές ουσίες. Δεδομένου ότι οι καταναλωτές ζητούν όλο και λιγότερα χημικά συστατικά για τη διατήρηση των τροφίμων, έχει στραφεί η προσοχή των επιστημών προς την αναζήτηση της δράσης αυτών των εναλλακτικών αντιμικροβιακών ουσιών.

Όταν οι εδώδιμες μεμβράνες εμπλουτίζονται με τα εκχυλίσματα των φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών οι θερμοκρασίες ξήρανσης που εφαρμόζεται για το σχηματισμό της μεμβράνης είναι ιδιαίτερα υψηλή ώστε να εξατμιστεί ένα υψηλό ποσοστό των αρωματικών συστατικών των εκχυλισμάτων (Ponce A. et. al, 2008).

#### **5.15.1 Εφαρμογή εδώδιμων μεμβρανών στο κρέας και τα προϊόντα του**

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης των εδώδιμων μεμβρανών στο κρέας και τα προϊόντα του είναι: (Quintavalla S. et. al., 2002)

- Βοήθεια αναστολής του προβλήματος της απώλειας υγρασίας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στα φρέσκα ή κατεψυγμένα κρέατα.
- Διατήρηση του 'ζωμού' του φρέσκου κρέατος, όταν αυτό συσκευάζεται σε πλαστικούς δίσκους.
- Μείωση του ρυθμού ταγγισμού, εξαιτίας της οξειδωσης των λιπαρών και μείωση του σκούρου χρώματος, εξαιτίας της οξειδωσης της μυοσφαιρίνης.
- Μείωση της μικροβιολογικής αλλοίωσης, εξαιτίας των παθογόνων μικροοργανισμών στην επιφάνεια του κρέατος.
- Εμπόδιση της απώλειας των πτητικών αρωματικών ουσιών.

Ως εφαρμογή της ενεργούς συσκευασίας, οι εδώδιμες μεμβράνες μεταφέρουν αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ουσίες στην επιφάνεια του κρέατος. Πειράματα με την εφαρμογή μεμβρανών που περιέχουν οργανικά οξέα σε κομμάτι φρέσκου μοσχαριού, είχαν ικανοποιητικά αποτελέσματα έναντι των βακτηρίων *L.monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* και *E.coli*

O157:H7. Επιπλέον, παρεμπόδιση της ανάπτυξης του *L.monocytogenes* σε ζαμπόν και κρέας γαλοπούλας και μοσχαριού εμφανίστηκε με την εφαρμογή μεμβράνης κυτταρίνης που περιείχε νισίνη σε αυτά. Η χρήση νισίνης και λισοζύμης σε μεμβράνες σόγιας ανέστειλε την ανάπτυξη του *Lactobacillus plantarum* και *E.coli* σε λουκάνικα (Quintavalla S. et. al., 2002).

Επιπρόσθετα, η εφαρμογή εδώδιμων μεμβρανών χιτοζάνης σε έτοιμο ψημένο μοσχάρι έδειξε ισχυρή αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης ενάντια στα gram-θετικά βακτήρια, όπως το *L.monocytogenes*, σε σχέση με τα gram-αρνητικά βακτήρια. Η αντιμυκητιακή και αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης προέρχεται από την πολυκατιονική της φύση. Η αντιμικροβιακή της δράση θεωρείται ότι οφείλεται στις ηλεκτροστατικές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ των πρωτοιομένων αμινο-ομάδων της χιτοζάνης και των αρνητικών υπολειμμάτων στην επιφάνεια των κυττάρων. Ο αριθμός των πρωτοιομένων αμινο-ομάδων αυξάνεται με την αύξηση του βαθμού αποκετυλίωσης. Η χιτοζάνη διαλύεται σε όξινο περιβάλλον και αποτελεί αναστολέα των βακτηρίων *L.monocytogenes* σε έτοιμο ψημένο μοσχάρι (Beverly R. et. al., 2007).

Επιπλέον, αναστολή στην ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, του *Enterobacteriaceae* και του *Lactobacillus sakei* εμφανίστηκε με τη χρήση μεμβρανών χιτοζάνης σε λουκάνικα και ζαμπόν. Ισχυρότερη παρεμπόδιση ανάπτυξης των μικροοργανισμών εντοπίστηκε στα λουκάνικα, λόγω του όξινου περιβάλλοντος της επιφάνειάς τους με αποτέλεσμα την πιο αποτελεσματική δράση των μεμβρανών (Quattara B. et. al., 2000).

Το εκχύλισμα μέντας έχει αντιοξειδωτική δράση αλλά μειωμένη αντιμικροβιακή δραστηριότητα, η χιτοζάνη έχει υψηλή αντιμικροβιακή δράση και χαμηλή αντιοξειδωτική. Ο συνδυασμός τους σε προϊόντα κρέατος και συγκεκριμένα σε σαλάμι από χοιρινό κρέας σε θερμοκρασία αποθήκευσης 0 °C-3°C, ανέστειλε την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, κυρίως τα gram-θετικά βακτήρια, και επιμήκυνε το χρόνο ζωής του τροφίμου καθώς και το ρυθμό ταγγισμού, λόγω της παρεμπόδισης της οξείδωσης των λιπαρών του κρέατος (Kanatt S. et. al., 2007).



Τέλος, η εφαρμογή του αιθέριου ελαίου του δενδρολίβανου, η χιτοζάνη και η α-τοκοφερόλη σε λουκάνικα χοιρινού κρέατος κατά την αποθήκευσή τους στους 4°C για 20 ημέρες καθυστέρησε τη μικροβιολογική ανάπτυξη, την οξείδωση των λιπαρών και επιμήκυνε το χρόνο ζωής του τροφίμου. Ο συνδυασμός της χιτοζάνης και του δενδρολίβανου παρουσίασε τα καλύτερα αποτελέσματα, βελτιώνοντας έτσι τη συντήρηση τέτοιου είδους προϊόντων , χωρίς τη χρήση χημικών προσθέτων (Georgantelis D. et. al., 2006).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 6.1 Σκοπός

Τα πειράματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας έγιναν στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ. Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης ορισμένων κοινών εμπορικών φυσικών αντιμικροβιακών φυτικής προέλευσης ενσωματωμένων είτε σε εδώδιμες μεμβράνες είτε μέσα στο προϊόν, στη χρονική εξέλιξη της μικροβιακής αλλοίωσης και των μεταβολών των ποιοτικών χαρακτηριστικών, της υφής και του χρώματος σε προϊόντα κρέατος.

Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν λουκάνικα μήκους περίπου 5cm έκαστο με γέμισμα κρεατόμαζας συγκεκριμένου τύπου σε ειδικές τεχνητές μεμβράνες. Οι φυσικές αντιμικροβιακές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν, είναι εκχύλισμα κοριάνδρου και εκχύλισμα δενδρολίβανου και οι εδώδιμες μεμβράνες είναι η χιτοζάνης και το ΗΡΜC. Έτσι προέκυψαν οι σειρές πειραμάτων που περιελάμβαναν δείγματα με καθεμιά επικαλυπτική εδώδιμη μεμβράνη και με προσθήκη σε αυτή των παραπάνω εκχυλισμάτων. Επίσης, παρασκευάστηκαν δείγματα με τα εκχυλίσματα των φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών ενσωματωμένα μέσα στη μάζα του προϊόντος. Για κάθε σειρά πειραμάτων παρασκευάστηκαν και τα αντίστοιχα τυφλά δείγματα, για να μπορεί να γίνει σύγκριση των μικροβιολογικών και ποιοτικών παραμέτρων. Ανακεφαλαιώνοντας, σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετηθεί η επίδραση του εκχυλίσματος του κοριάνδρου και του δενδρολίβανου είτε ενσωματωμένο στη μεμβράνη είτε στη μάζα του προϊόντος στις μικροβιολογικές παραμέτρους, υπόστρωμα PCA και MRS και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του λουκάνικου.

## 6.2 Συσκευές, όργανα και υλικά

Για την παρασκευή των δειγμάτων των λουκάνικων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά:

- Κρεατόμαζα.
- Ειδικές μεμβράνες για το γέμισμα της κρεατόμαζας.
- Εκχυλίσματα φυσικών αντιμικροβιακών κορίανδρου και δενδρολίβανου (Biotrek A.B.E.E.).
- Επικαλυπτικές μεμβράνες Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) (F4MFG(464), Methocel Food Grade)
- Επικαλυπτικές μεμβράνες Chitosan (Aldrich Chemistry)
- Υλικό πλαστικών συσκευασιών.
- Υπόστρωμα Plate-Count Agar (PCA, Oxoid CM0325) (για τις μικροβιολογικές αναλύσεις).
- Υπόστρωμα de Man-Rogosa-Sharpe (MRS, Merk VM978860-812) (για τις μικροβιολογικές αναλύσεις).
- Διάλυμα Maximum Recovery Diluent (MRD, Oxoid CM0733) (για τις μικροβιολογικές αναλύσεις).
- Απιονισμένο νερό (για τις μικροβιολογικές αναλύσεις).

Επίσης, κατά την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω όργανα:

- Ψυγεία σε 0°C, 4°C και 8°C και καταψύκτης στους -40°C.
- Ηλεκτρονικός ζυγός (620C της Precisa Instruments).
- Ηλεκτρικό μίξερ (Kenwood).
- Ηλεκτρικός ατμομάγειρας (Izzy BlackLine).
- Θάλαμος διαμόρφωσης συσκευασιών κενού (NT42N της Boss).
- 2 μεγάλα δοχεία με κάλυμμα, για την αποθήκευση της κρεατόμαζας.
- Υαλικά σκεύη (Ποτήρι ζέσεως, κωνικές φιάλες, ογκομετρικός κύλινδρος, σιφόνιο).
- Ειδικό έμβολο για το γέμισμα της κρεατόμαζας.
- Συρμάτινα πιαστράκια και λαστιχάκια.

- Ηλεκτρικός αποστειρωτήρας ατμού (αυτόκλειστο της Webeco).
- Υδατόλουτρο (Kotterman).
- Συσκευή ομογενοποίησης (Stomacher BagMixer της InterScience).
- Ηλεκτρονικός ζυγός (620C της Precisa Instruments).
- Καμινέτο γκαζιού.
- Γυάλινο κυλινδρικό τρίγωνο.
- Ψεκαστήρας με οινόπνευμα.
- Τρυβλία για μικροβιολογικές αναλύσεις.
- Ειδικές αποστειρωμένες σακούλες για ομογενοποίηση
- Αποστειρωμένα σωληνάκια των 10 mL με αντίστοιχο στατό.
- Πουάρ.
- 2 Πιπέτες σε 1000  $\mu\text{L}$  και 100  $\mu\text{L}$  με τα αντίστοιχα tips.
- Αλουμινόχαρτο και κολλητική ταινία.

Τέλος, για την μέτρηση των χαρακτηριστικών υφής χρησιμοποιήθηκε ο αναλυτής υφής TA-XT2 (Stable Micro Systems) με το στέλεχος TA-4 (κοπίδι), ενώ για τις αναλύσεις του χρώματος χρησιμοποιήθηκε το χρωματόμετρο CR-200 (Konica-Minolta).

### 6.3 Πειραματική διαδικασία

Κατά την παραλαβή της η κρεατόμαζα τοποθετείται ως έχει συσκευασμένη σε καταψύκτη ( $-40^{\circ}\text{C}$ ). Για την παρασκευή του δείγματος τοποθετείται μέρος της κρεατόμαζας σε μεγάλο δοχείο με καπάκι και τοποθετείται στο ψυγείο στους  $0^{\circ}\text{C}$  για να αποψυχθεί (το μέρος αυτό της κρεατόμαζας φυλάσσεται στο ψυγείο για λιγότερο από δύο ημέρες). Δημιουργούνται δείγματα λουκάνικου, τα οποία επικαλύπτονται με μεμβράνη χιτοζάνης και ενσωματωμένο εκχύλισμα κορίανδρου στη μεμβράνη (CxK) και δείγματα, τα οποία επικαλύπτονται με μεμβράνη χιτοζάνης και ενσωματωμένο εκχύλισμα δενδρολίβανου στη μεμβράνη (CxD). Για τη μελέτη της δεύτερης μεμβράνης, δημιουργούνται δείγματα λουκάνικου, τα οποία επικαλύπτονται με μεμβράνη HPMC και ενσωματωμένο εκχύλισμα κορίανδρου στη μεμβράνη (HxK) και

δείγματα, τα οποία επικαλύπτονται με μεμβράνη HPMC και ενσωματωμένο εκχύλισμα δενδρολίβανου στη μεμβράνη (HxD). Επίσης, για τη μελέτη της δράσης του αντιμικροβιακού στη μάζα του λουκάνικου, δημιουργούνται δείγματα λουκάνικου, στα οποία ενσωματώνεται εκχύλισμα κορίανδρου στη μάζα του λουκάνικου (ExK) και δείγματα, στα οποία ενσωματώνεται εκχύλισμα δενδρολίβανου στη μάζα του λουκάνικου (ExD). Αναλυτικότερα:

#### Παρασκευή ομάδας δειγμάτων

Μέρος από την κρεατόμαζα του δοχείου τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως και ζυγίζεται και με το ποτήρι. Στη συνέχεια, το περιεχόμενο του ποτηριού ρίχνεται στο μίξερ και το άδειο ποτήρι επαναζυγίζεται. Από τη διαφορά των δύο ζυγίσεων προκύπτει η μάζα της κρεατόμαζας που υπάρχει στο μίξερ.

Να σημειωθεί ότι, για την παρασκευή της ομάδας που περιλαμβάνει ενσωματωμένο αντιμικροβιακό στο λουκάνικο, προστίθεται στο μίξερ ποσότητα από το εκχύλισμα του φυσικού αντιμικροβιακού σε ποσοστό επί του βάρους της κρεατόμαζας που υπάρχει στο μίξερ. Το ποσοστό που επιλέγεται είναι 1% w/v για τα εκχυλίσματά των φυσικών αντιμικροβιακών. Το μίγμα ανακατεύεται για περίπου 2-3 min.

Στη συνέχεια, το μίγμα της κρεατόμαζας είτε περιέχοντας ποσότητα φυσικού αντιμικροβιακού είτε όχι (δηλαδή χωρίς αντιμικροβιακό στη κρεατόμαζα, ώστε να επικαλυφθεί έπειτα με την εδώδιμη μεμβράνη), εισάγεται στο ειδικό έμβολο, με τη βοήθεια ενός κουταλιού, που απεικονίζεται παρακάτω για τη διαμόρφωση του δείγματος:



Εικόνα 6.1: Ειδικό έμβολο για το γέμισμα της κρεατόμαζας.

Στην άκρη του εμβόλου τοποθετείται ειδική μεμβράνη, εντός της οποίας εισάγεται το δείγμα του μίξερ με εφαρμογή πίεσης στο έμβολο. Έπειτα, η μία άκρη της μεμβράνης δένεται με συρμάτινα πιαστράκια και η μεμβράνη τυλίγεται, ώστε να διαμορφώσει δείγματα μήκους 4-6cm με όσο το δυνατόν λιγότερο αέρα στο εσωτερικό της. Τα λουκάνικα που παρασκευάζονται τοποθετούνται στο ψυγείο στους 0°C, έως ότου παρασκευαστούν και τα υπόλοιπα δείγματα.



Εικόνα 6.2: Ειδική μεμβράνη για το γέμισμα της κρεατόμαζας.

Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετούνται στον ατμομάγειρα (Izzy BlackLine) και αφήνονται να μαγειρευτούν στον ατμό για περίπου 5-6 min. Τέλος, τοποθετούνται σε κλειστό δοχείο με καπάκι στο ψυγείο στους 0 °C για 1 ημέρα.

Επακόλουθα, παρασκευάζεται το διάλυμα των επικαλυπτικών εδώδιμων μεμβρανών, όπου θα εμβαπτιστούν τα δείγματα.

#### *Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)*

Παρασκευάζονται 400 mL επικαλυπτικού διαλύματος HPMC 1% w/v. Θερμαίνονται 133 mL απιονισμένου νερού στους 80°C και διαλυτοποιούνται σ' αυτό 4 g HPMC (F4MFG(464)). Προστίθεται απιονισμένο νερό μέχρι τα 400 mL.

### Χιτοζάνη (Chitosan)

Διαλύονται, σε 100 mL απιονισμένου νερού, 4 mL οξικού οξέος. Ακολουθεί προσθήκη νερού ως τα 400 mL. Έπειτα, προστίθενται 3,2 g χιτοζάνης και το διάλυμα αναδεύεται με μαγνητικό αναδευτήρα για 1h.

Η προσθήκη του εκχυλίσματος στις εδώδιμες μεμβράνες γίνεται σε ποσοστό 1% κατ' όγκο του διαλύματος της μεμβράνης. Έτσι, το εκχύλισμα προστίθεται σε κάθε διάλυμα αντίστοιχα και η ανάδευση συνεχίζεται για λίγα λεπτά.

Τα δείγματα εμβαπτίζονται στο κάθε διάλυμα εδώδιμης μεμβράνης για περίπου 4-5 min, τοποθετούνται σε σχάρες, ώστε να στραγγίσουν και αφήνονται εκεί μέχρι να ολοκληρωθεί η επιφανειακή ξήρανσή τους και να στεγνώσουν.

Ακολουθεί η συσκευασία των δειγμάτων που γίνεται σε πλαστικές συσκευασίες σε ατμόσφαιρα κενού στον ειδικό θάλαμο διαμόρφωσης συσκευασιών κενού που απεικονίζεται παρακάτω:



Εικόνα 6.3: Ειδικός θάλαμος διαμόρφωσης συσκευασιών κενού.

Οι συσκευασίες με τα δείγματα τοποθετούνται ανά 10 σε 3 ψυγεία διαφορετικών θερμοκρασιών 0°C, 4°C κα 8°C. Τη στιγμή της εισόδου τους στα ψυγεία καταγράφεται ότι τα δείγματα βρίσκονται στην 0η ημέρα.

Με βάση προκαταρκτικούς ελέγχους, θεωρήθηκε ότι το περιεχόμενο και των πέντε συσκευασιών αυτών, και ιδιαίτερα το μικροβιακό τους φορτίο ήταν κατά μέσο όρο ισοδύναμο. Ακόμη, θεωρήθηκε ότι τα χαρακτηριστικά των δειγμάτων που ανήκουν στην ίδια ομάδα εξελίσσονται με τον ίδιο ακριβώς τρόπο, ενώ δεν παρατηρήθηκαν αξιόλογες διαφορές κατά τα διαφορετικά

χρονικά διαστήματα της παραμονής της κρεατόμαζας στο ψυγείο για την παρασκευή των ομάδων, που πάντως δεν ξεπερνούσαν τις δύο ημέρες.

Στα δείγματα πραγματοποιήθηκαν ανά τακτά χρονικά διαστήματα μικροβιολογικές αναλύσεις (PCA και MRS), καθώς και μετρήσεις της υφής (σκληρότητα) και του χρώματος (της επιφάνειας των δειγμάτων). Τέλος, πραγματοποιήθηκε επεξεργασία των αποτελεσμάτων και στατιστική ανάλυση με τη βοήθεια του προγράμματος Statistica (StatSoft®), ώστε να εντοπιστούν τυχόν διαφορές σε όλες τις μετρήσεις μεταξύ των δειγμάτων με διαφορετική επικαλυπτική εδώδιμη μεμβράνη και διαφορετική προσθετική ουσία και διαφορετική θερμοκρασία αποθήκευσης.

#### **6.4 Μετρήσεις & αναλύσεις**

Στα δείγματα πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις με τη μέθοδο της ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε τρυβλία με υποστρώματα PCA (Plate-Count Agar για Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα) και MRS (de Man-Rogosa-Sharpe για οξυγαλακτικά βακτήρια) και την τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων, ανάλυση υφής στον αναλυτή υφής TA-XT2 (Stable Micro Systems) και ανάλυση χρώματος με το χρωματόμετρο CR-200 (Konica-Minolta).

##### Μικροβιολογικές αναλύσεις

Οι μικροβιολογικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε ειδικό πάγκο εργασίας με τη μέθοδο της ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό και την τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων.

##### *• Προετοιμασία του ειδικού πάγκου εργασίας*

Για την πραγματοποίηση αξιόπιστων μικροβιολογικών αναλύσεων σε οποιοδήποτε τρόφιμο είναι απαραίτητη η επίτευξη ασηπτικών συνθηκών τόσο στον ειδικό πάγκο εργασίας, όσο και στον περιβάλλοντα χώρο γύρω από αυτόν. Για το σκοπό αυτό ο πάγκος εργασίας ήταν κλειστός με απαγωγή αερίων και αποστειρωνόταν με οινόπνευμα ανά τακτά χρονικά διαστήματα.



Ειδικότερα, πριν την έναρξη των πειραματικών εργασιών ο πάγκος αποστειρωνόταν πάντα με οινόπνευμα, ενώ κατά τη διάρκεια των μικροβιολογικών αναλύσεων χρησιμοποιείται φλόγα από μικρό καμινέτο γκαζιού για τη συντήρηση των ασηπτικών συνθηκών εντός του πάγκου κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

• *Παρασκευή και αποστείρωση του υποστρώματος (θρεπτικό υλικό)*

Όσον αφορά τα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιούνται για μικροβιολογικές αναλύσεις τροφίμων, χρησιμοποιούνται υποστρώματα με απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα, στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν μετρήθηκε η ολική μικροβιακή χλωρίδα των δειγμάτων με το μη επιλεκτικό υπόστρωμα Plate-Count Agar (PCA, Oxoid CM0325), καθώς και τα οξυγαλακτικά βακτήρια με το επιλεκτικό υπόστρωμα de Man-Rogosa- Sharpe (MRS, Merk VM978860-812). Κατά τη δειγματοληψία και στην τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων χρησιμοποιήθηκε ως διαλυτικό ο ορός Maximum Recovery Diluent (MRD, Oxoid CM0733).

Αφού παρασκευασθούν τα παραπάνω διαλύματα, εισάγονται σε τρεις κωνικές φιάλες και αναδεύονται ελαφρά για να ομογενοποιηθούν. Στη συνέχεια, οι κωνικές φιάλες προετοιμάζονται (πωματισμός με βαμβάκι και επικάλυψη με αλουμινόχαρτο) και τοποθετούνται στον αποστειρωτήρα ατμού μαζί με το σιφώνιο των 10 mL και τα tips (τα οποία έχουν επίσης επικαλυφθεί με αλουμινόχαρτο). Η αποστείρωση πραγματοποιείται στους 120 °C για 20 min στον αποστειρωτήρα ατμού.

Μετά το πέρας της αποστείρωσης τα υποστρώματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο και αφήνονται να κρυώσουν μέχρι περίπου τους 60°C. Έπειτα, το υπόστρωμα της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας (PCA) μοιράζεται στα αντίστοιχα τρυβλία και αφήνεται να στερεοποιηθεί, ενώ ο ορός (MRD) ψύχεται κοντά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και το υπόστρωμα MRS παραμένει στο υδατόλουτρο στους 60°C. Κατόπιν, στα αποστειρωμένα δοκιμαστικά σωληνάκια τοποθετούνται 9 mL ορού MRD μέσω του αποστειρωμένου σιφωνίου και του πουάρ. Οι εργασίες αυτές γίνονται στον ειδικό πάγκο

εργασίας και όσο το δυνατόν πιο κοντά στη φλόγα, όπου υπάρχουν πιο ασηπτικές συνθήκες.

- *Δειγματοληψία*

Στον πάγκο εργασίας τοποθετείται ο ηλεκτρονικός ζυγός, αφού έχει απολυμανθεί με οινόπνευμα. Στον ηλεκτρονικό ζυγό τοποθετείται το ποτήρι ζέσεως των 500 mL και μέσα σε αυτό μία ειδική αποστειρωμένη σακούλα, η οποία έχει ανοιχθεί ελαφρά με προσοχή έχοντας έρθει σε επαφή μόνο με την εξωτερική της επιφάνεια, ώστε να μην μολυνθεί το εσωτερικό της.

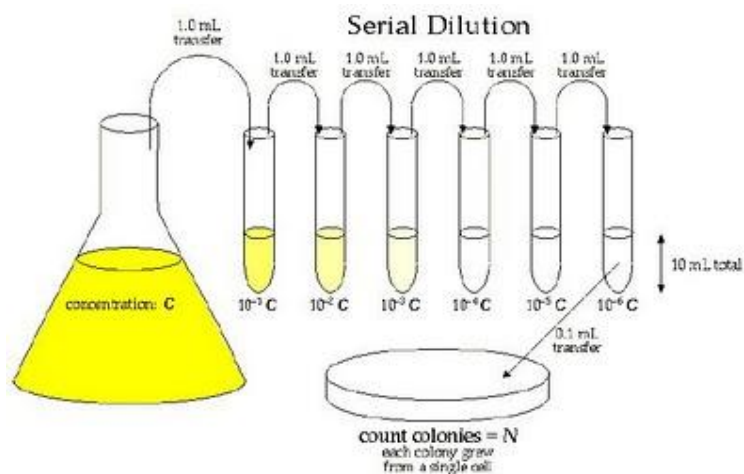
Η διαδικασία της δειγματοληψίας ξεκινά με απολύμανση των χεριών με οινόπνευμα και του μαχαιριού με οινόπνευμα και ανάφλεξη. Στη συνέχεια, το δείγμα ανοιγόταν προσεκτικά και όσο το δυνατόν πιο κοντά στη φλόγα, όπου υπάρχουν πιο ασηπτικές συνθήκες. Με τη βοήθεια του μαχαιριού τοποθετείται τμήμα του δείγματος στο εσωτερικό της σακούλας (περίπου 10-12 g) και στην ίδια σακούλα γίνεται προσθήκη ορού MRD μέσω του αποστειρωμένου σιφωνίου και του πουάρ σε ποσότητα εννεαπλάσια της μάζας του τμήματος (θεωρείται ότι ο ορός MRD ως αραιό υδατικό διάλυμα έχει πυκνότητα ίση με τη πυκνότητα του νερού σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, δηλαδή  $\rho=1\text{g/mL}$ ). Κατόπιν, η σακούλα κλείνεται πρόχειρα και οδηγείται στον ομογενοποιητή (Stomacher BagMixer της InterScience), όπου και ομογενοποιείται για 1min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

- *Τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων*

Οι δοκιμαστικοί σωλήνες που περιέχουν 9 mL ορού MRD τοποθετούνται στο ειδικό στατό στη σειρά. Το ομογενοποιημένο διάλυμα της σακούλας χαρακτηρίζεται ως 10-1. Από το ομογενοποιημένο δείγμα λαμβάνεται 1 mL διαλύματος με τη βοήθεια της πιπέτας και των αποστειρωμένων tips και τοποθετείται στον πρώτο δοκιμαστικό σωλήνα. Η διαδικασία αυτή γίνεται όσο πιο κοντά στη φλόγα, ενώ το τελικό μίγμα του δοκιμαστικού σωλήνα αναδεύεται καλά, ώστε να γίνει ομογενές. Το ομογενοποιημένο διάλυμα χαρακτηρίζεται ως 10-2, καθώς κάθε mL από το διάλυμα αυτό περιέχει 0,01 mL του αρχικού δείγματος. Στη συνέχεια, με τη χρήση νέου tip λαμβάνεται 1 mL από το διάλυμα του δοκιμαστικού σωλήνα και τοποθετείται στον επόμενο

δοκιμαστικό σωλήνα. Ο σωλήνας αυτός αναδεύεται και χαρακτηρίζεται ως  $10^{-3}$ , αφού κάθε mL του διαλύματός του περιέχει 0,1 mL του διαλύματος  $10^{-2}$  (ή 0,001 mL του αρχικού δείγματος).

Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για τέτοιο (ικανό) αριθμό αραιώσεων, ανάλογα με την αλλοίωση που αναμένεται να έχει το αρχικό δείγμα. Η τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 6.4: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής των διαδοχικών αραιώσεων.

- **Ανάπτυξη μικροοργανισμών στο μη επιλεκτικό υπόστρωμα PCA**

Το θρεπτικό υλικό διανεμήθηκε από πριν στα τρυβλία και αφέθηκε να στερεοποιηθεί, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Με τη βοήθεια πιπέτας και αντίστοιχου αποστειρωμένου tip λαμβάνονται 0,1 mL από το διάλυμα του πρώτου δοκιμαστικού σωλήνα (διάλυμα  $10^{-2}$ ) και τοποθετείται σε τρυβλίο με στερεοποιημένο υπόστρωμα PCA. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια ενός γυάλινου τριγώνου, το οποίο έχει προηγουμένως αποστειρωθεί με οινόπνευμα και ανάφλεξη, η παραπάνω ποσότητα απλώνεται προσεκτικά σε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου. Η διαδικασία αυτή γίνεται κοντά στη φλόγα, καθώς υπάρχει μεγάλος κίνδυνος επιμόλυνσης των τρυβλίων σε αυτή τη φάση. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες και κατ' επέκταση για όλες τις διαδοχικές αραιώσεις του αρχικού δείγματος. Μετά το τέλος της επίστρωσης τα τρυβλία κλείνονται με τα καπάκια τους, αναστρέφονται και τοποθετούνται σε σακούλες. Τέλος τοποθετούνται σε επωαστήρα θερμοκρασίας  $35^{\circ}C$  για επώαση, για 2-3 ημέρες.

- *Ανάπτυξη μικροοργανισμών στο επιλεκτικό υπόστρωμα MRS*

*Από το διάλυμα του πρώτου δοκιμαστικού σωλήνα (διάλυμα 10-2)*

Λαμβάνονται με τη βοήθεια πιπέτας και αντίστοιχου αποστειρωμένου tip 1 mL ομογενοποιημένου διαλύματος και τοποθετούνται σε άδειο αποστειρωμένο τρυβλίο. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για όλες τις διαδοχικές αραιώσεις και πραγματοποιείται πάντα κοντά στη φλόγα. Στη συνέχεια, το υπόστρωμα MRS κρύνετε ελαφρώς και διανέμεται μέρος του στα τρυβλία που περιέχουν 1 mL ομογενοποιημένου διαλύματος (τοποθετείται ποσότητα ικανή να καλύψει την επιφάνεια του τρυβλίου και να δημιουργήσει λεπτό στρώμα). Τα τρυβλία κλείνονται με τα καπάκια τους και ανακινούνται προσεκτικά, ώστε το διάλυμα να ισοκαταμεμηθεί στον όγκο του υποστρώματος. Το υπόλοιπο υπόστρωμα MRS επανατοποθετείται στο υδατόλουτρο και τα τρυβλία αφήνονται να στερεοποιηθούν. Αφού στερεοποιηθούν τα τρυβλία ακολουθεί και δεύτερη επίστρωση όπως προηγουμένως (λεπτή στρώση που καλύπτει όλη την επιφάνεια), ώστε κατά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών των τρυβλίων αυτών να επικρατούν αναερόβιες συνθήκες. Τα τρυβλία αφήνονται ξανά να στερεοποιηθούν και στη συνέχεια κλείνονται με τα καπάκια τους, αναστρέφονται και τοποθετούνται σε σακούλες. Τέλος τοποθετούνται σε επωαστήρα θερμοκρασίας 35 °C για επώαση, για 4-5 ημέρες.

- *Καταμέτρηση αποικιών*

Μετά το πέρας της επώασης των τρυβλίων, τα τρυβλία εξάγονται από τον κλίβανο προσεκτικά, ώστε να καταμετρηθούν οι αποικίες που σχηματίστηκαν κατά την επώαση. Κατά την απαρίθμηση των αποικιών συνιστάται η χρήση ενός μαρκαδόρου, ώστε να διαχωρίζει την αποικία που μετρείται από τις υπόλοιπες με μία τελίτσα πάνω σε αυτήν.

- Υπολογισμός του μικροβιακού φορτίου του δείγματος

Το συνολικό μικροβιακό φορτίο της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας σε κάθε περίπτωση υπολογίζεται ως :

$$\text{Συνολικό φορτίο} = \text{αποικίες} * 10^{(\text{αραίωση} + 1)}$$

Ενώ το συνολικό μικροβιακό φορτίο των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε κάθε περίπτωση υπολογίζεται ως:

$$\text{Συνολικό φορτίο} = \text{αποικίες} * 10^{\text{αραίωση}}$$

Με τους παραπάνω τύπους προσδιορίζεται το μικροβιακό φορτίο σε CFU/g.

Όταν τα αποτελέσματα χρησιμοποιούνται για περαιτέρω επεξεργασία, χρησιμοποιείται ο δεκαδικός λογάριθμος του συνολικού μικροβιακού φορτίου (logCFU/g). Αν παρασταθούν τα αποτελέσματα των μετρήσεων του μικροβιακού φορτίου ενός δείγματος συναρτήσει του χρόνου, εμφανίζεται η τυπική καμπύλη ανάπτυξης του μικροοργανισμού που μελετάται στο δείγμα αυτό.

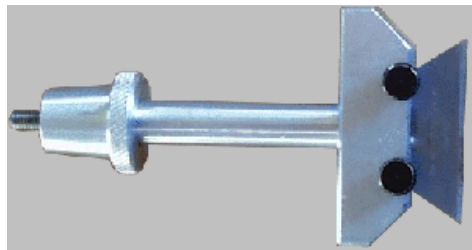
#### Μέτρηση χαρακτηριστικών υφής

Τα χαρακτηριστικά της υφής των δειγμάτων μετρήθηκαν ενόργανα με τον αναλυτή υφής TA-XT2 της εταιρείας Stable Micro Systems, που απεικονίζεται παρακάτω. Κατά τη μέτρηση τα δείγματα τοποθετούνται οριζόντια στην ειδική περιοχή του αναλυτή και εφαρμόζεται κατακόρυφη πίεση που καταγράφεται σε συνάρτηση με το χρόνο.



Εικόνα 6.5: Αναλυτής υφής TA-XT2 (Stable Micro Systems).

Οι μετρήσεις που έγιναν στον παραπάνω αναλυτή υφής αφορούσαν τη σκληρότητα των δειγμάτων και πραγματοποιήθηκαν με το ειδικό στέλεχος του αναλυτή υφής TA-4 Craft Knife που απεικονίζεται παρακάτω:



Εικόνα 6.6: Στέλεχος TA-4 Craft Knife.

Με το παραπάνω στέλεχος προσομοιώνεται η διαδικασία της κοπής με μαχαίρι. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν δύο ανεξάρτητες μετρήσεις σε όσο το δυνατόν πιο κεντρικές περιοχές του δείγματος. Οι τιμές των παραμέτρων που επιλέχθηκαν εμφανίζονται συνοπτικά στον πίνακα που ακολουθεί:

Πίνακας 6.1: Τιμές παραμέτρων κατά την ανάλυση της σκληρότητας.

Παράμετρος	Τιμή
Test Mode Measure Force	Force in Compression
Pre Test Speed	3,0 mm/s
Test Speed	5,0 mm/s
Post Test Speed	10,0 mm/s
Distance	10,0 mm

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων μεταφέρονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή μέσω του ειδικού λογισμικού του αναλυτή υφής Texture Expert Exceed με τη μορφή διαγραμμάτων συναρτήσεως του χρόνου. Από τα διαγράμματα αυτά απομονώνεται η μέγιστη τιμή της δύναμης που εμφανίζεται, η οποία αντιπροσωπεύει τη σκληρότητα του δείγματος. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις, από τις οποίες προκύπτουν δύο διαφορετικές τιμές σκληρότητας. Η τελική σκληρότητα του δείγματος υπολογίζεται ως ο αριθμητικός μέσος όρος των δύο παραπάνω τιμών. Οι μετρήσεις που ελήφθησαν από τον αναλυτή υφής ελέγχθηκαν για τον εντοπισμό διαφορών μεταξύ των δειγμάτων στις τιμές της σκληρότητας.

#### Μέτρηση χρώματος

Η μέτρηση του χρώματος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με το χρωματόμετρο CR-200 των εταιρειών Konica-Minolta που απεικονίζεται παρακάτω:



Εικόνα 3.7: Χρωματόμετρο CR-200 (Konica-Minolta).

Το συγκεκριμένο χρωματόμετρο ποσοτικοποιεί το χρώμα με βάση το τρισδιάστατο χρωματικό σύστημα CIE Lab που ανέπτυξε η CIE (Commission Internationale de l'éclairage). Στα δείγματα μετρήθηκαν οι παράμετροι L, a και b του χρώματος της εξωτερικής επιφάνειας. Κάθε μέτρηση γινόταν συνολικά δύο φορές και οι τελικές τιμές για κάθε δείγμα υπολογίζονταν από τον αριθμητικό μέσο όρο των τριών παραπάνω μετρήσεων.

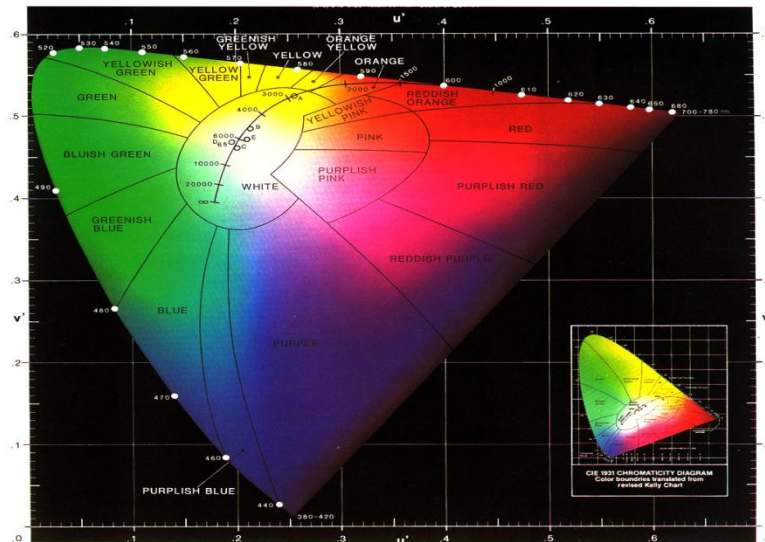
### **Σύστημα CIE**

Στο σύστημα αυτό χρησιμοποιούνται πρότυπες πηγές φωτισμού A, B και C, καθορίζονται οι συνθήκες παρατήρησης του δείγματος και το χρώμα εκφράζεται με μαθηματικές μεθόδους. Θεωρείται ότι τρία χρώματα (X) κόκκινο, (Y) πράσινο και (Z) μπλε βρίσκονται στις κορυφές ισόπλευρου τριγώνου σε ποσότητες 100% και όσο αυξάνεται η απόσταση από την κορυφή το χρώμα γίνεται ασθενέστερο. Όταν το φως πέφτει στο δείγμα η ενέργεια που φτάνει στον παρατηρητή είναι ( $R^*E$ ), όπου R η φασματομετρική καμπύλη ανάκλασης και E η καμπύλη της φωτεινής πηγής. Η καμπύλη μπορεί να χωριστεί σε τρεις καμπύλες  $R\bar{X}$ ,  $R\bar{Y}$ ,  $R\bar{Z}$ . Η επιφάνεια κάτω από αυτές αντιπροσωπεύει τις τιμές (x), (y), (z). Έτσι κάθε φασματομετρική καμπύλη ανάπτυξης μπορεί να εκφραστεί σε συντεταγμένες (x), (y), (z), όπου:

$$x = \frac{R\bar{X}}{R\bar{X} + R\bar{Y} + R\bar{Z}}, \quad y = \frac{R\bar{Y}}{R\bar{X} + R\bar{Y} + R\bar{Z}}, \quad z = 1 - (x + y)$$



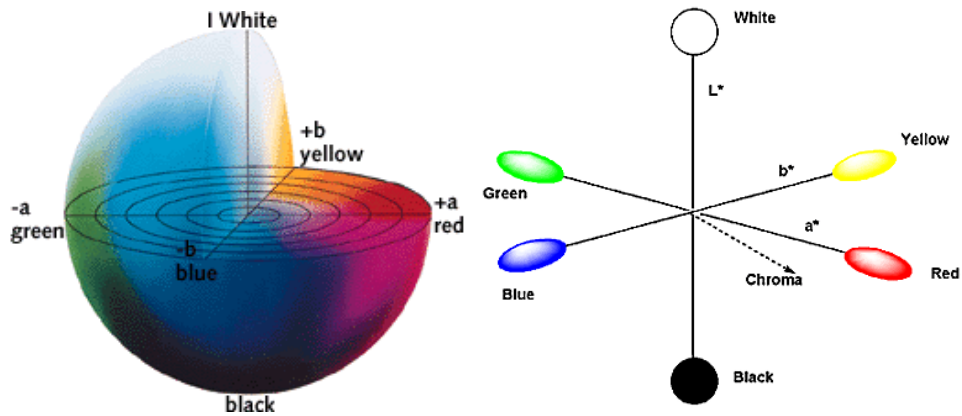
Προς τούτο βρίσκονται τα ποσοστά ανάκλασης (R) σ' όλο το διάστημα και πολλαπλασιάζονται οι τιμές με τις τιμές X, Y, Z, οι οποίες δίνονται σε πίνακες ανά είδος πηγής και υπολογίζονται τα αθροίσματα  $R\bar{X}$ ,  $R\bar{Y}$ ,  $R\bar{Z}$ . Οι τιμές (x), (y), (z) είναι γνωστές ως συντεταγμένες χρωματισμού.



Εικόνα 6.8: Χρωματικό σύστημα CIE.

### Σύστημα CIElab

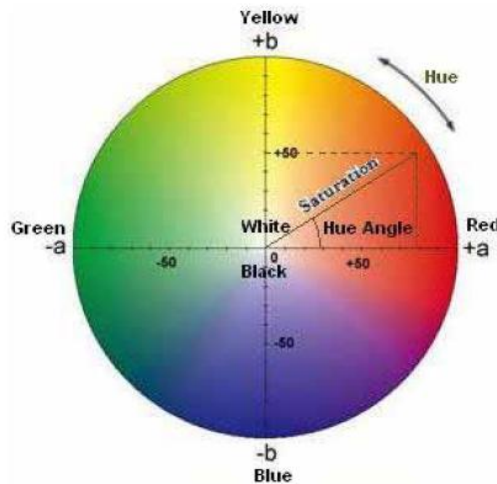
Το σύστημα απεικονίζεται από μία σφαίρα που περιλαμβάνει όλο το φάσμα του ορατού φωτός. Η σφαίρα περιλαμβάνει τρεις κάθετους μεταξύ τους άξονες σε καρτεσιανές συντεταγμένες, όπου ο κατακόρυφος άξονας εκφράζει τη φωτεινότητα του χρώματος (L) σε κλίμακα από 0 (μαύρο) έως 100 (άσπρο), ενώ οι άλλοι δύο άξονες (a και b) ορίζουν το επίπεδο του χρώματος. Ο άξονας a εκφράζει την κόκκινη/πράσινη παράμετρο του χρώματος (θετικές και αρνητικές τιμές αντίστοιχα), ενώ ο άξονας b εκφράζει την κίτρινη/μπλε παράμετρο του χρώματος (θετικές και αρνητικές τιμές αντίστοιχα). Κάθε χρώμα αντιστοιχεί σε ένα σημείο εντός της σφαίρας και μπορεί να εκφραστεί ως διάνυσμα  $\xrightarrow{\Delta E}$  με αυτές τις τρεις συνιστώσες.



Εικόνα 6.9: Χρωματικό σύστημα CIE Lab.

Πολλές φορές χρησιμοποιούνται και παράμετροι που προκύπτουν από τις αντίστοιχες κυλινδρικές και σφαιρικές συντεταγμένες του παραπάνω συστήματος. Έτσι, ορίζεται η παράμετρος του *κορεσμού* του χρώματος (saturation) που αντιστοιχεί στην προβολή του διανύσματος  $\vec{\Delta E}$  στο επίπεδο του χρώματος (επίπεδο ab) και εκφράζει την ένταση της χρωματικής απόχρωσης σε σχέση με το αντίστοιχο ουδέτερο ασπρόμαυρο χρώμα (ακτίνα R κυλινδρικών συντεταγμένων). Ορίζεται επίσης η *γωνία απόχρωσης* (hue angle) που αντιστοιχεί στη γωνία b/a (γωνία φ κυλινδρικών συντεταγμένων), καθώς και το *ολικό χρώμα* που αντιστοιχεί στο μέτρο του διανύσματος  $\vec{\Delta E}$  (ή στην ακτίνα R των σφαιρικών συντεταγμένων). Σύμφωνα με τα παραπάνω οι τιμές του κορεσμού και του ολικού χρώματος θα είναι :

$$Saturation = \sqrt{a^2 + b^2} \quad \text{και} \quad \left| \vec{\Delta E} \right| = \sqrt{L^2 + a^2 + b^2}$$



Εικόνα 6.10: Παράμετροι χρώματος, γωνίας απόχρωσης και κορεσμού του συστήματος CIELab.

Οι μετρήσεις που ελήφθησαν από το χρωματόμετρο ελέγχθηκαν για τον εντοπισμό διαφορών μεταξύ των δειγμάτων στις τιμές της φωτεινότητας (L) και του ολικού χρώματος ( $\Delta E$ ) στην εξωτερική επιφάνεια και το εσωτερικό των δειγμάτων.

## 6.5 Σχεδιασμός πειραμάτων & στατιστική επεξεργασία

Κατά την παρασκευή των δειγμάτων δημιουργούνται εννέα ομάδες δειγμάτων που περιλαμβάνουν, τα δείγματα με επικαλυπτική μεμβράνη χιτοζάνης χωρίς ενσωμάτωση σ' αυτή αντιμικροβιακής ουσίας (CxT), τα δείγματα με επικαλυπτική μεμβράνη HPMC χωρίς ενσωμάτωση σ' αυτή αντιμικροβιακής ουσίας (HxT), τα δείγματα με επικαλυπτική μεμβράνη χιτοζάνης και ενσωματωμένο σ' αυτή εκχύλισμα της αντιμικροβιακής ουσίας κορίανδρου (CxK), τα δείγματα με επικαλυπτική μεμβράνη χιτοζάνης και ενσωματωμένο σ' αυτή εκχύλισμα της αντιμικροβιακής ουσίας δενδρολίβανου (CxD), τα δείγματα με επικαλυπτική μεμβράνη HPMC και ενσωματωμένο σ' αυτή εκχύλισμα της αντιμικροβιακής ουσίας κορίανδρου (HxK), τα δείγματα με επικαλυπτική μεμβράνη HPMC και ενσωματωμένο σ' αυτή εκχύλισμα της αντιμικροβιακής ουσίας δενδρολίβανου (HxD), τα τυφλά δείγματα χωρίς επικαλυπτική εδώδιμη μεμβράνη και προσθετική ουσία (ExT), τα δείγματα με

εκχύλισμα του αντιμικροβιακού κορίανδρου (ExK) και τα δείγματα με εκχύλισμα του αντιμικροβιακού δενδρολίβανου (ExD).

Τα αποτελέσματα από τις μικροβιολογικές αναλύσεις παρουσιάζονται σε διαγράμματα logCFU/g συναρτήσεως του χρόνου και περιλαμβάνουν για κάθε επικαλυπτική μεμβράνη και υπόστρωμα και για τις τρεις θερμοκρασίες. Ομοίως, τα αποτελέσματα για τις μετρήσεις της σκληρότητας και του χρώματος (φωτεινότητα και ολικό χρώμα σε επιφάνεια) παρουσιάζονται σε διαγράμματα συναρτήσεως του χρόνου και περιλαμβάνουν για κάθε επικαλυπτική μεμβράνη και για τις τρεις θερμοκρασίες.

Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων των μικροβιακών αναλύσεων έγινε προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στο μαθηματικό μοντέλο του Monod που προέκυψε ύστερα από λογαρίθμηση.

Η εξίσωση Monod παρουσιάζεται παρακάτω:

$$N = N_0 \cdot e^{k(t-t_L)}$$

Όπου, N: Ο αριθμός των μικροοργανισμών σε χρόνο t.

$N_0$ : Το αρχικό μικροβιακό φορτίο.

k: Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.

$t_L$ : Ο χρόνος της λανθάνουσας φάσης.

Η προσαρμογή έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος SigmaPlot (Systat Software®) σε κάθε μικροβιακό διάγραμμα και για τις τρεις θερμοκρασίες χωριστά.

Οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης που προέκυψαν από τις προσαρμογές εξετάζονται για τον εντοπισμό διαφορών μεταξύ των διαφορετικών χαρακτηριστικών μέσω του προγράμματος Statistica (StatSoft®), ενώ δοκιμάστηκε και προσαρμογή των ειδικών ρυθμών στο μοντέλο Arrhenius που απεικονίζεται παρακάτω:

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}}$$

Όπου, k: Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.

E<sub>a</sub>: Η ενέργεια ενεργοποίησης.

A: Εμπειρική σταθερά.

Τέλος, με βάση το μέγιστο όριο που χρησιμοποιείται για την καταλληλότητα του τροφίμου για κατανάλωση ( $\log\text{CFU/g} < 6$  για την Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα) προσδιορίζονται οι αντίστοιχοι χρόνοι ζωής των δειγμάτων, με τη βοήθεια των μαθηματικών μοντέλων που προσδιορίστηκαν από τα πειραματικά δεδομένα.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά οι συμβολισμοί των μεταβλητών που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά τους.

Πίνακας 6.2: Συμβολισμός και ταυτότητα μεταβλητών.

Εδώδιμη Μεμβράνη	C: Χιτοζάνη H: HPMC
Αντιμικροβιακή ουσία	T: Τυφλό δείγμα K: 1% εκχύλισμα κοριάνδρου D: 1% εκχύλισμα δενδρολίβανου

Το κάθε διαφορετική σειρά πειραμάτων συμβολίζεται πρώτα με την επικαλυπτική μεμβράνη και έπειτα με την αντιμικροβιακή ουσία που είναι ενσωματωμένη σ' αυτή. Η γενική μορφή είναι δηλαδή **CxK** και αναφέρεται στα δείγματα που έχουν επικάλυψη χιτοζάνης και προσθήκη εκχυλίσματος κοριάνδρου στη μεμβράνη. Το σύμβολο E αναφέρεται στα δείγματα που το αντιμικροβιακό είναι ενσωματωμένο στο προϊόν.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Αποτελέσματα και Συζήτηση

### 7.1 Εισαγωγή

Η παρουσίαση των αποτελεσμάτων κατηγοριοποιείται με βάση τις εδώδιμες μεμβράνες και τις προσθετικές αντιμικροβιακές ουσίες για κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης των προϊόντων του κρέατος. Αρχικά, παρατίθενται τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων για την ολική μικροβιακή χλωρίδα (PCA) και τα Οξυγαλακτικά Βακτήρια (MRS) για τα επικαλυμμένα δείγματα με τις δύο εδώδιμες μεμβράνες, χιτοζάνης και ΗPMC, μόνες τους ή και με ενσωματωμένο σε αυτές το φυσικό αντιμικροβιακό (κορίανδρο και δενδρολίβανο). Έπειτα ακολουθούν τα αποτελέσματα των μετρήσεων για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων που περιλαμβάνουν μετρήσεις της σκληρότητας, της φωτεινότητας και του ολικού χρώματος για τα παραπάνω δείγματα με επικάλυψη εδώδιμων μεμβρανών με ή χωρίς αντιμικροβιακό υλικό. Ακολούθως, συγκρίνονται τα αντιμικροβιακά (κορίανδρος, δενδρολίβανος) είτε αυτά είναι ενσωματωμένα στις μεμβράνες, είτε έχουν ενσωματωθεί μέσα στη μάζα του προϊόντος, ως προς την επίδρασή τους στις μικροβιολογικές παραμέτρους και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων κρέατος.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης κάθε πειραματικής σειράς που προέκυψαν για κάθε θερμοκρασία, με βάση τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων με προσαρμογή στο μαθηματικό μοντέλο Monod με τη βοήθεια του προγράμματος SigmaPlot (Systat Software®).

Τέλος, παρουσιάζονται οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης που προέκυψαν από την προσαρμογή στο μοντέλο Arrhenius, καθώς και οι χρόνοι ζωής των δειγμάτων που υπολογίστηκαν (λαμβάνοντας ως όριο το  $\log\text{CFU/g} < 6$  για την Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα).

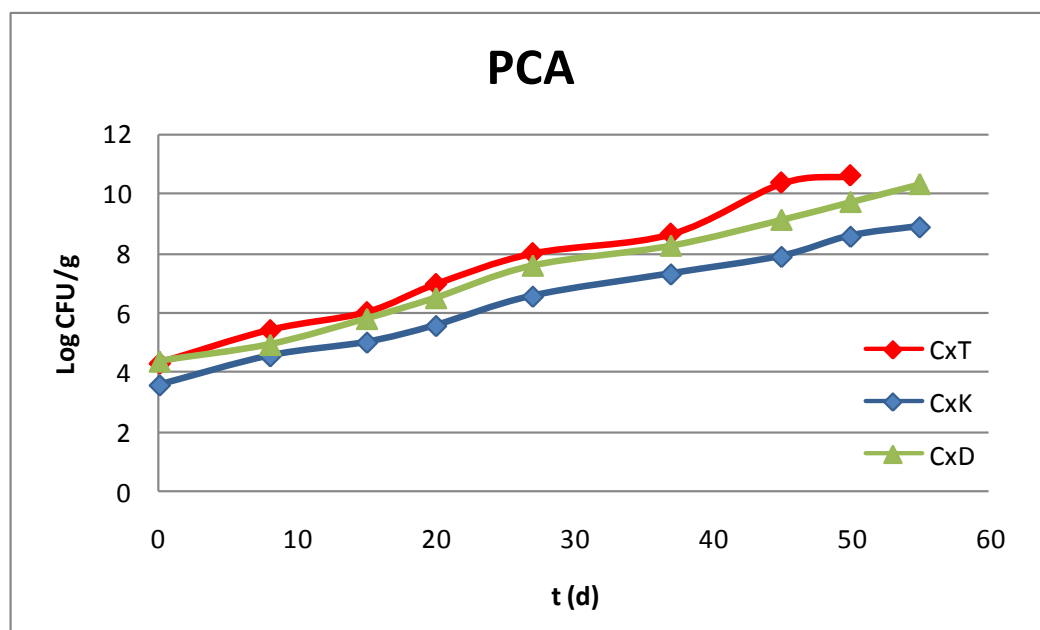
## 7.2 Αποτελέσματα με βάση τις εδώδιμες μεμβράνες.

### 7.2.1 Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης.

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζονται μεταβολές των μικροβιολογικών παραμέτρων κατά την αποθήκευση των δειγμάτων τα οποία παρασκευάστηκαν με επικάλυψη εδώδιμης μεμβράνης χιτοζάνης και προσθήκη αντιμικροβιακής προσθετικής ουσίας σε αυτή (εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου) και συσκευάστηκαν υπό κενό.

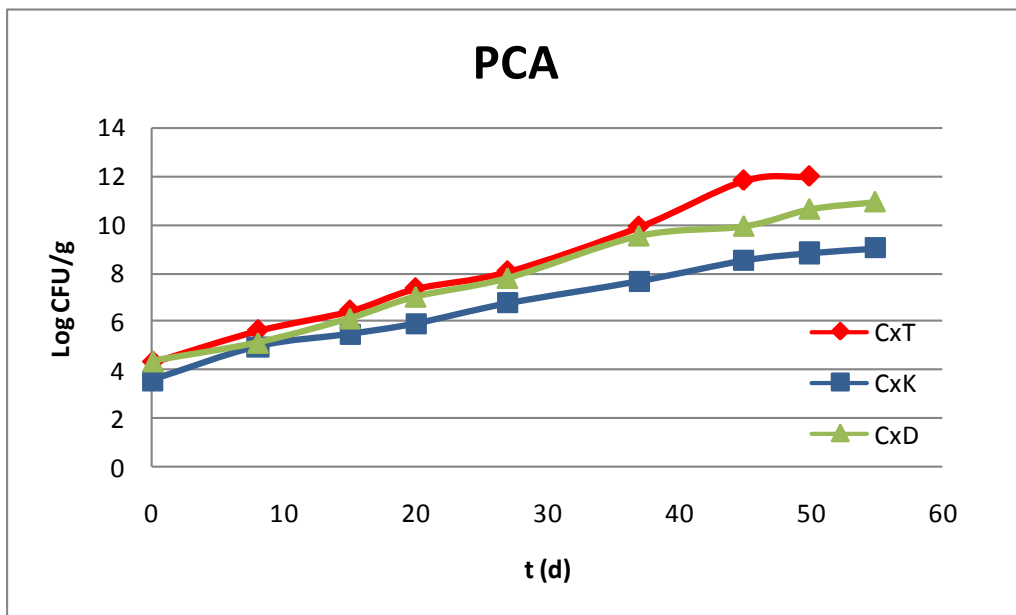
Στα διαγράμματα 7.1, 7.2 και 7.3 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας (υπόστρωμα PCA) των δειγμάτων με επικάλυψη μεμβράνης χιτοζάνης και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις τρεις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



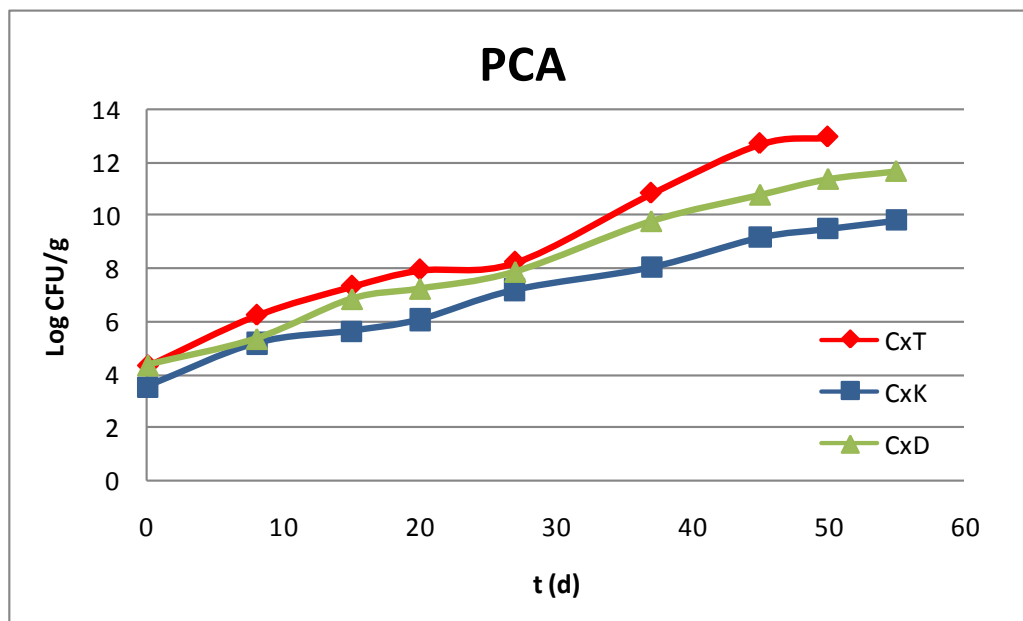
Εικόνα 7.1: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.2: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4 °C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.3: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8 °C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσε η σειρά πειραμάτων με τον κορίανδρο ενσωματωμένο στη χιτοζάνη και για τις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Η σειρά πειραμάτων με επικάλυψη

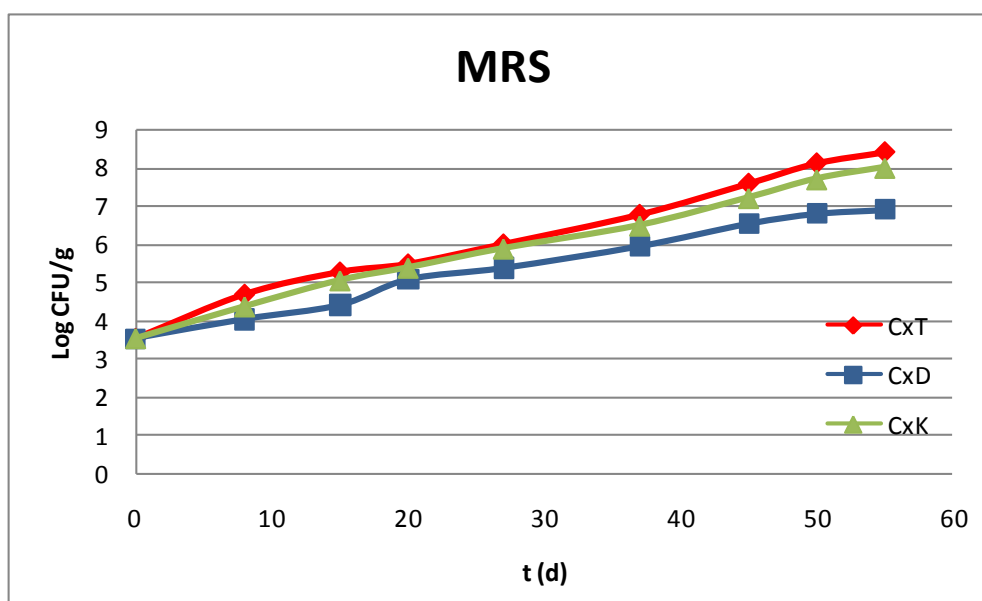


χιτοζάνης χωρίς προσθετική ουσία (τυφλό) εμφανίζει εντονότερη μικροβιακή μεταβολή σε σύγκριση με τις άλλες δύο σειρές που περιέχουν τα αντιμικροβιακά ενσωματωμένα στη μεμβράνη.

Η μεμβράνη, το αντιμικροβιακό καθώς και η θερμοκρασία αποθήκευσης δεν έδειξε να επιδρούν στατιστικά σημαντικά στην ολική μικροβιακή χλωρίδα (υπόστρωμα PCA).

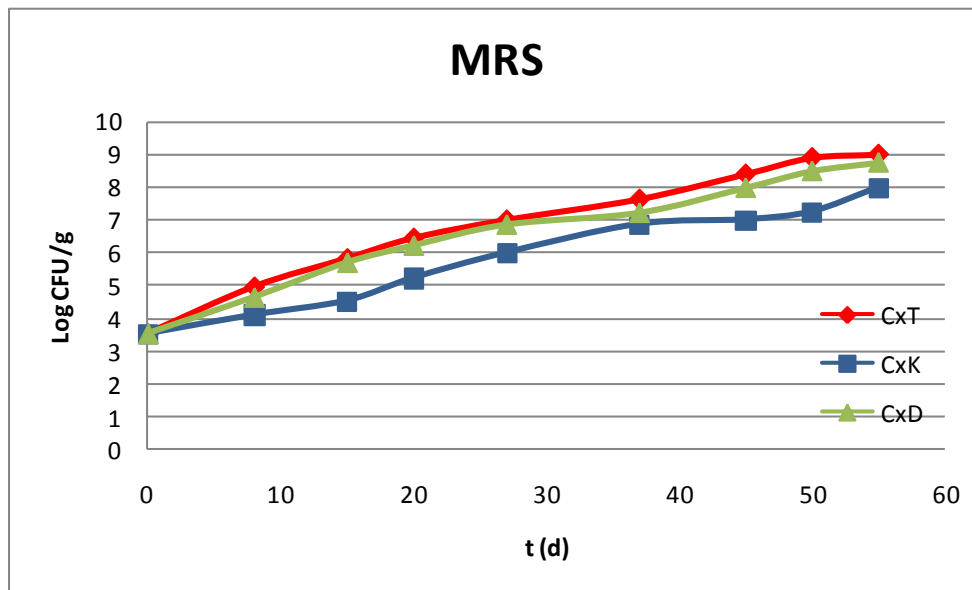
Στα διαγράμματα 7.4, 7.5 και 7.6 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο του αριθμού των Οξυγαλακτικών Βακτηρίων (υπόστρωμα MRS) των δειγμάτων με επικάλυψη μεμβράνης χιτοζάνης και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



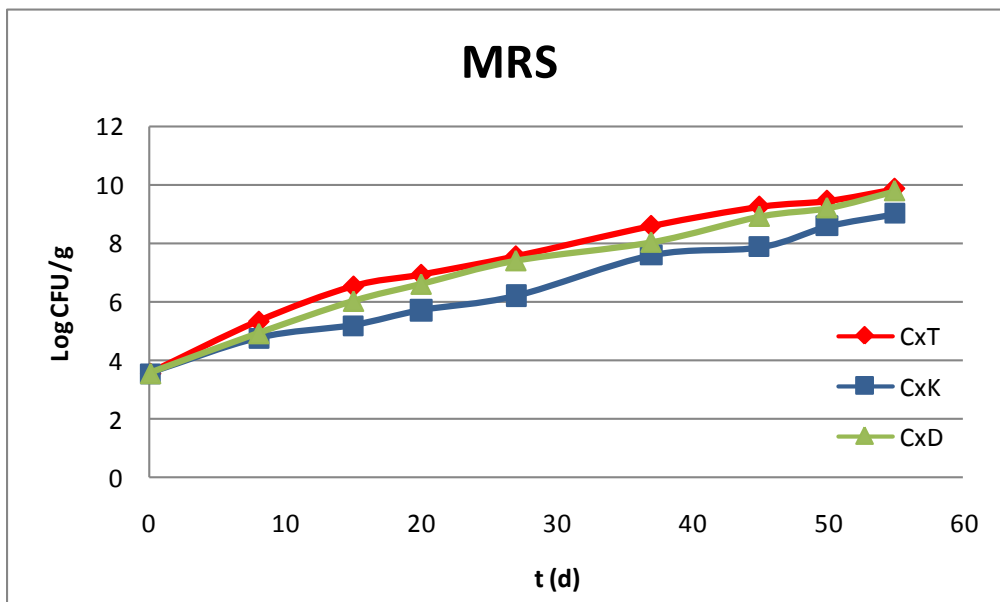
Εικόνα 7.4: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.5: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4 °C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.6: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8 °C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσε η σειρά πειραμάτων με τον κορίανδρο ενσωματωμένο στη χιτοζάνη και για τις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Στη σειρά πειραμάτων με επικάλυψη χιτοζάνης, τα δείγματα με ενσωμάτωση δενδρολίβανου σε αυτή εμφάνισαν λίγο πιο έντονη μικροβιολογική μεταβολή από τα αντίστοιχα με ενσωματωμένο κορίανδρο. Η σειρά πειραμάτων με επικάλυψη χιτοζάνης χωρίς προσθετική ουσία (τυφλό) εμφανίζει εντονότερη μικροβιακή μεταβολή σε σύγκριση με τις άλλες δύο σειρές που περιέχουν τα αντιμικροβιακά ενσωματωμένα στη μεμβράνη.

Από τη στατιστική ανάλυση αποδείχτηκε ότι η μεμβράνη χιτοζάνης επιδρά σημαντικά στατιστικά ( $P < 0,05$ ) στο φορτίο των Οξυγαλακτικών Βακτηρίων. Επίσης, ο χρόνος αποθήκευσης επιδρά σημαντικά ( $P < 0,05$ ) στην παράμετρο αυτή, και συγκεκριμένα μετά τις πρώτες 20 ημέρες αυξάνει σημαντικά ο αριθμός οξυγαλακτικών βακτηρίων.

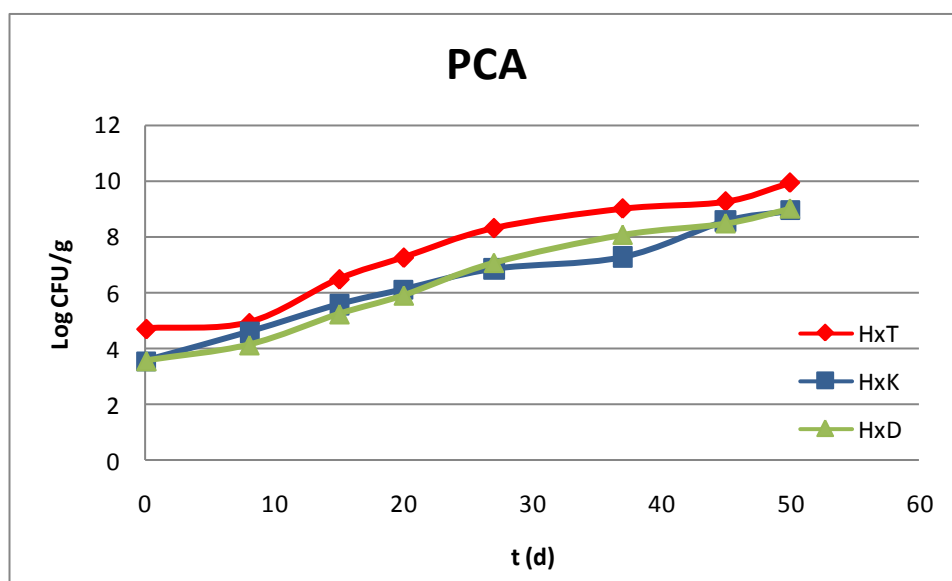
Συνολικά για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης, τα αποτελέσματα για την ολική μικροβιακή χλωρίδα και τα Οξυγαλακτικά Βακτήρια παρουσιάζουν αντίστοιχες μεταβολές, τα αντιμικροβιακά παρέχουν προστασία ως προς τις μικροβιολογικές αλλοιώσεις (τα δείγματα με ενσωματωμένα αντιμικροβιακά στη μεμβράνη χιτοζάνης διατηρούνται καλύτερα από εκείνα με απλή μεμβράνη), ενώ τέλος μεταξύ των δύο αντιμικροβιακών ο κορίανδρος παρέχει καλύτερη αντιμικροβιακή προστασία στα δείγματα έναντι του δενδρολίβανου κατά την αποθήκευση.

## 7.2.2 Δείγματα με επικάλυψη HPMC

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζονται οι μεταβολές των μικροβιολογικών παραμέτρων κατά την αποθήκευση των δειγμάτων τα οποία παρασκευάστηκαν με επικάλυψη εδώδιμης μεμβράνης HPMC και προσθήκη αντιμικροβιακής προσθετικής ουσίας σε αυτή (εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου), και συσκευάστηκαν υπό κενό.

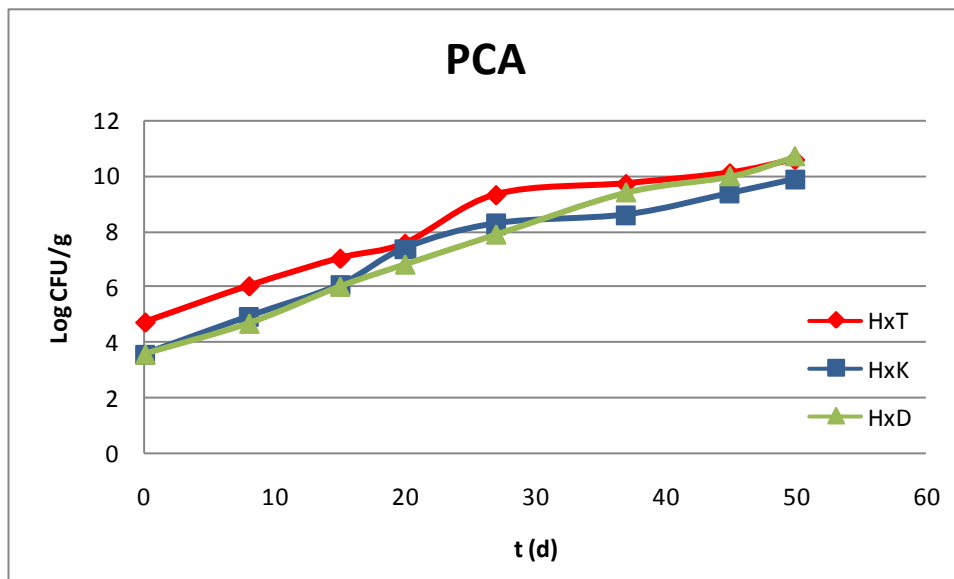
Στα διαγράμματα 7.7, 7.8, 7.9 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας (υπόστρωμα PCA) των με επικάλυψη μεμβράνης HPMC και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις τρεις θερμοκρασίες 0, 4, 8°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



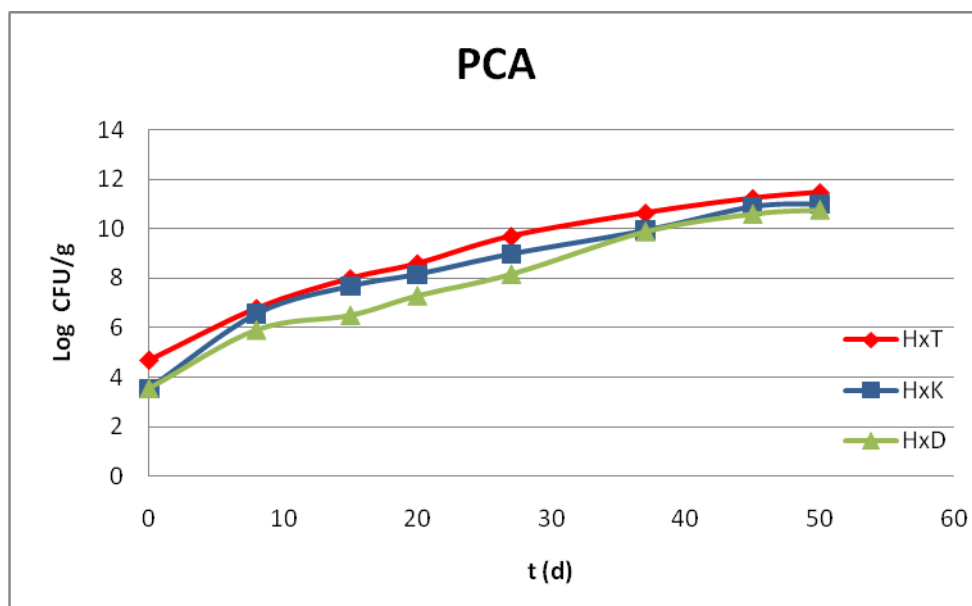
Εικόνα 7.7: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με επικάλυψη HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.8: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.9: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8°C.

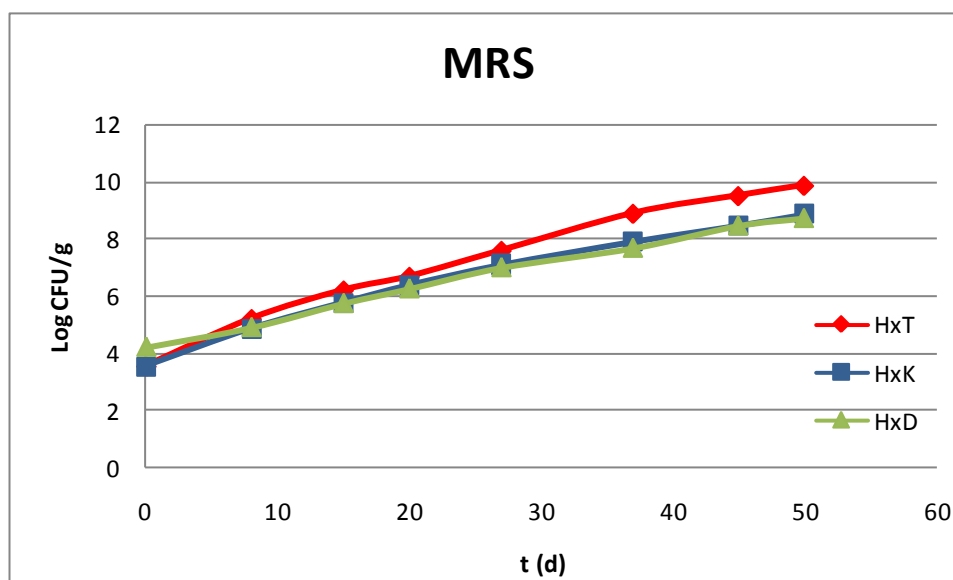
Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι και τα δύο αντιμικροβιακά που δοκιμάστηκαν, κορίανδρος και δενδρολίβανο ενσωματωμένα στο ΗΡΜC, έδωσαν παρόμοια μικροβιακή μεταβολή και για τις τρεις θερμοκρασίες

αποθήκευσης. Η σειρά πειραμάτων με επικάλυψη HPMC χωρίς προσθετική ουσία (τυφλό) εμφανίζει εντονότερη μικροβιακή μεταβολή σε σύγκριση με τις άλλες δύο σειρές που περιέχουν τα αντιμικροβιακά ενσωματωμένα στη μεμβράνη.

Η μεμβράνη, το αντιμικροβιακό καθώς και η θερμοκρασία αποθήκευσης δεν έδειξε να επιδρούν στατιστικά σημαντικά στην ολική μικροβιακή χλωρίδα (υπόστρωμα PCA).

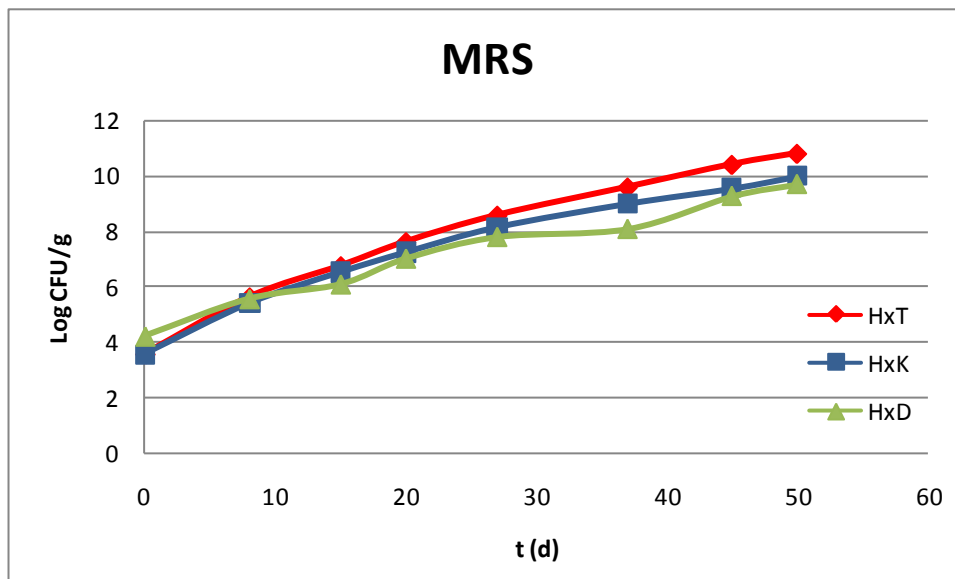
Στα διαγράμματα 7.10, 7.11 και 7.12 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο του αριθμού των Οξυγαλακτικών Βακτηρίων (υπόστρωμα MRS) των δειγμάτων με επικάλυψη μεμβράνης HPMC και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



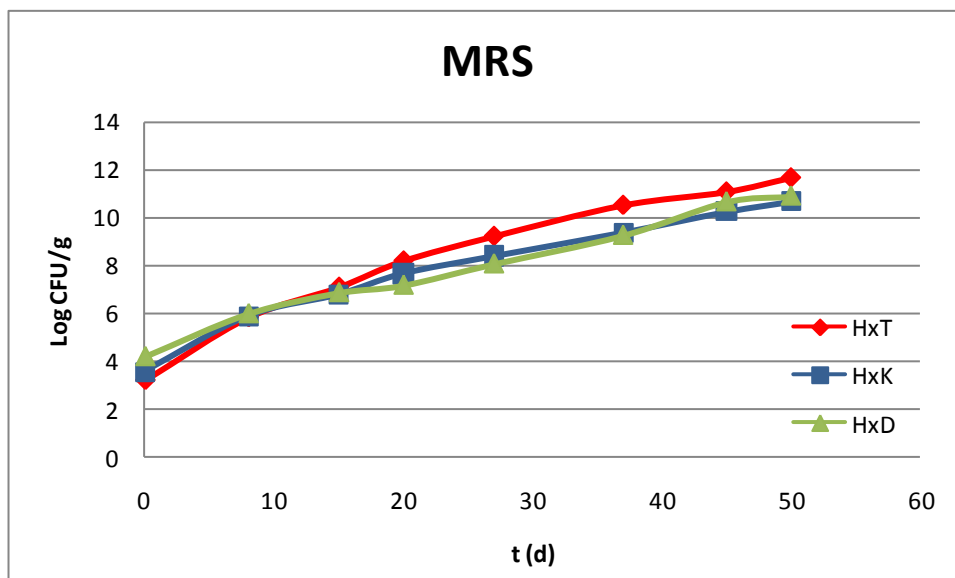
Εικόνα 7.10: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με επικάλυψη HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.11: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με επικάλυψη HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.12: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με επικάλυψη HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι οι σειρές πειραμάτων με τον κορίανδρο και το δενδρολίβανο ενσωματωμένο στο ΗΡΜC εμφάνισαν παρόμοια μικροβιολογική μεταβολή και για τις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Η σειρά πειραμάτων με επικάλυψη ΗΡΜC χωρίς προσθετική ουσία (τυφλό) εμφανίζει εντονότερη μικροβιακή μεταβολή σε σύγκριση με τις άλλες δύο σειρές που περιέχουν τα αντιμικροβιακά ενσωματωμένα στη μεμβράνη.

Από τη στατιστική ανάλυση αποδείχτηκε ότι η μεμβράνη ΗΡΜC επιδρά σημαντικά στατιστικά ( $P<0,05$ ) στο φορτίο των Οξυγαλακτικών Βακτηρίων. Επίσης, ο χρόνος αποθήκευσης επιδρά σημαντικά ( $P<0,05$ ) στην παράμετρο αυτή, και συγκεκριμένα μετά τις πρώτες 20 ημέρες αυξάνει σημαντικά ο αριθμός οξυγαλακτικών βακτηρίων.

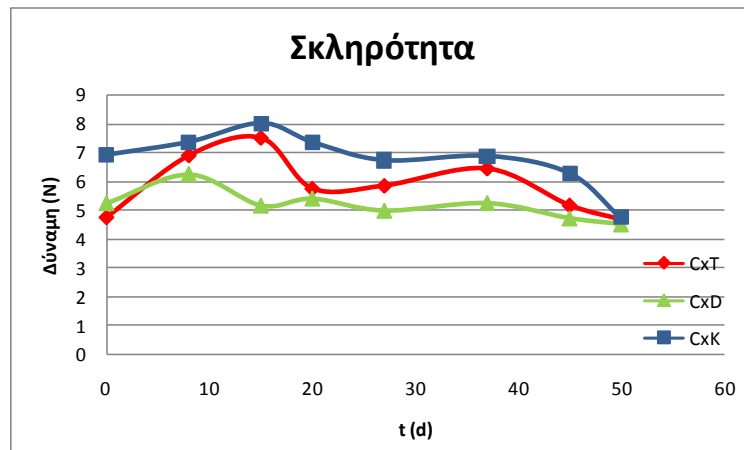
Συνολικά για τα δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC, τα αποτελέσματα για την ολική μικροβιακή χλωρίδα και τα Οξυγαλακτικά Βακτήρια παρουσιάζουν αντίστοιχες μεταβολές, τα αντιμικροβιακά παρέχουν προστασία ως προς τις μικροβιολογικές αλλοιώσεις.

### **7.2.3 Ποιοτικά χαρακτηριστικά-Αναλύσεις υφής και χρώματος**

Στα διαγράμματα 7.13, 7.14, 7.15 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο της σκληρότητας των δειγμάτων με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις τρεις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C, που προέκυψαν από τις μετρήσεις του αναλυτή υφής.

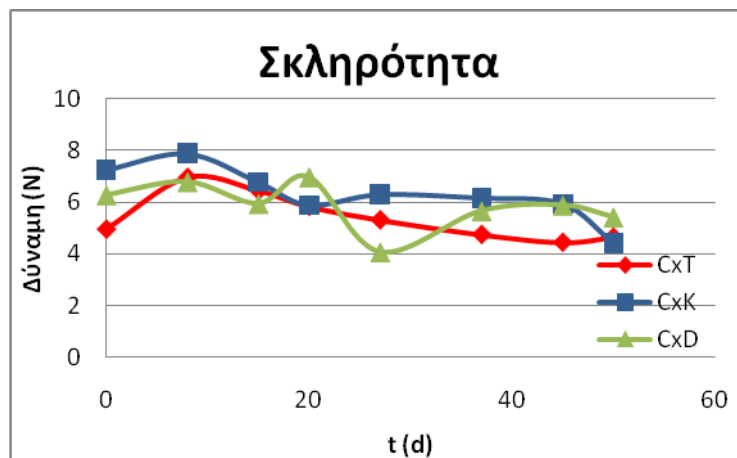


Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



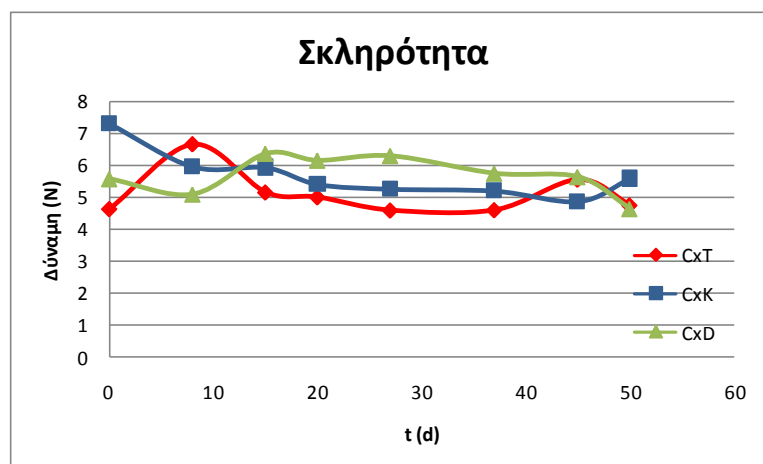
Εικόνα 7.13: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.14: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

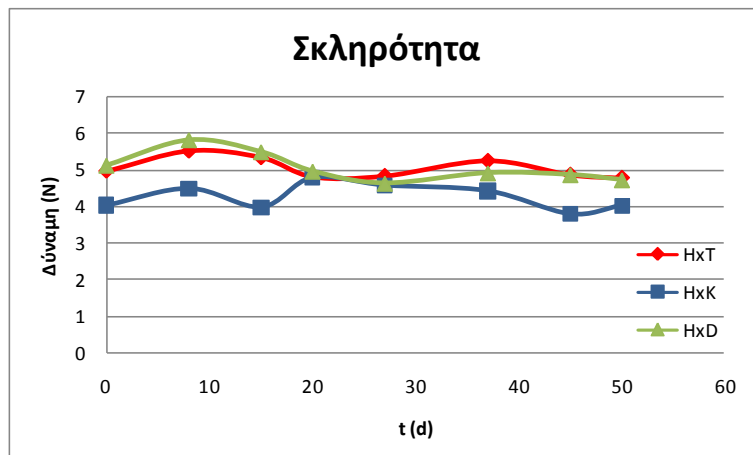


Εικόνα 7.15: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8°C.

Παρατηρείται ότι γενικά η σκληρότητα των δειγμάτων παραμένει σχεδόν στις ίδιες τιμές σε όλες τις σειρές δειγμάτων, με ελάχιστη τάση μείωσης της συναρτήσεως του χρόνου και στις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Στους 0°C το δείγμα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο κορίανδρο στη μεμβράνη, εμφανίζει μεγαλύτερη σκληρότητα σε σχέση με τις άλλες δύο σειρές.

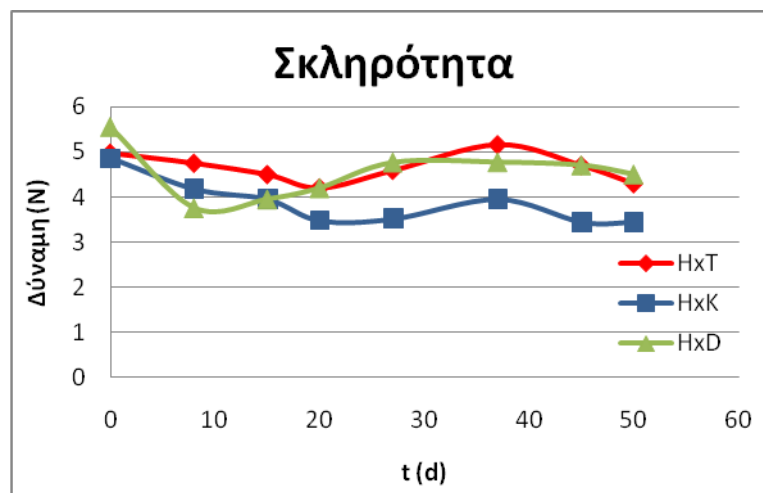
Στα διαγράμματα 7.16, 7.17, 7.18 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο της σκληρότητας των δειγμάτων με επικάλυψη HPMC και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις τρεις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C, που προέκυψαν από τις μετρήσεις του αναλυτή υφής.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



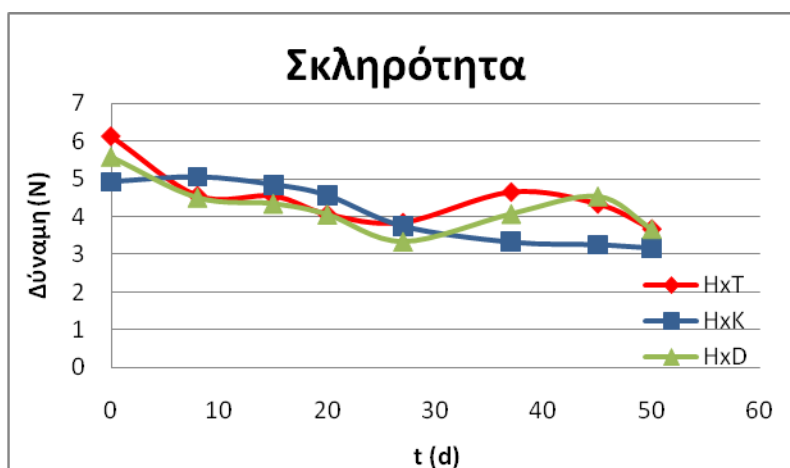
Εικόνα 7.16: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς επικάλυψη με HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.17: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς επικάλυψη με HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

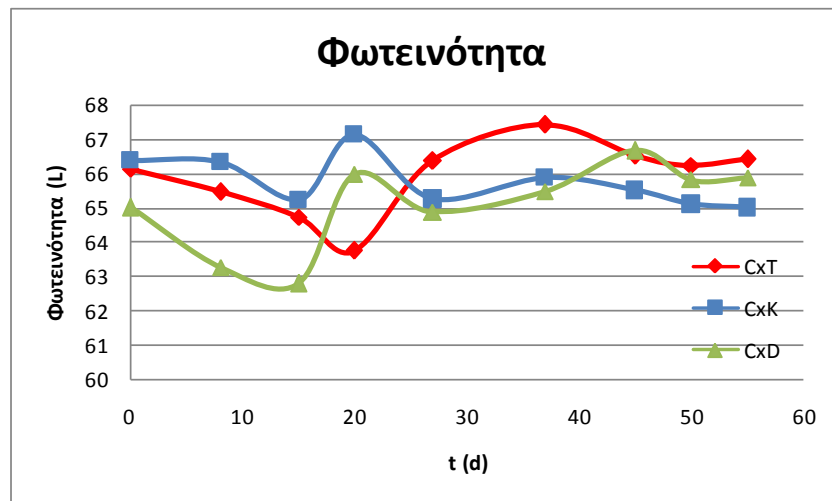


Εικόνα 7.18: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς επικάλυψη με HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα προκύπτει ότι η σκληρότητα παραμένει σχεδόν στις ίδιες τιμές σε όλα τα δείγματα με επικάλυψη HPMC και ενσωμάτωση αντιμικροβιακού, κορίανδρου και δενδρολίβανου και για τις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Η μεμβράνη δείχνει να επιδρά σημαντικά στατιστικά στη σκληρότητα.

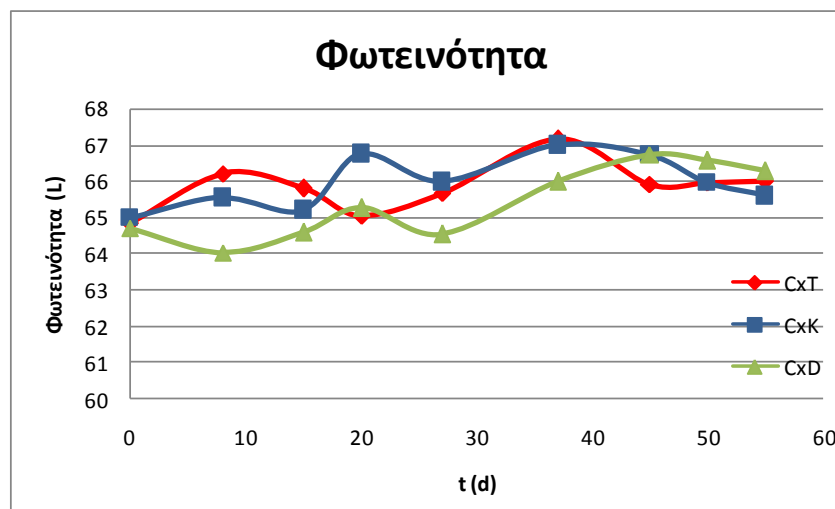
Στη συνέχεια, τα διαγράμματα 7.19-7.24 παρουσιάζουν την εξέλιξη ως προς τον χρόνο της φωτεινότητας (L) και του ολικού χρώματος (ΔΕ) για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



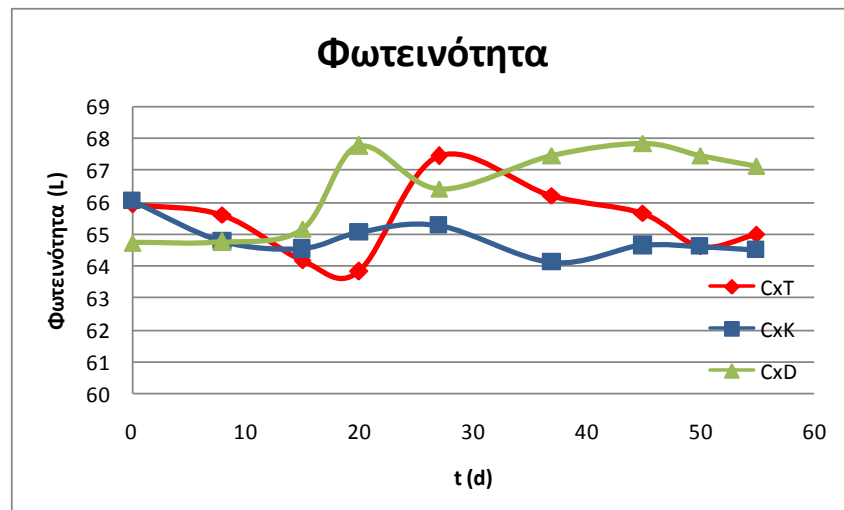
Εικόνα 7.19: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.20: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4°C.

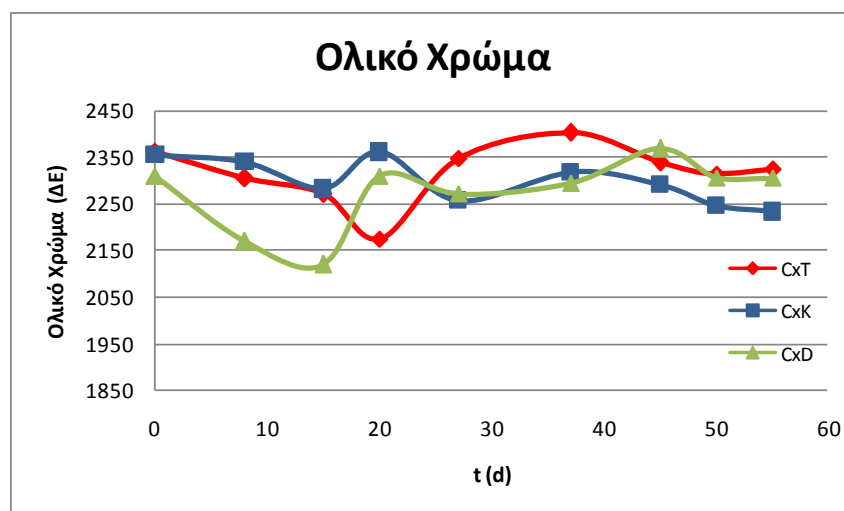
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.21: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8°C.

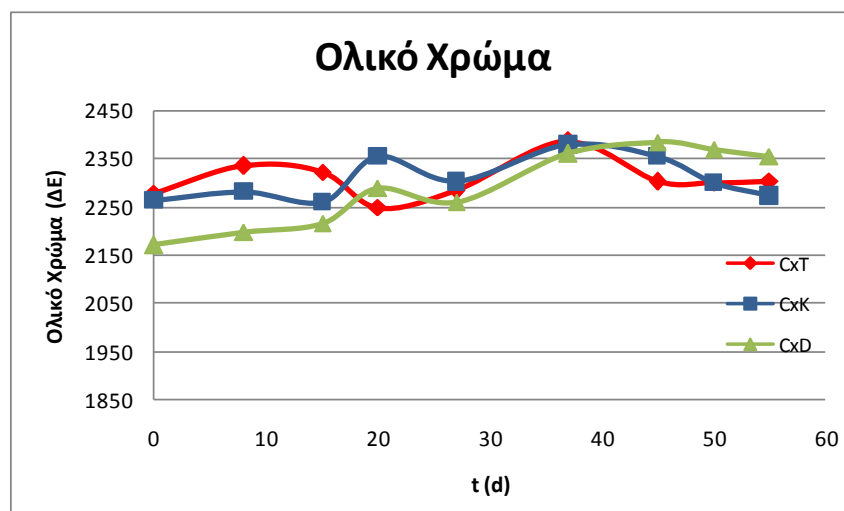
Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι οι τιμές φωτεινότητας των δειγμάτων χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, με τις μέσες τιμές να διατηρούνται σε σχετικά σταθερά επίπεδα.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



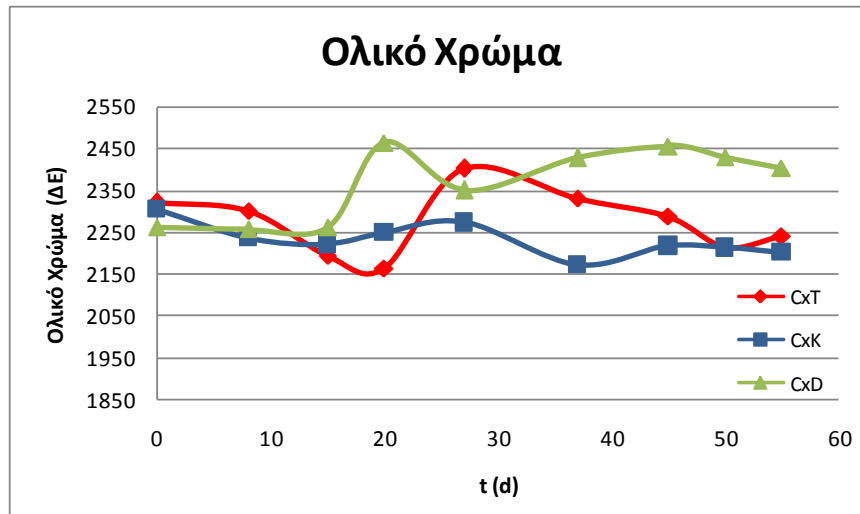
Εικόνα 7.22: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.23: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

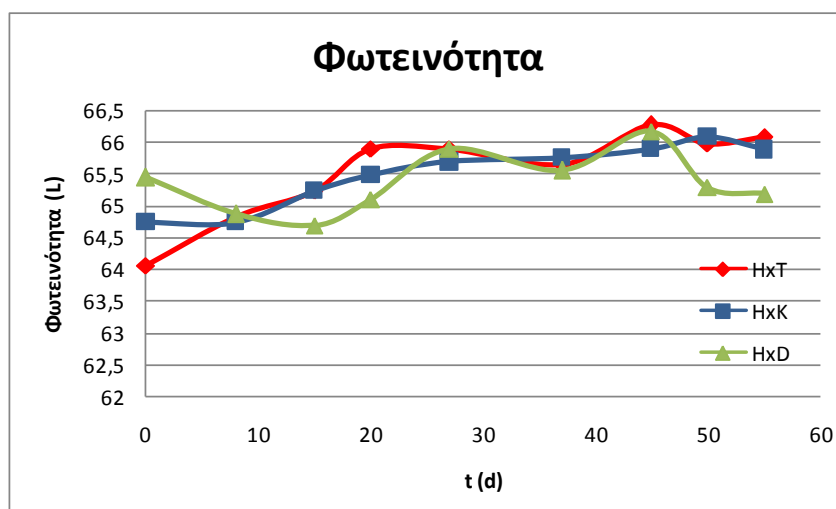


Εικόνα 7.24: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς επικάλυψη με χιτοζάνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό σε αυτή στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι οι τιμές του ολικού χρώματος για τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό, κορίανδρο και δενδρολίβανο, χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, με τις μέσες τιμές να διατηρούνται σε σχετικά σταθερά επίπεδα.

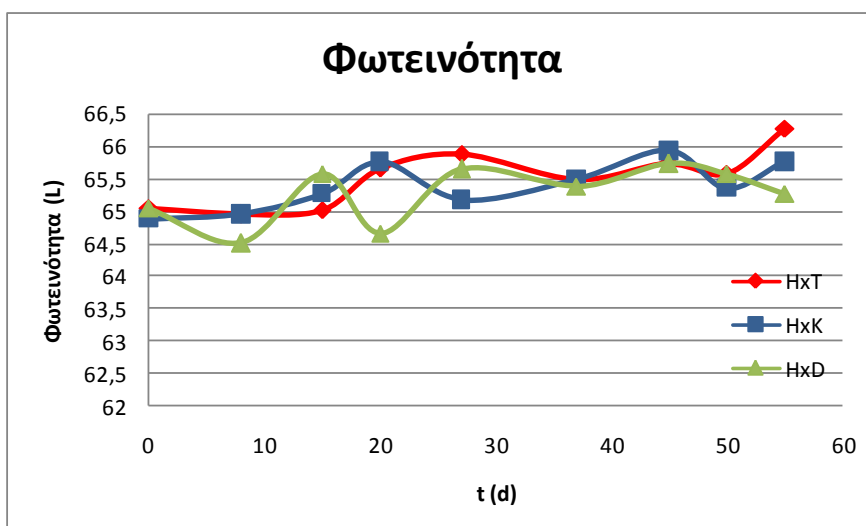
Τα διαγράμματα 7.25-7.30 παρουσιάζουν την εξέλιξη ως προς τον χρόνο της φωτεινότητας (L) και του ολικού χρώματος (ΔΕ) για τα δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό, κορίανδρο και δενδρολίβανο, κατά την αποθήκευση στις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.25: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς επικάλυψη με ΗΡΜC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στη μεμβράνη στους 0°C.

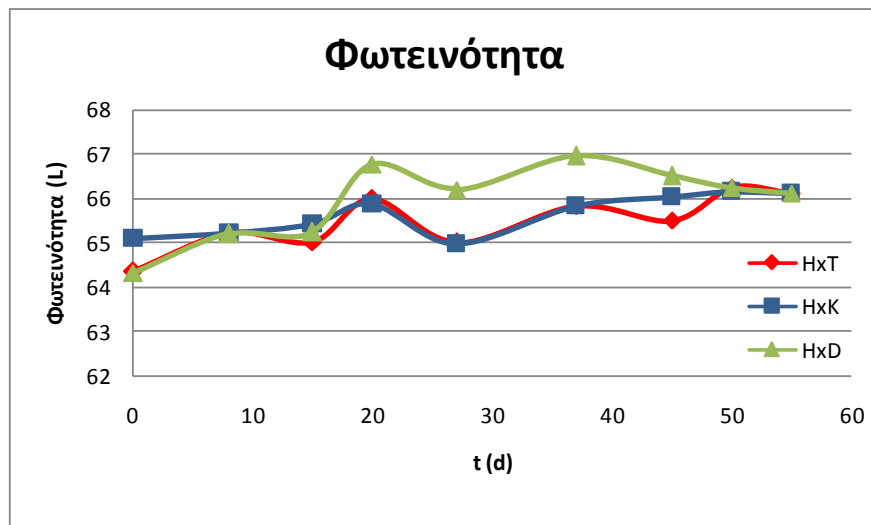
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.26: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς επικάλυψη με ΗΡΜC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στη μεμβράνη στους 4°C.



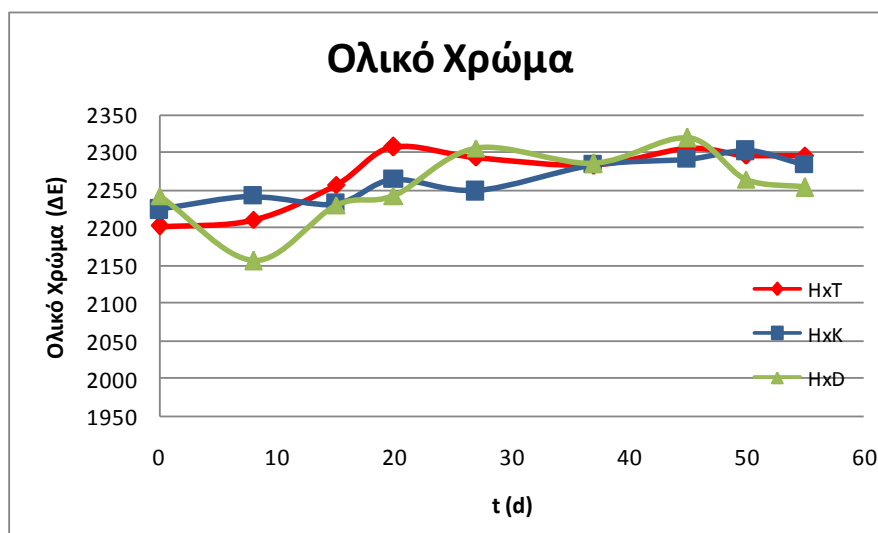
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.27: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς επικάλυψη με HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στη μεμβράνη στους 8°C.

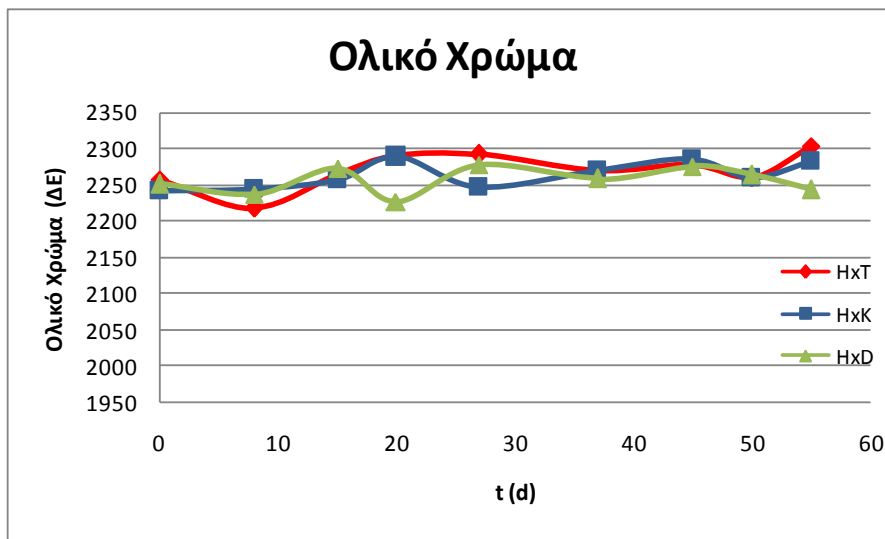
Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι οι τιμές φωτεινότητας των δειγμάτων χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, με τις μέσες τιμές να διατηρούνται σε σχετικά σταθερά επίπεδα.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



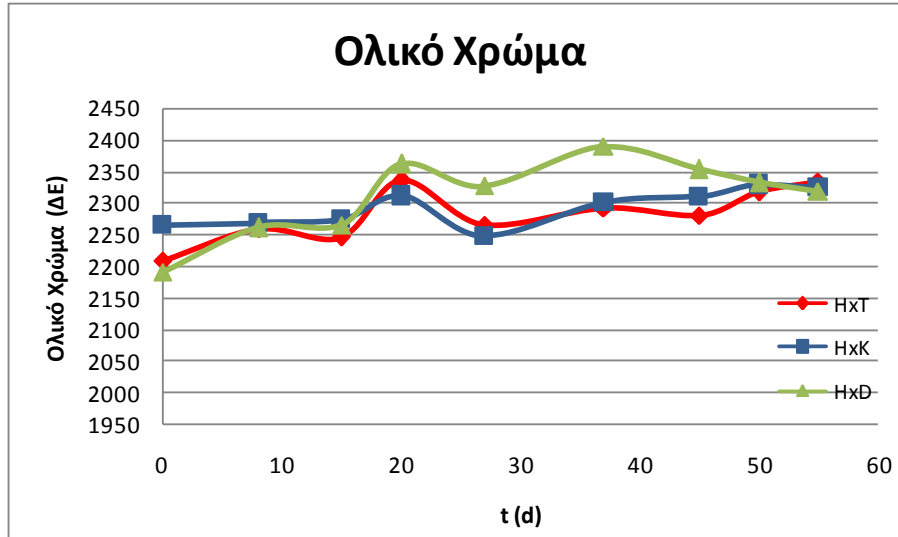
Εικόνα 7.28: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς επικάλυψη με HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στη μεμβράνη στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.29: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς επικάλυψη με HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στη μεμβράνη στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.30: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς επικάλυψη με HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στη μεμβράνη στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι οι τιμές του ολικού χρώματος για τα δείγματα με επικάλυψη HPMC και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό,

κορίανδρο και δενδρολίβανο, χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, με τις μέσες τιμές να διατηρούνται σε σχετικά σταθερά επίπεδα.

Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση αποδείχτηκε ότι για τα δείγματα που είναι επικαλυμμένα με μεμβράνη και ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό, κορίανδρο και δενδρολίβανο, ο χρόνος αποθήκευσης επιδρά σημαντικά στατιστικά ( $P < 0,01$ ) στο χρώμα τους και συγκεκριμένα μετά τις 20 ημέρες αυξάνει σημαντικά η τιμή της φωτεινότητάς τους.

### **7.3 Αποτελέσματα με βάση τις φυσικές αντιμικροβιακές ουσίες**

#### **7.3.1 Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου**

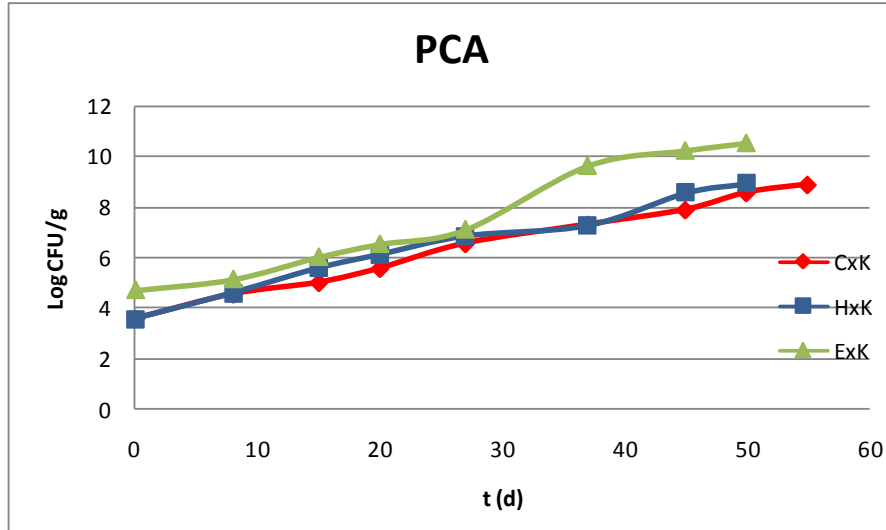
Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζονται οι μεταβολές των μικροβιολογικών παραμέτρων κατά την αποθήκευση των δειγμάτων, τα οποία παρασκευάστηκαν με ενσωματωμένο εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου είτε σε εδωδιμη μεμβράνη χιτοζάνης και HPMC είτε στην κρεατόμαζα και συσκευάστηκαν υπό κενό.

#### **Υπόστρωμα PCA**

Στα διαγράμματα 7.31-7.36 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας (υπόστρωμα PCA) των δειγμάτων με εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου ενσωματωμένο είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης και HPMC, είτε μέσα στην κρεατόμαζα, κατά την αποθήκευσή τους στις θερμοκρασίες 0, 4, 8°C.

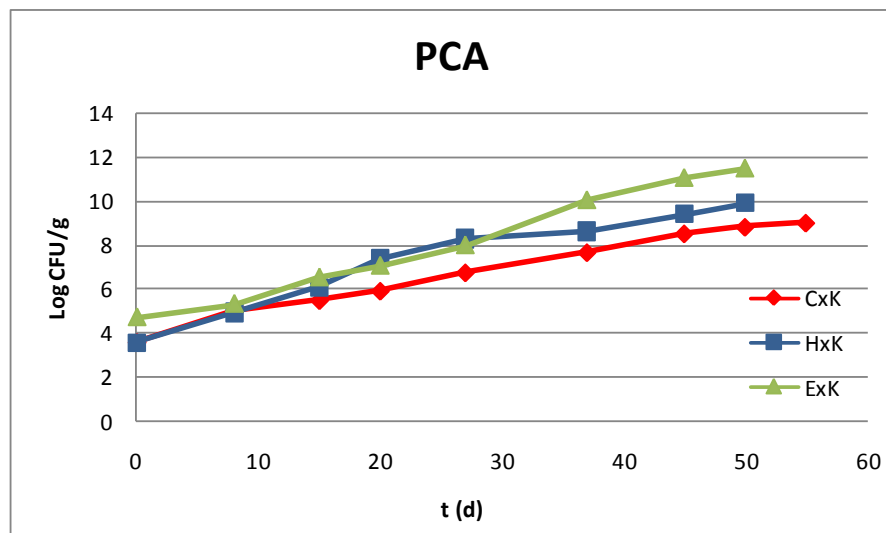
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



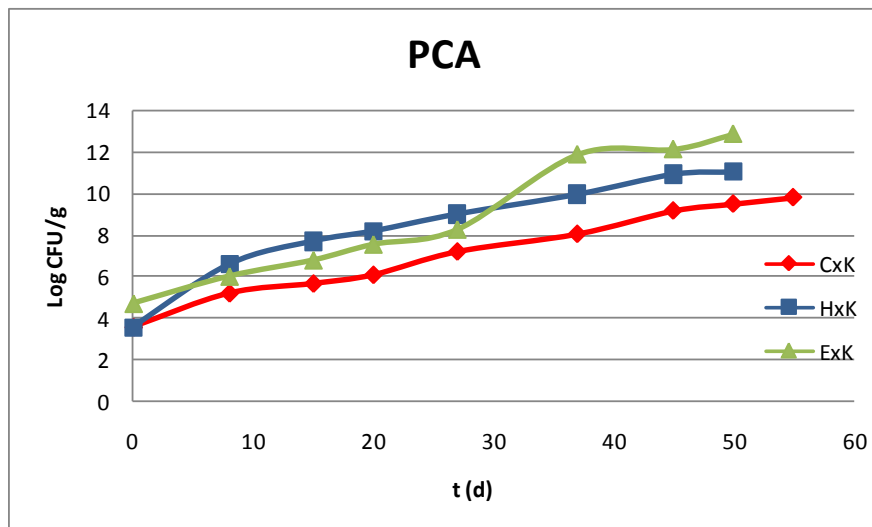
Εικόνα 7.31: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.32: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 4°C.

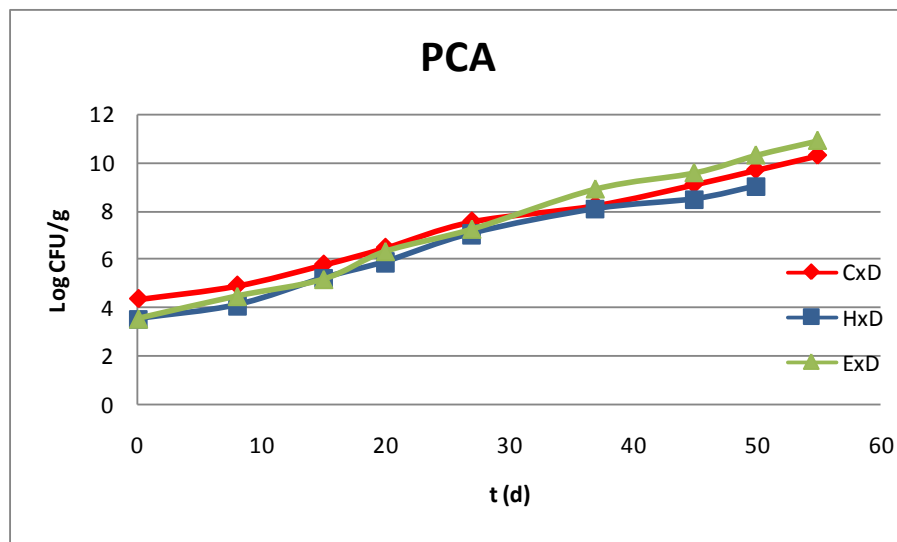
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.33: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κοριάνδρου στους 8°C.

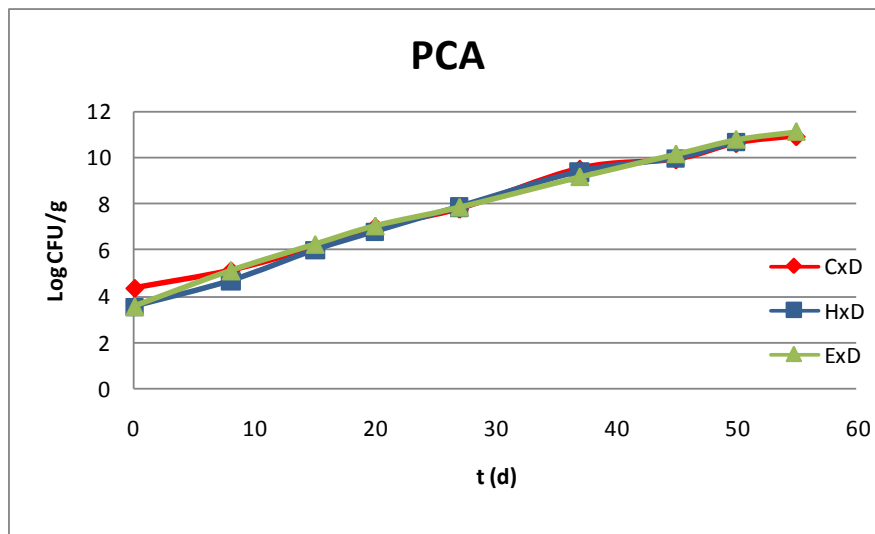
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



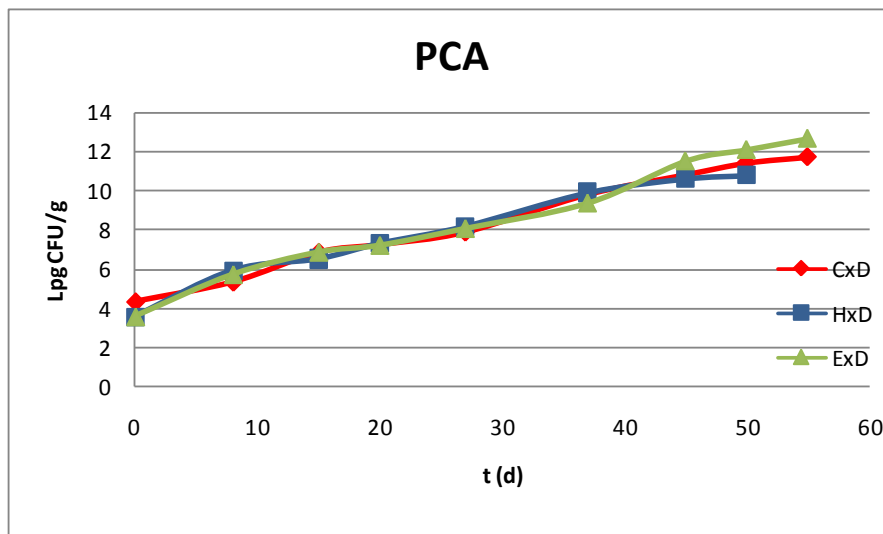
Εικόνα 7.34: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.35: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.36: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων PCA για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου φαίνεται ότι τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν οι σειρές πειραμάτων με τον κορίανδρο ενσωματωμένο στις επικαλυπτικές μεμβράνες, χιτοζάνης και HPMC, σε σχέση με τη σειρά, όπου ο κορίανδρος

ήταν ενσωματωμένος μέσα στην κρεατόμαζα. Η σειρά πειραμάτων με τον κορίανδρο ενσωματωμένο στη μεμβράνη χιτοζάνης εμφάνισε πιο ήπια μικροβιολογική μεταβολή από τις αντίστοιχες που ο κορίανδρος ήταν ενσωματωμένος είτε στη μεμβράνη ΗΡΜC είτε μέσα στην κρεατόμαζα.

Από τα διαγράμματα για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου φαίνεται ότι και οι τρεις σειρές πειραμάτων με το δενδρολίβανο ενσωματωμένο είτε στις επικαλυπτικές μεμβράνες είτε μέσα στην κρεατόμαζα εμφανίζουν παρόμοια μικροβιολογική μεταβολή.

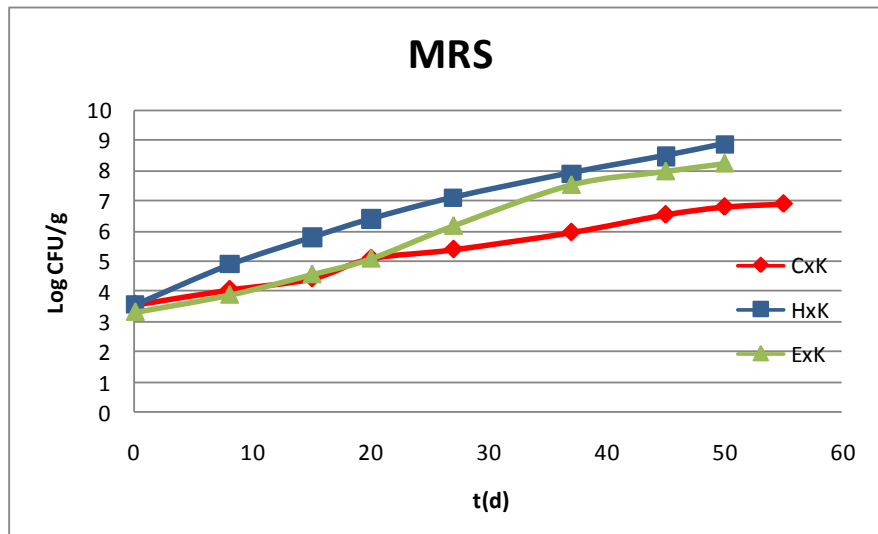
Από τη στατιστική ανάλυση, για τα δείγματα που περιέχουν ενσωματωμένο εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη είτε μέσα στην κρεατόμαζα, η θερμοκρασία επιδρά σημαντικά στατιστικά ( $P < 0,05$ ) στην ολική μικροβιακή χλωρίδα (υπόστρωμα PCA). Επίσης, ο χρόνος αποθήκευσης επιδρά σημαντικά ( $P < 0,05$ ) στην παράμετρο αυτή, και συγκεκριμένα μετά τις πρώτες 20 ημέρες και για θερμοκρασίας αποθήκευσης 8°C αυξάνει σημαντικά το φορτίο της ολικής μικροβιακής χλωρίδας.

### **Υπόστρωμα MRS**

Στα διαγράμματα 7.37-7.42 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο του αριθμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων (υπόστρωμα MRS των δειγμάτων με εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου ενσωματωμένο είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης και ΗΡΜC, είτε μέσα στην κρεατόμαζα, κατά την αποθήκευση στις θερμοκρασίες 0, 4 και 8°C.

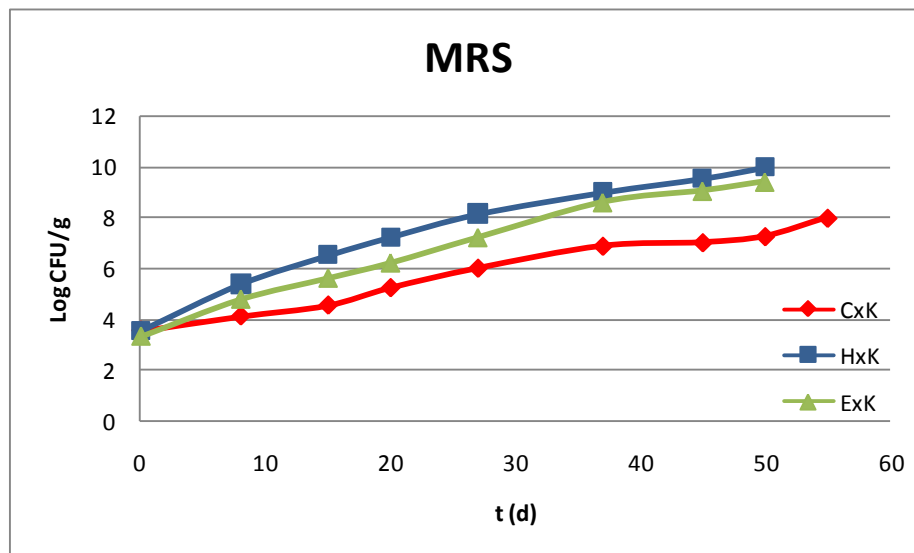
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.37: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 0°C.

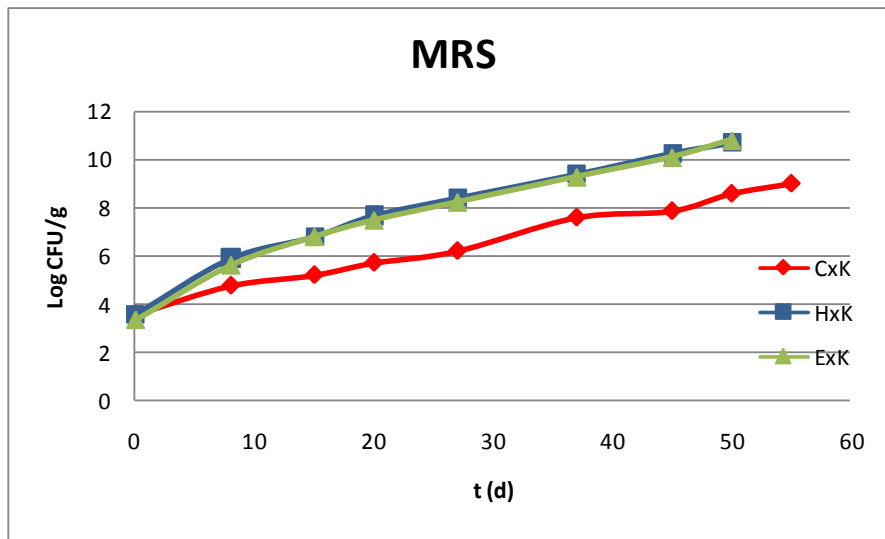
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.38: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 4°C.



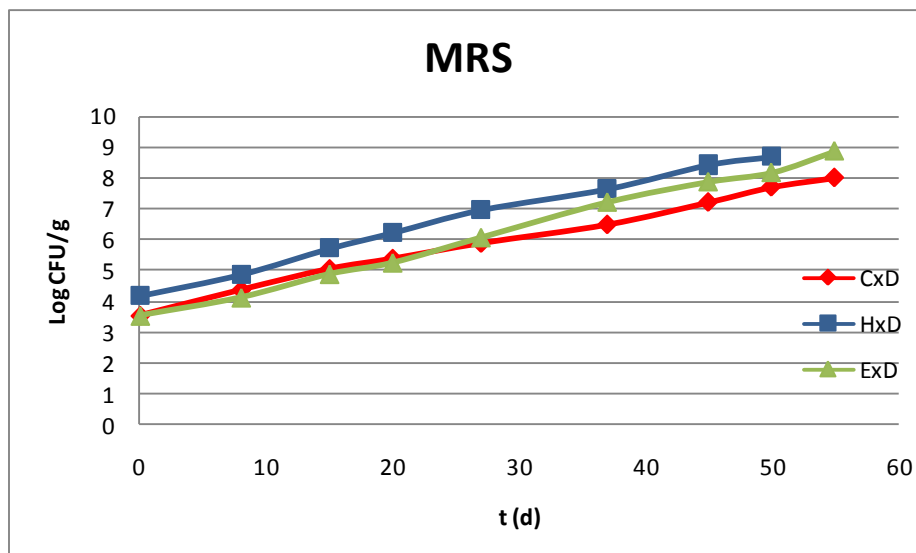
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.39: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κοριάνδρου στους 8°C.

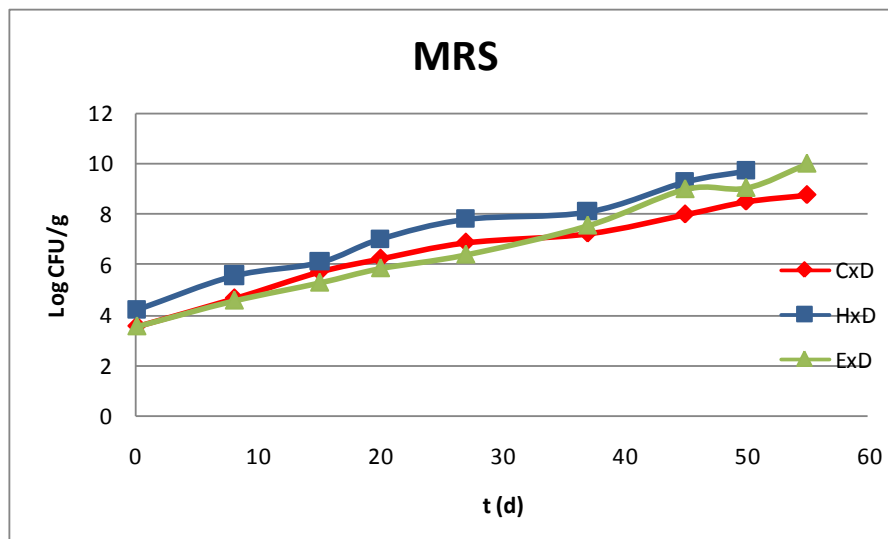
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



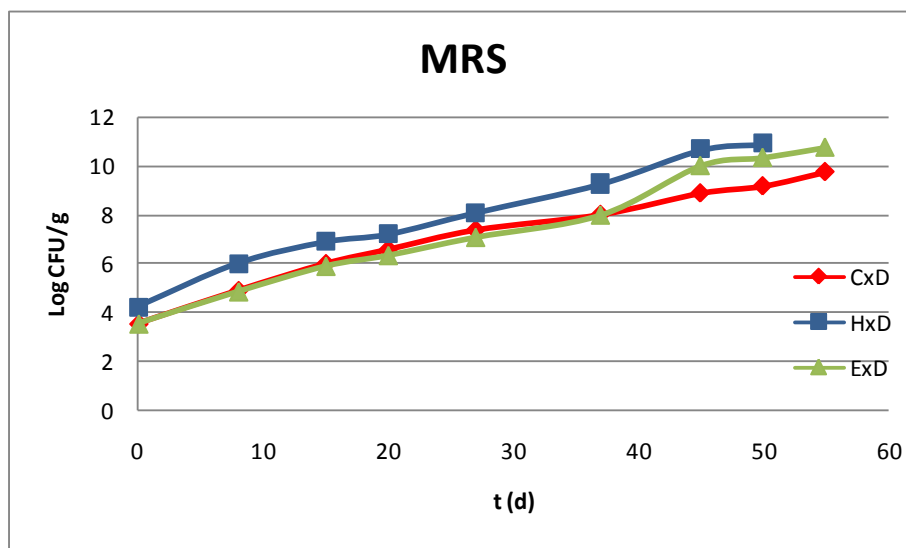
Εικόνα 7.40: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.41: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.42: Διάγραμμα μικροβιακών αναλύσεων MRS για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου φαίνεται ότι τα καλύτερα αποτελέσματα συντήρησης έδωσαν οι σειρές πειραμάτων με τον κορίανδρο ενσωματωμένο στην επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης και για τις τρεις θερμοκρασίες

αποθήκευσης. Επιπλέον, τα δείγματα με ενσωματωμένο κορίανδρο μέσα στην κρεατόμαζα εμφάνισαν λίγο πιο ήπια μικροβιολογική μεταβολή από τα αντίστοιχα με επικάλυψη HPMC, κατά την αποθήκευσή τους σε θερμοκρασίες 0 και 4°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου φαίνεται ότι τα καλύτερα αποτελέσματα συντήρησης έδωσαν οι σειρές πειραμάτων με το δενδρολίβανο ενσωματωμένο είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης είτε μέσα στην κρεατόμαζα και για τις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης.

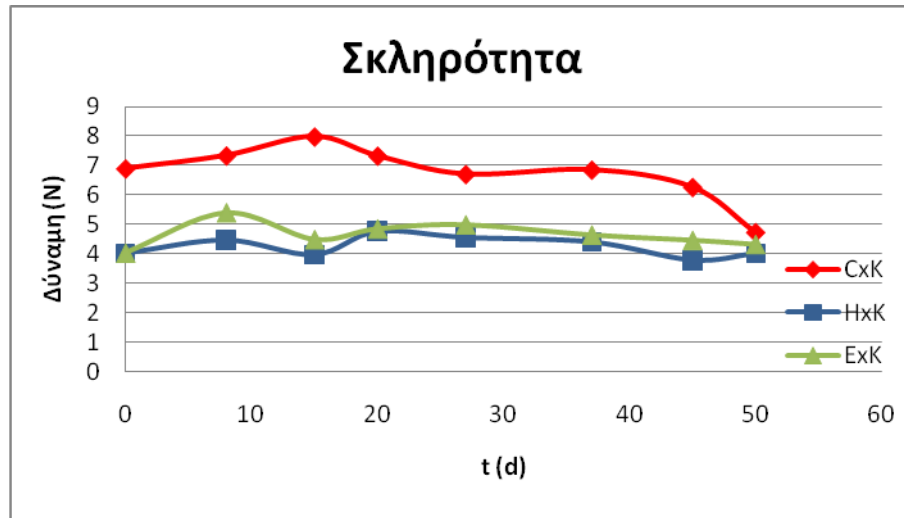
Από τη στατιστική ανάλυση, για τα δείγματα που περιέχουν ενσωματωμένο εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη είτε μέσα στην κρεατόμαζα, η θερμοκρασία επιδρά σημαντικά στατιστικά ( $P < 0,05$ ) στην ολική μικροβιακή χλωρίδα (υπόστρωμα PCA). Επίσης, ο χρόνος αποθήκευσης επιδρά σημαντικά ( $P < 0,01$ ) στην παράμετρο αυτή, και συγκεκριμένα μετά τις πρώτες 20 ημέρες και για θερμοκρασίας αποθήκευσης 8°C αυξάνει σημαντικά το φορτίο της ολικής μικροβιακής χλωρίδας.

### **Ποιοτικά χαρακτηριστικά-Αναλύσεις υφής και χρώματος**

Στα διαγράμματα 7.43-7.48 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο της σκληρότητας των δειγμάτων με εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου ενσωματωμένο είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης και HPMC, είτε μέσα στην κρεατόμαζα, κατά την αποθήκευσή τους στις θερμοκρασίες 0, 4, 8°C.

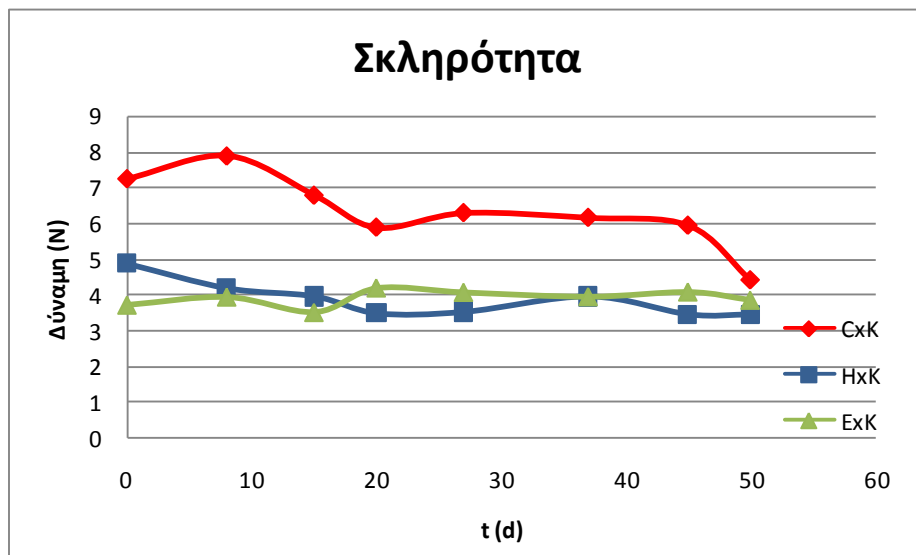
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



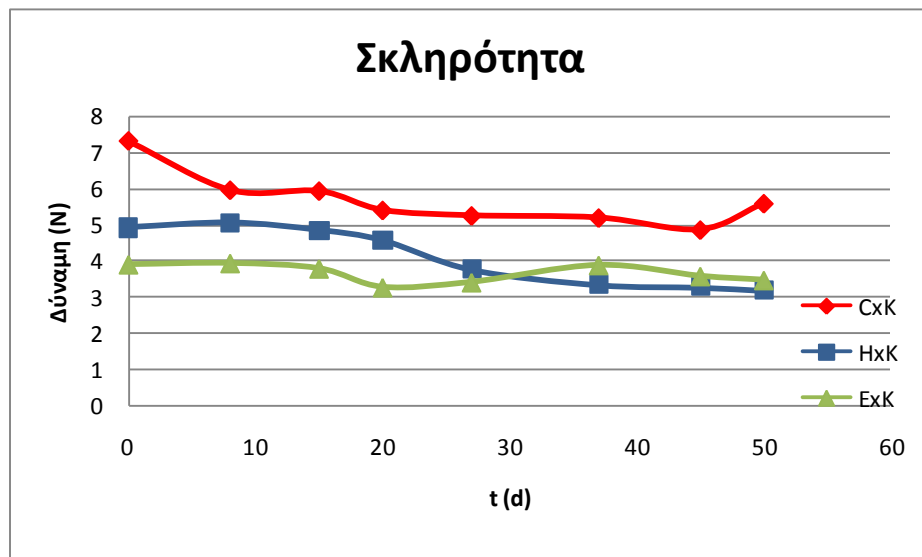
Εικόνα 7.43: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.44: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 4°C.

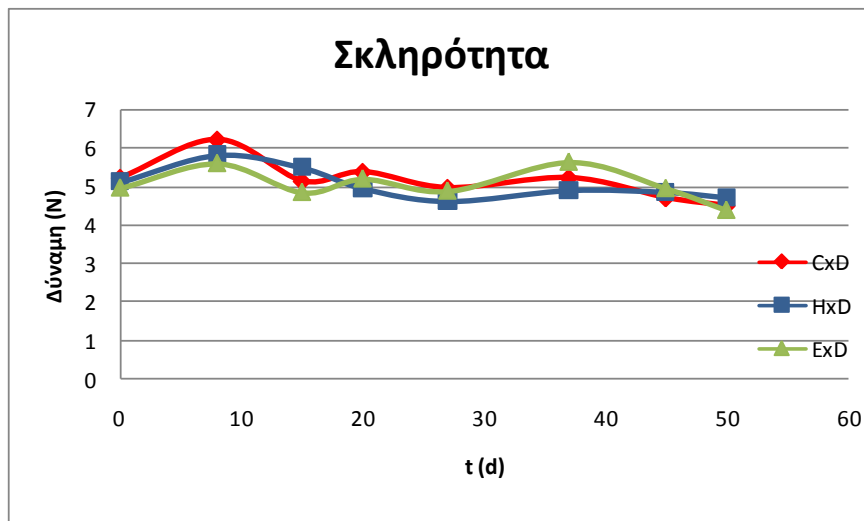
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.45: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κοριανδρού στους 8°C.

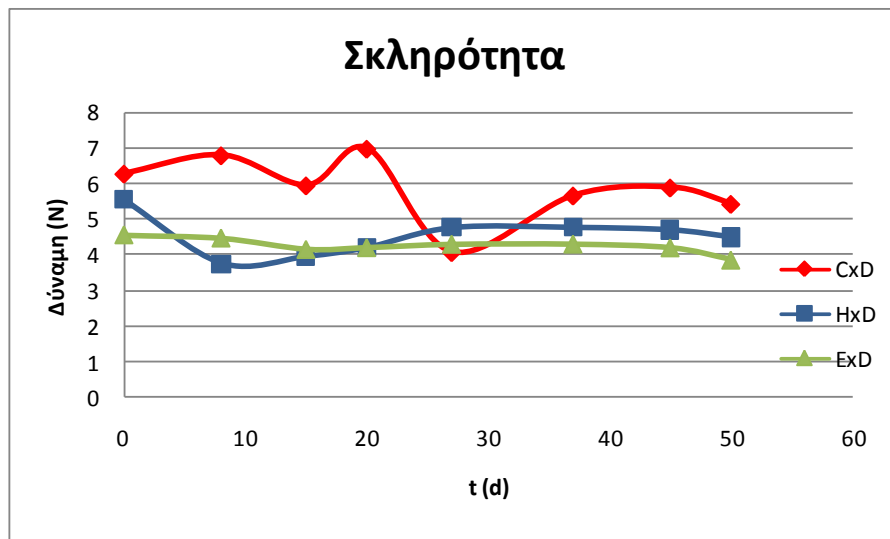
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



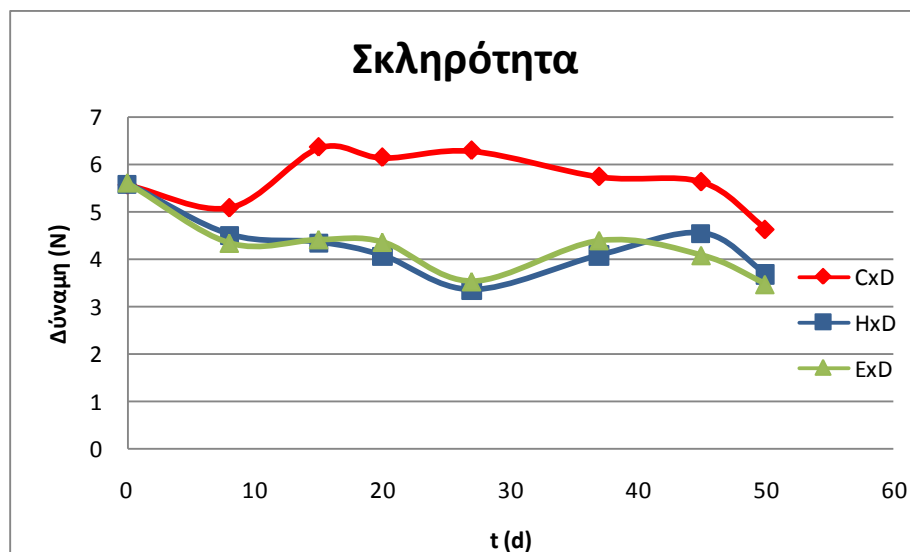
Εικόνα 7.46: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.47: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.48: Διάγραμμα ανάλυσης σκληρότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου φαίνεται ότι τα δείγματα με ενσωματωμένο κορίανδρο είτε στη μεμβράνη ΗΡΜC είτε μέσα στην κρεατόμαζα έδωσαν παρόμοια

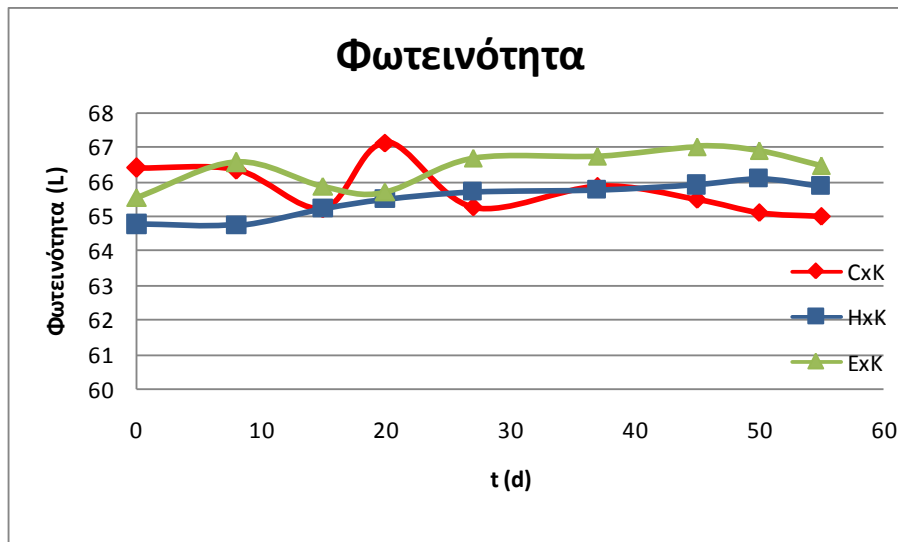
αποτελέσματα. Επίσης η σειρά δειγμάτων με τον κορίανδρο ενσωματωμένο στη μεμβράνη χιτοζάνης εμφάνισε μεγαλύτερη σκληρότητα σε όλες τις θερμοκρασίες. Όμοια αποτελέσματα εμφανίστηκαν για τα δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου.

Στατιστικά, για τα δείγματα με εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου, ενσωματωμένο είτε σε επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης και HPMC είτε μέσα στην κρεατόμαζα, η επικάλυψη μεμβράνης ή μη και η θερμοκρασία επιδρούν σημαντικά στατιστικά ( $P < 0,01$ ) στο ποιοτικό χαρακτηριστικό, σκληρότητα. Συγκεκριμένα, τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο είτε κορίανδρο είτε δενδρολίβανο, εμφανίζουν μεγαλύτερη σκληρότητα από εκείνα με το αντιμικροβιακό, κορίανδρο και δενδρολίβανο, ενσωματωμένο είτε στη μεμβράνη HPMC είτε μέσα στην κρεατόμαζα.

Στα διαγράμματα 7.49-7.60 παρουσιάζεται η εξέλιξη ως προς το χρόνο της φωτεινότητας και του ολικού χρώματος των δειγμάτων με εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου ενσωματωμένο είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης και HPMC, είτε μέσα στην κρεατόμαζα, κατά την αποθήκευσή τους στις θερμοκρασίες 0, 4, 8°C.

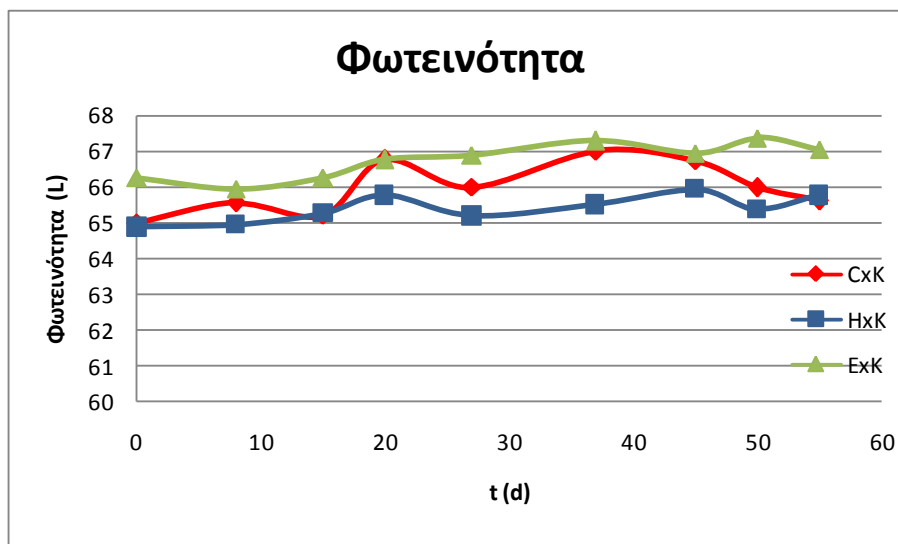
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.49: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 0°C.

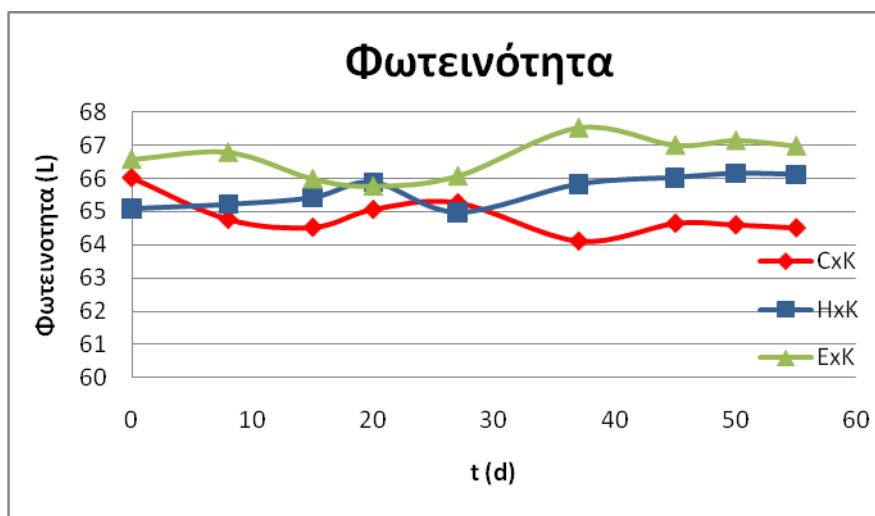
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.50: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 4°C.



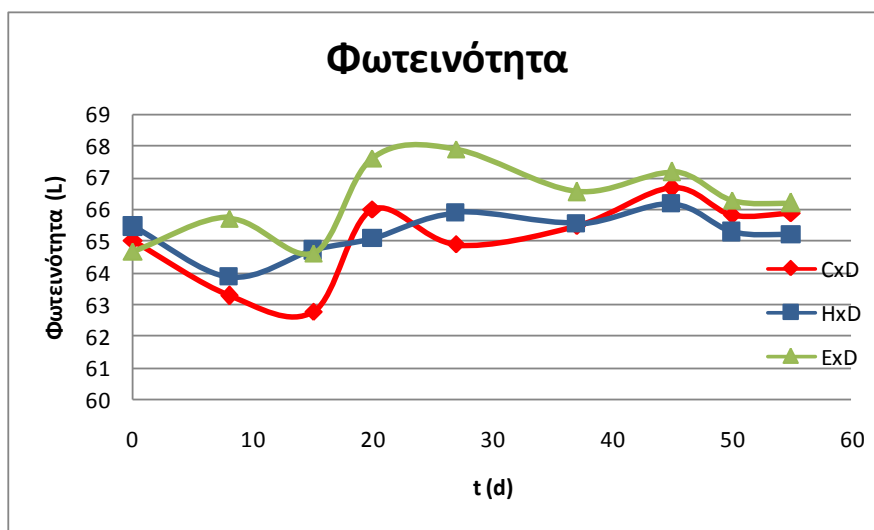
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.51: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 8°C.

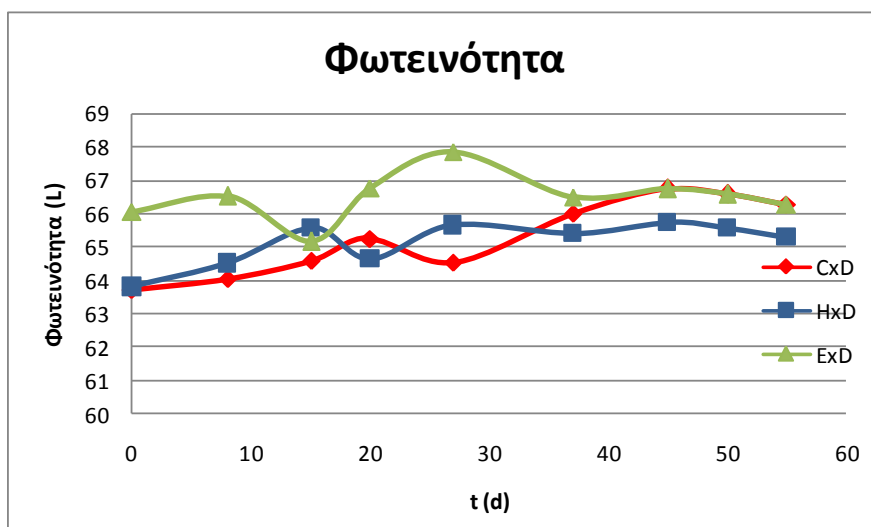
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



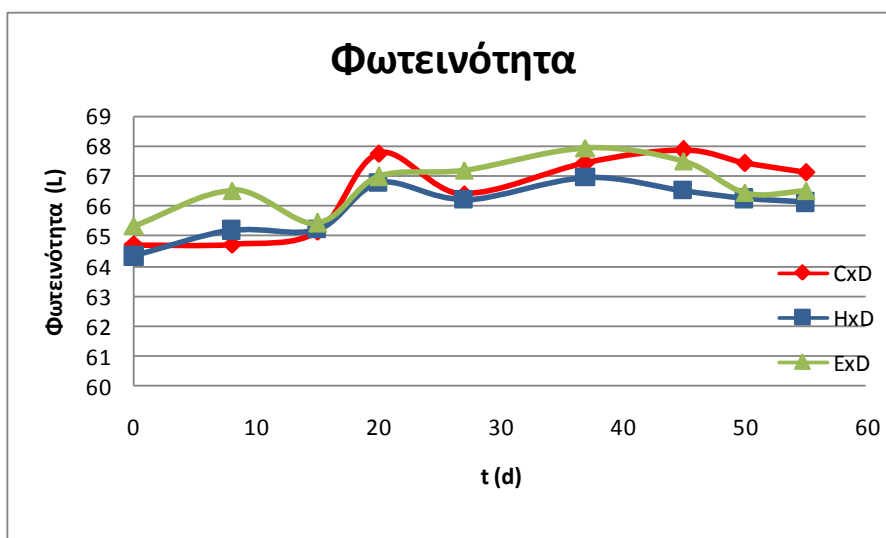
Εικόνα 7.52: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.53: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



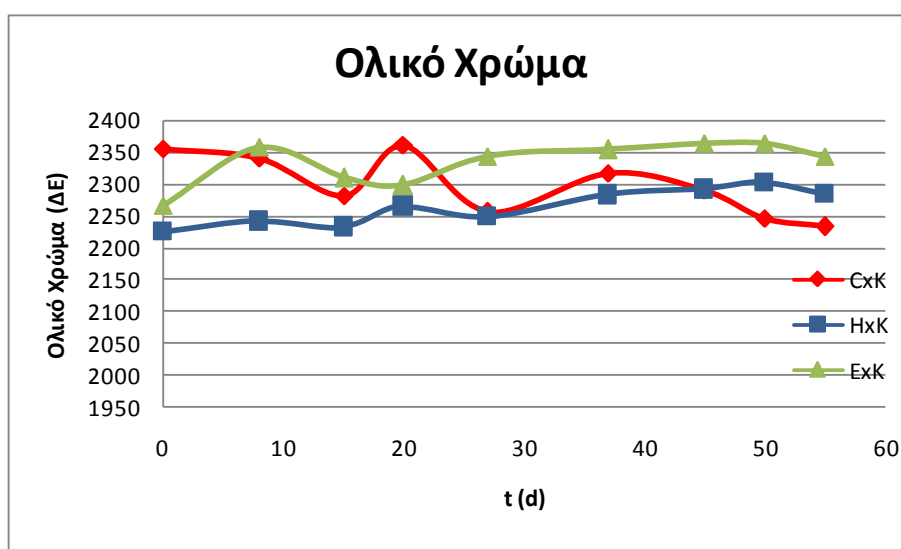
Εικόνα 7.54: Διάγραμμα ανάλυσης φωτεινότητας σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι οι τιμές φωτεινότητας των δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία, κορίανδρο και δενδρολίβανο,

χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, με τις μέσες τιμές να διατηρούνται σε σχετικά σταθερά επίπεδα.

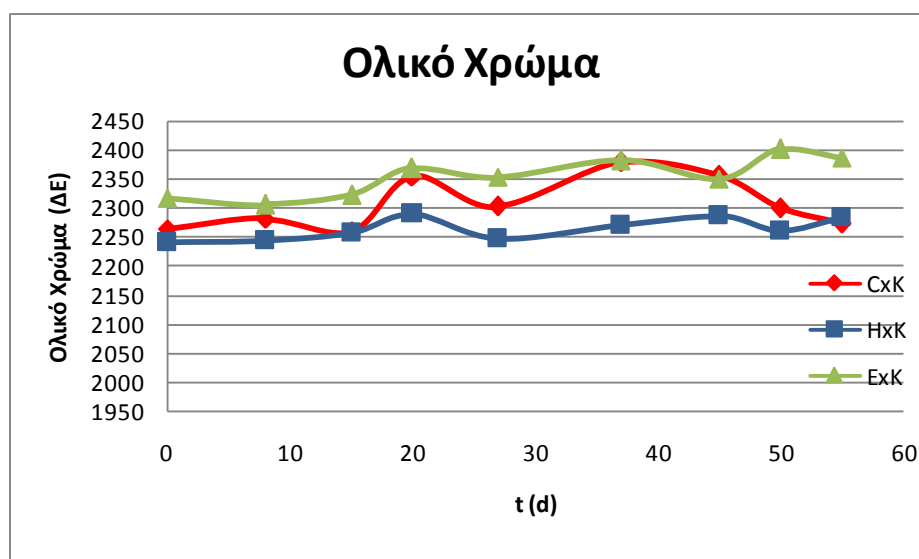
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



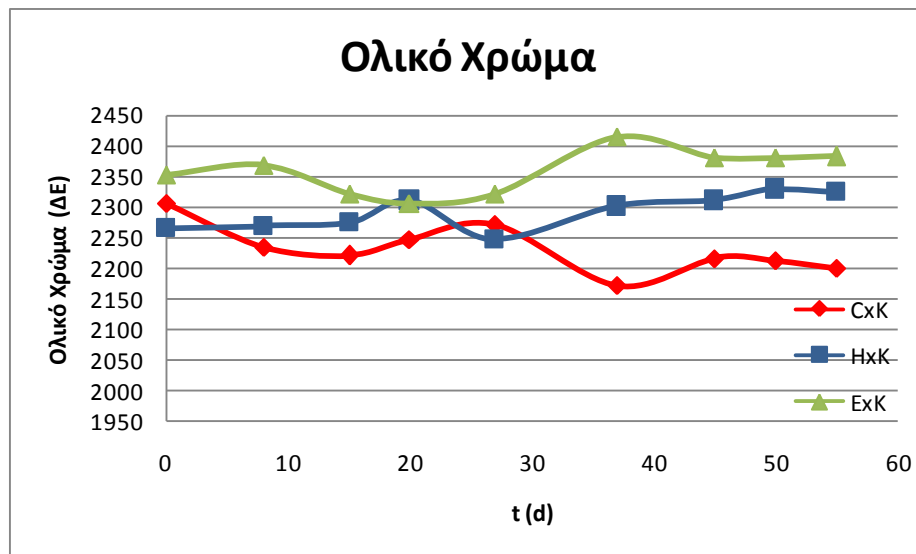
Εικόνα 7.55: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.56: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κορίανδρου στους 4°C.

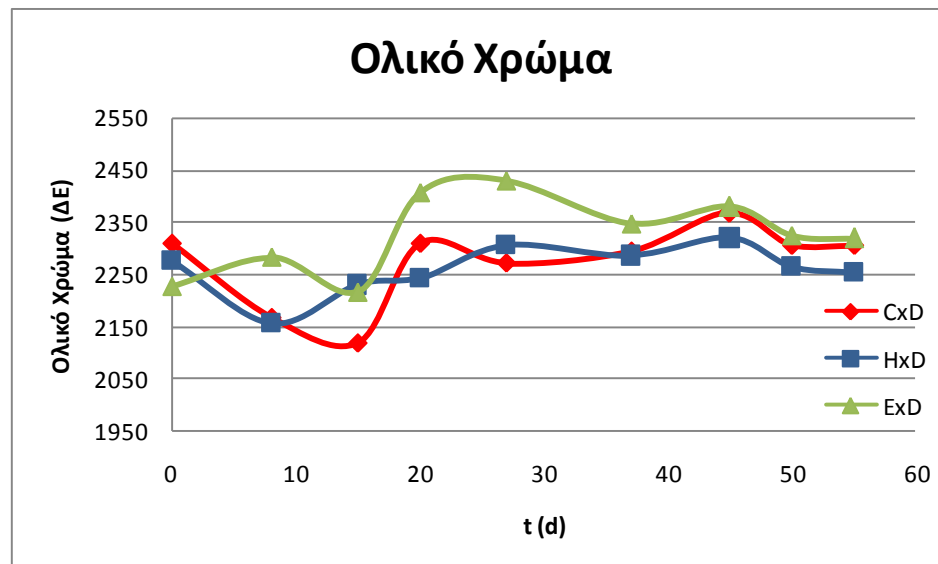
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.57: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα κοριάνδρου στους 8°C.

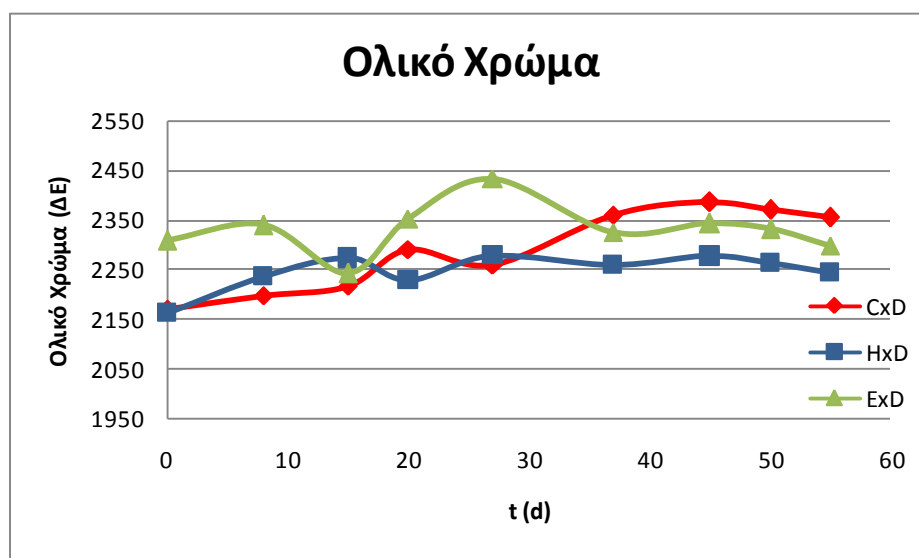
Δείγματα με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



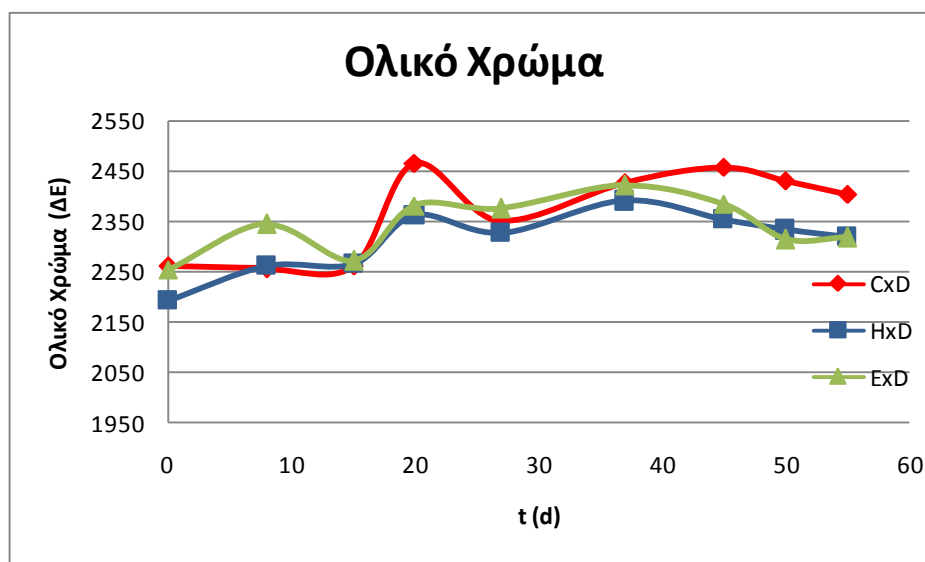
Εικόνα 7.58: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 0°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.59: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 4°C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.60: Διάγραμμα ανάλυσης ολικού χρώματος σειράς δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία εκχύλισμα δενδρολίβανου στους 8°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι οι τιμές φωτεινότητας των δειγμάτων με αντιμικροβιακή ουσία, κορίανδρο και δενδρολίβανο,, χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, με τις μέσες τιμές να διατηρούνται σε σχετικά σταθερά επίπεδα.

Από τη στατιστική ανάλυση των δειγμάτων με εκχύλισμα κορίανδρου και δενδρολίβανου ενσωματωμένο είτε στην επικαλυπτική μεμβράνη, χιτοζάνης και HPMC, είτε μέσα στην κρεατόμαζα αποδείχτηκε ότι η επικάλυψη μεμβράνης ή μη και ο χρόνος αποθήκευσης επιδρούν σημαντικά στατιστικά ( $P < 0,01$ ) στο ποιοτικό χαρακτηριστικό, φωτεινότητα. Συγκεκριμένα, τα δείγματα με αντιμικροβιακές ουσίες κορίανδρο και δενδρολίβανο ενσωματωμένες σε μεμβράνες είτε χιτοζάνης είτε HPMC εμφανίζουν μικρότερες τιμές φωτεινότητας σε σχέση με τη σειρά που περιέχει τα αντιμικροβιακά μέσα στην κρεατόμαζα.

## 7.4 Ειδικοί Ρυθμοί Ανάπτυξης

Σε κάθε μία μικροβιολογική μεταβολή για κάθε σειρά πειραμάτων, έγινε προσαρμογή των δεδομένων στο μοντέλο Monod με τη βοήθεια του προγράμματος SigmaPlot (Systat Software®) που προέκυψε ύστερα από λογαρίθμηση.

Η εξίσωση Monod είναι:

$$N = N_0 \cdot e^{k \cdot (t - t_L)}$$

Διαιρώντας με  $N/N_0$  προκύπτει:

$$\frac{N}{N_0} = e^{k \cdot (t - t_L)}$$

Λογαριθμίζονται και τα δύο μέλη της παραπάνω εξίσωσης:

$$\log \frac{N}{N_0} = \log e^{k \cdot (t - t_L)}$$

Τελικά:

$$\log \frac{N}{N_0} = \log e \cdot k \cdot t - \log e \cdot k \cdot t_L$$

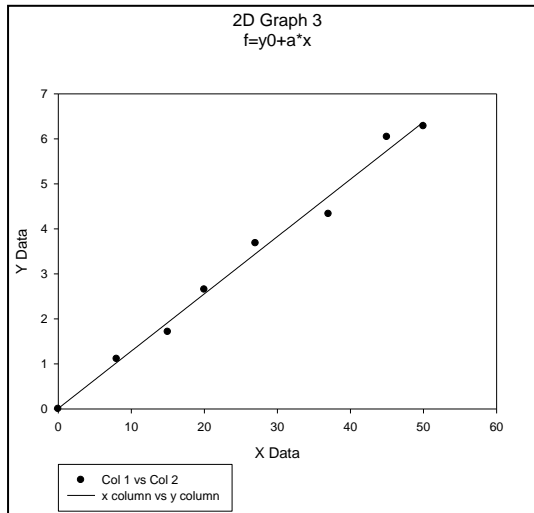
Αρχικά παρουσιάζονται οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης που προκύπτουν από την προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA για όλες τις σειρές πειραμάτων και για κάθε θερμοκρασία. Ακολουθούν οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης που προκύπτουν από την προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS, αντίστοιχα.

## 7.4.1 Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης

Μικροβιακή ανάλυση PCA

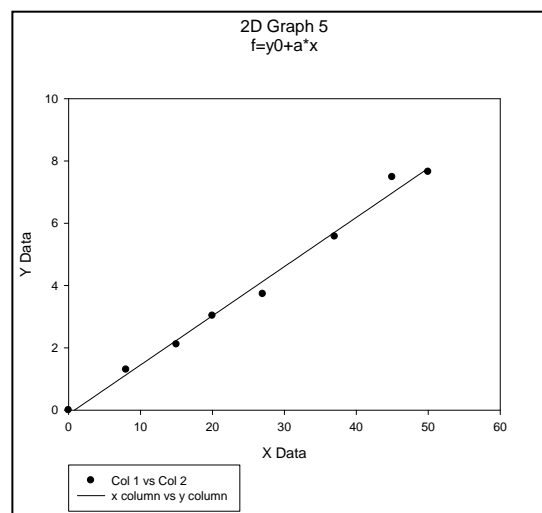
Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης χωρίς προσθήκη φυσικής αντιμικροβιακής ουσίας στη μεμβράνη.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.61: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxT και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C

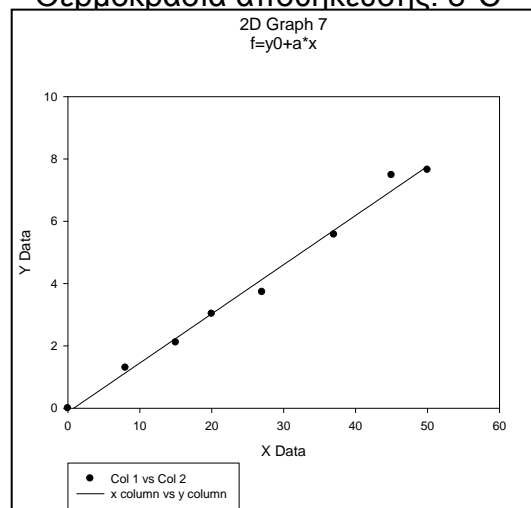


Εικόνα 7.62: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxT και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,292 \text{ days}^{-1}$$

$$k = 0,361 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



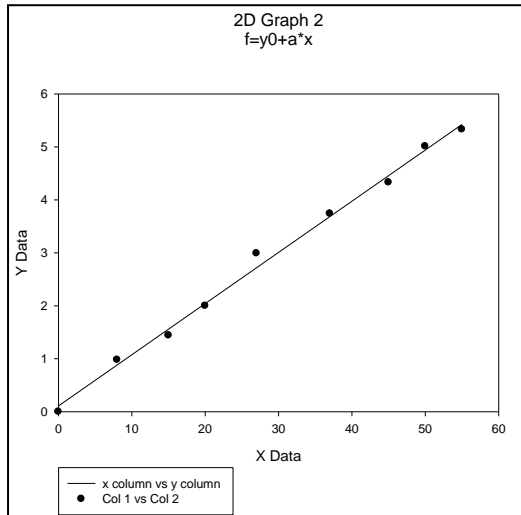
Εικόνα 7.63: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxT και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,396 \text{ days}^{-1}$$



Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και προσθήκη εκχυλίσματος κορίανδρου στη μεμβράνη.

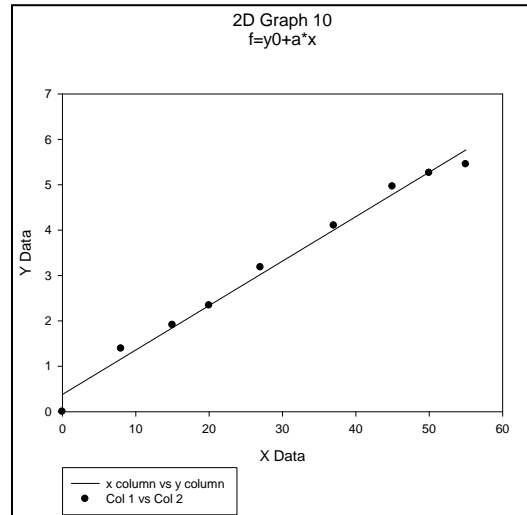
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.64: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxK και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k=0,222 \text{ days}^{-1}$$

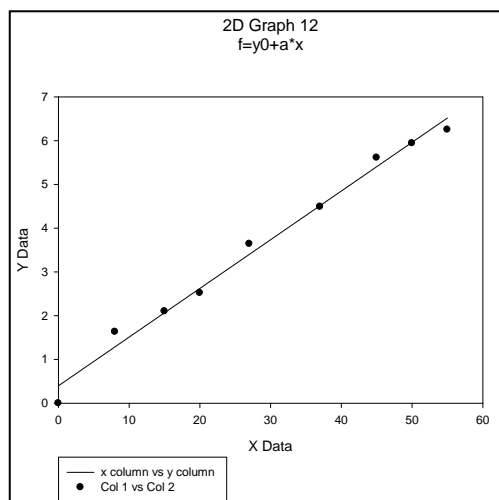
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.65: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxK και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k=0,225 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

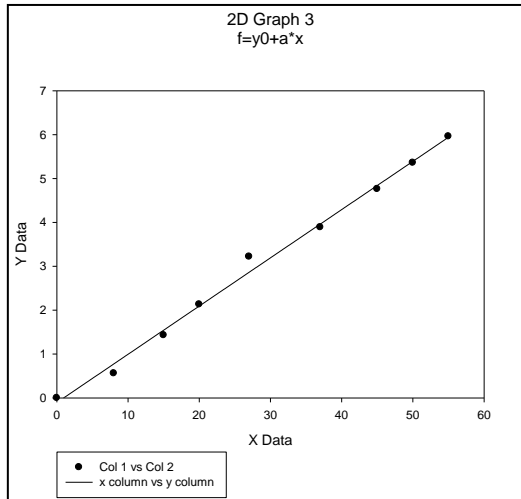


Εικόνα 7.66: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxK και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k=0,256 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και προσθήκη εκχυλίσματος δενδρολίβανου στη μεμβράνη.

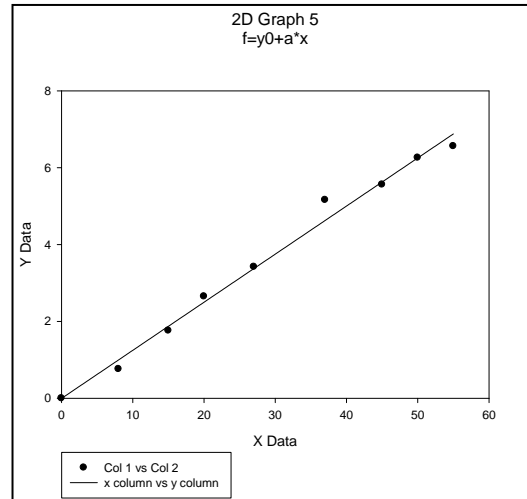
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.67: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxD και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,251 \text{ days}^{-1}$$

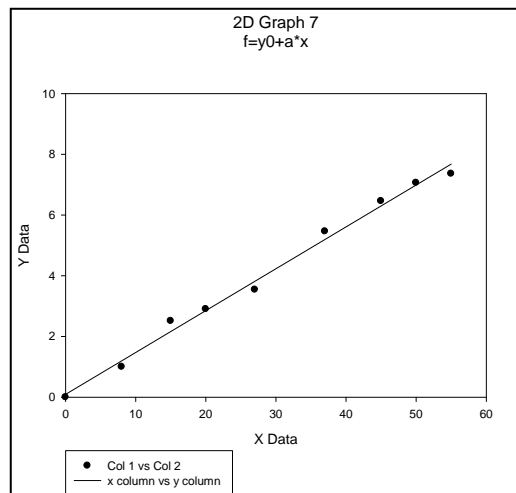
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.68: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxD και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,287 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.69: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς CxD και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

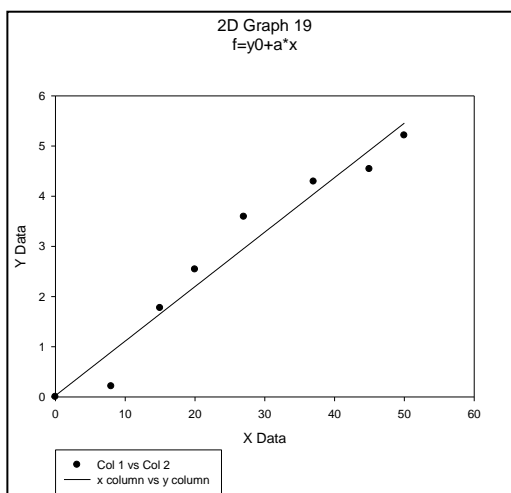
$$k = 0,315 \text{ days}^{-1}$$

## 7.4.2 Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC

Μικροβιακή ανάλυση PCA

Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC χωρίς προσθήκη προσθετικής ουσίας στη μεμβράνη.

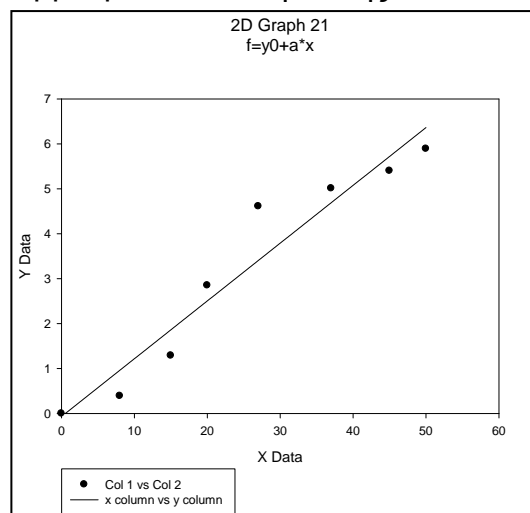
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.70: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxT και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,248 \text{ days}^{-1}$$

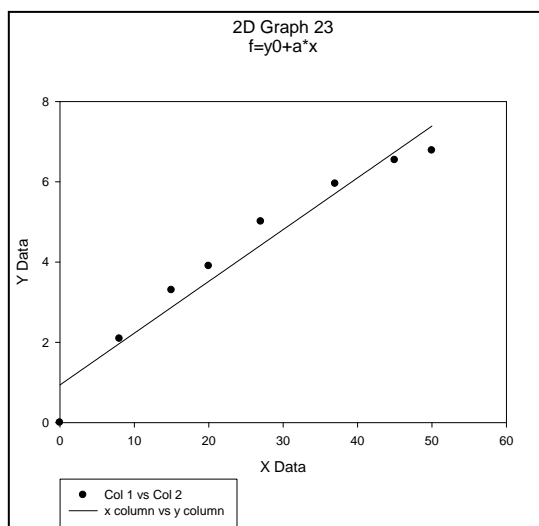
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.71: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxT και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,294 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

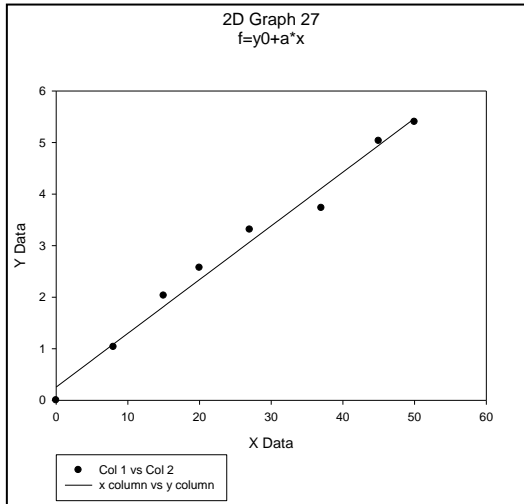


Εικόνα 7.72: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxT και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,297 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC και προσθήκη εκχυλίσματος κοριάνδρου στη μεμβράνη.

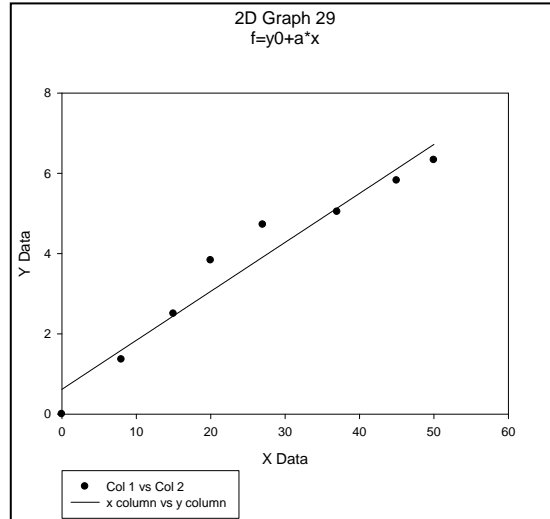
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.73: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxΚ και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,239 \text{ days}^{-1}$$

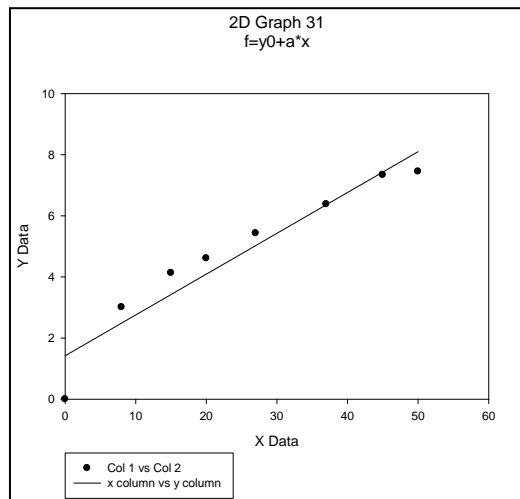
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.74: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxΚ και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,280 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

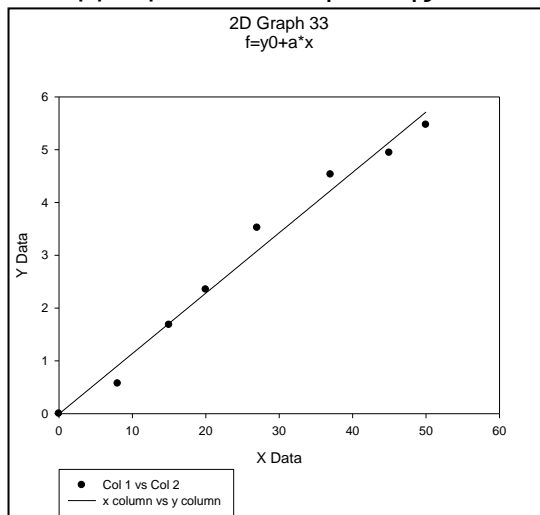


Εικόνα 7.75: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxΚ και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,306 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC και προσθήκη εκχυλίσματος δενδρολίβανου στη μεμβράνη.

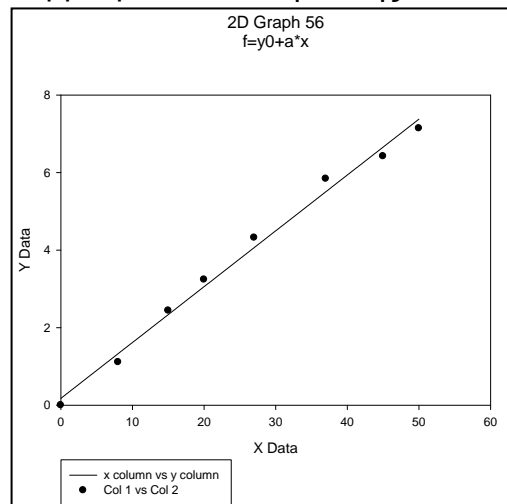
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.76: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxD και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,262 \text{ days}^{-1}$$

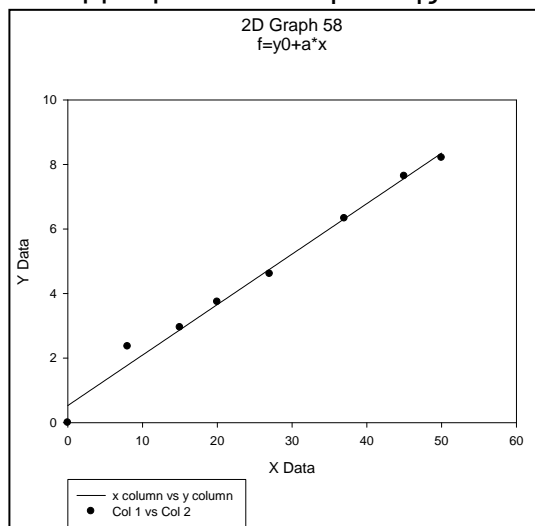
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.77: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxD και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,32 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.78: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ΗxD και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

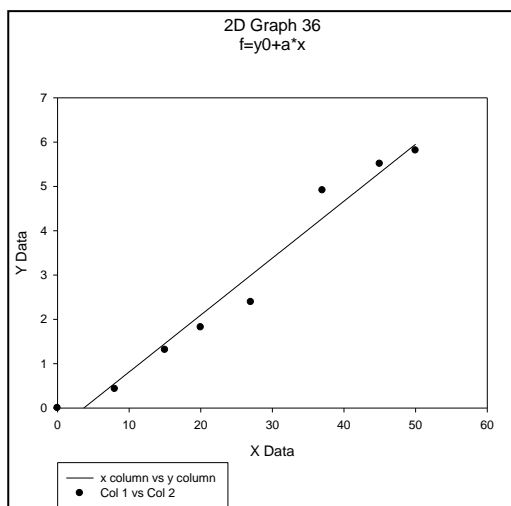
$$k = 0,331 \text{ days}^{-1}$$

### 7.4.3 Δείγματα με ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στην κρεατόμαζα.

Μικροβιακή ανάλυση PCA

Δείγματα με ενσωματωμένο εκχύλισμα κορίανδρου στη μεμβράνη.

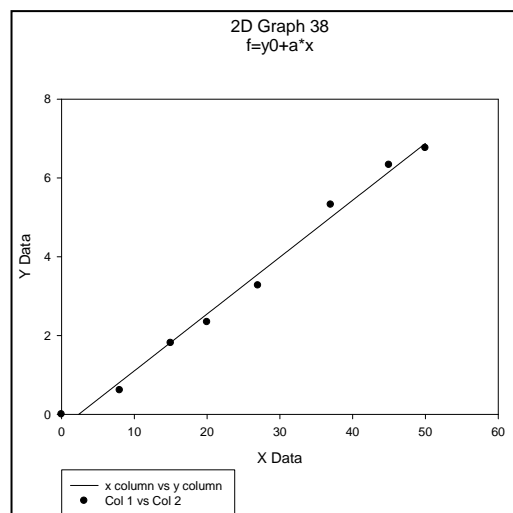
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.79: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ExK και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,289 \text{ days}^{-1}$$

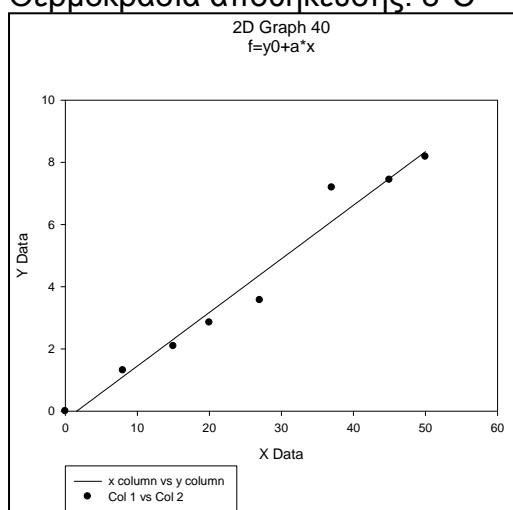
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.80: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ExK και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,332 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

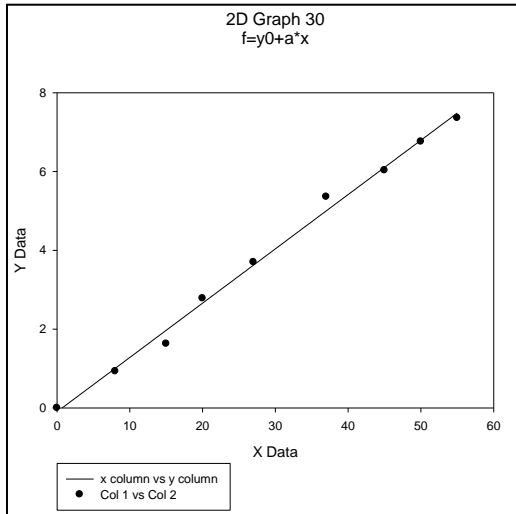


Εικόνα 7.81: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ExK και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,396 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με ενσωματωμένο εκχύλισμα δενδρολίβανου στην κρεατόμαζα.

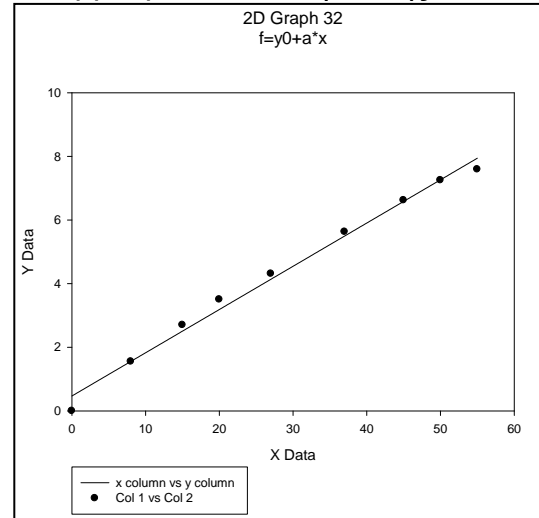
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.82: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ExD και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,310 \text{ days}^{-1}$$

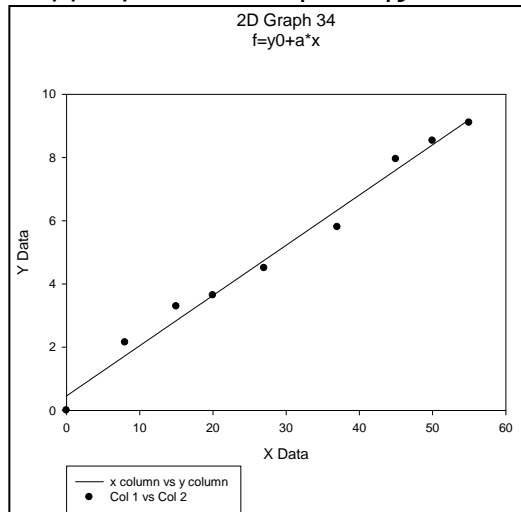
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.83: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ExD και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,315 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.84: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων PCA σειράς ExD και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

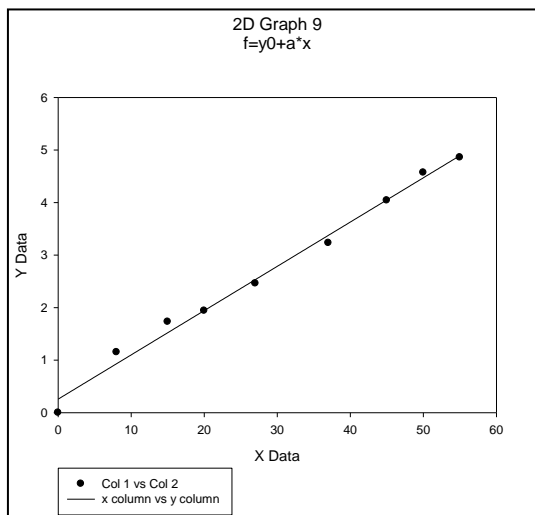
$$k = 0,363 \text{ days}^{-1}$$

## 7.4.4 Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης

### Μικροβιακή ανάλυση MRS

Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης χωρίς προσθήκη φυσικής αντιμικροβιακής ουσίας στη μεμβράνη.

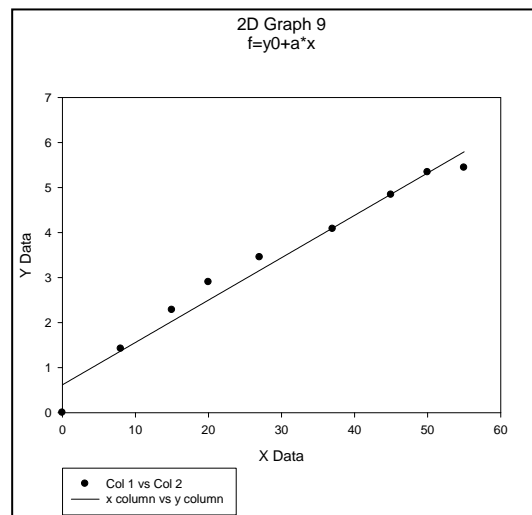
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.85: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxT και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,193 \text{ days}^{-1}$$

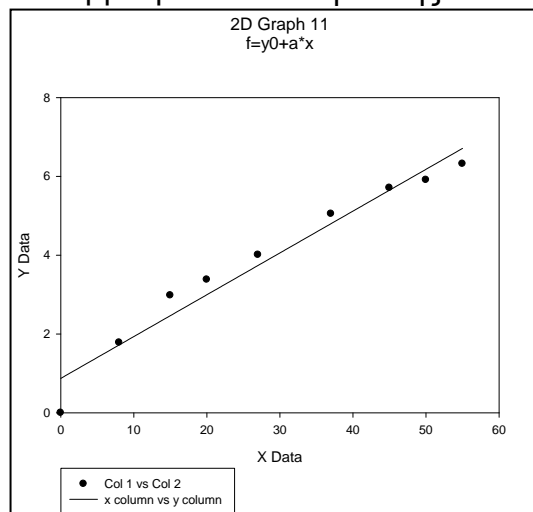
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.86: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxT και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,216 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



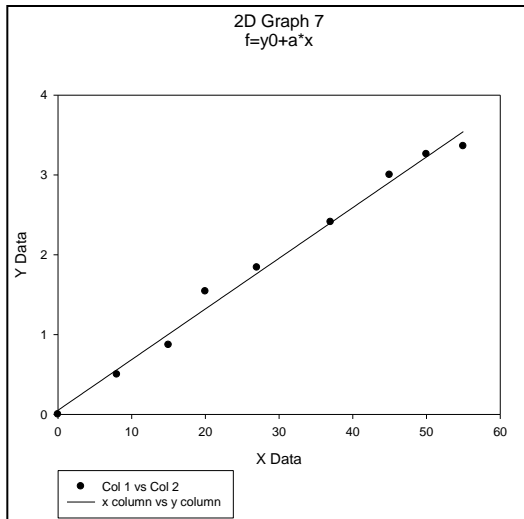
Εικόνα 7.87: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxT και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,244 \text{ days}^{-1}$$



Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης με προσθήκη εκχυλίσματος κοριάνδρου στη μεμβράνη.

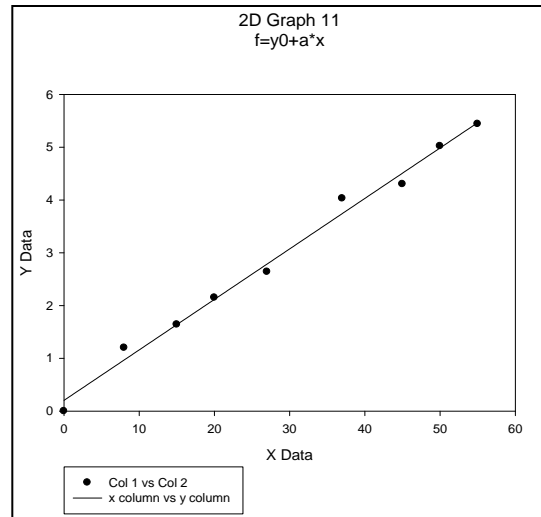
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.88: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxK και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,145 \text{ days}^{-1}$$

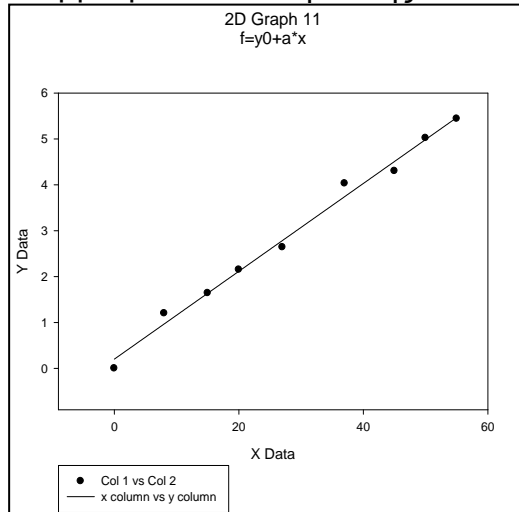
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.89: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxK και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,181 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

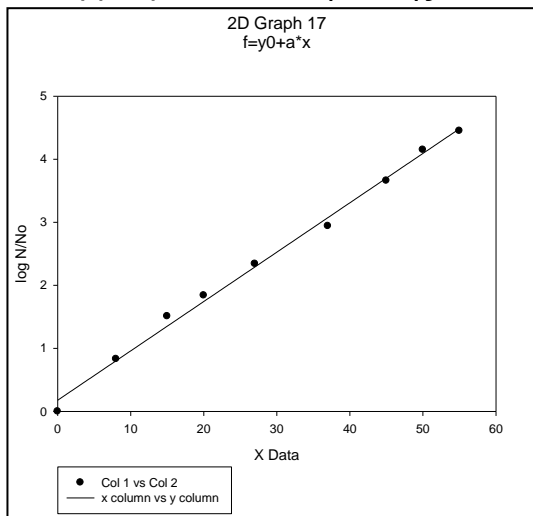


Εικόνα 7.90: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxK και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,218 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης με προσθήκη εκχυλίσματος δενδρολίβανου στη μεμβράνη.

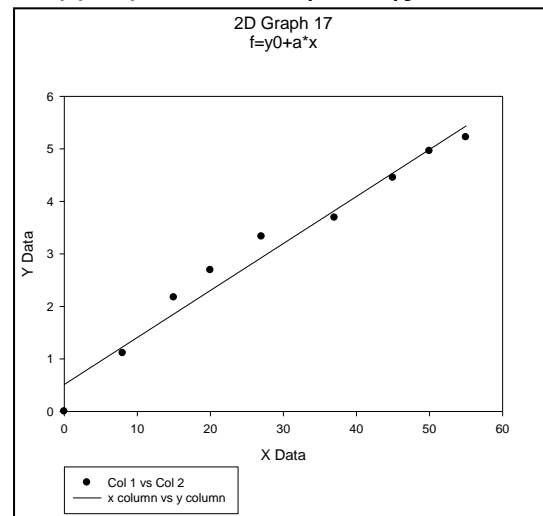
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.91: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxD και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,179 \text{ days}^{-1}$$

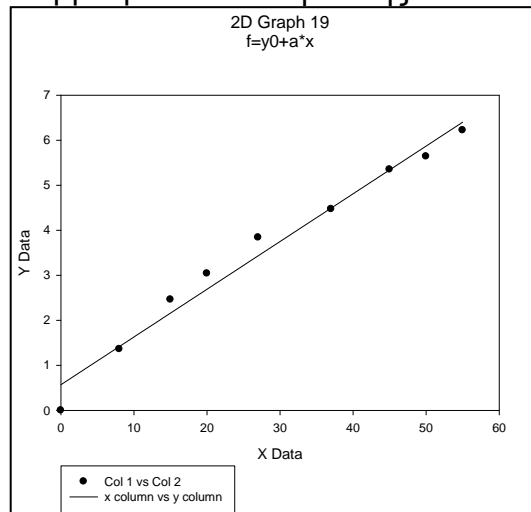
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.92: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxD και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,204 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.93: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς CxD και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

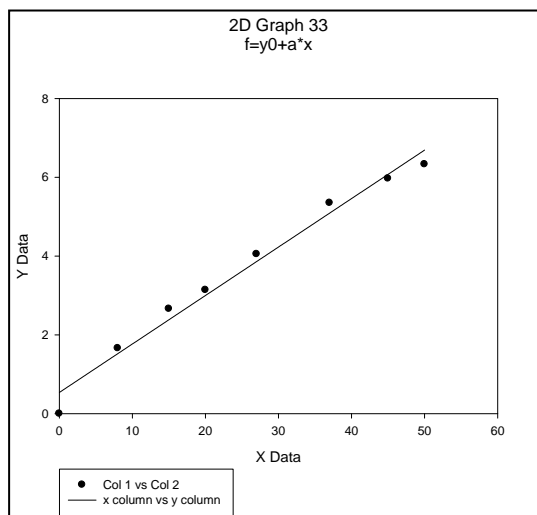
$$k = 0,244 \text{ days}^{-1}$$

## 7.4.5 Δείγματα με επικάλυψη HPMC

### Μικροβιακή ανάλυση MRS

Δείγματα με επικάλυψη HPMC χωρίς προσθήκη φυσικής αντιμικροβιακής ουσίας στη μεμβράνη.

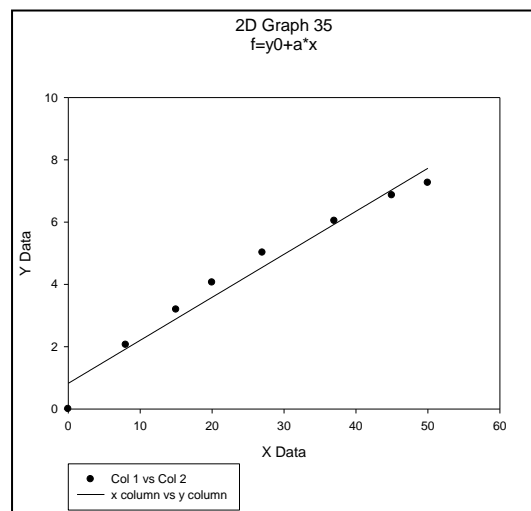
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.94: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς HxT και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,283 \text{ days}^{-1}$$

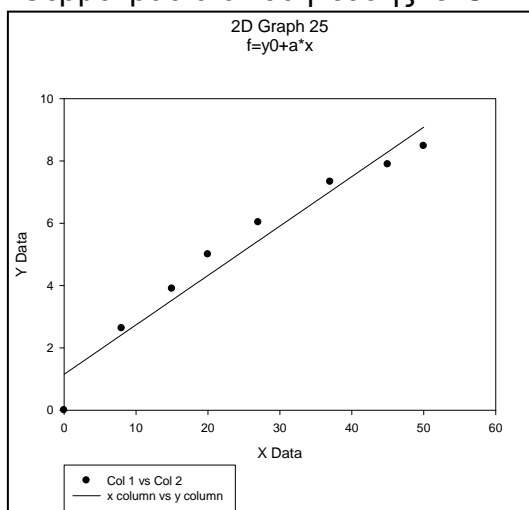
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.95: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς HxT και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,317 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

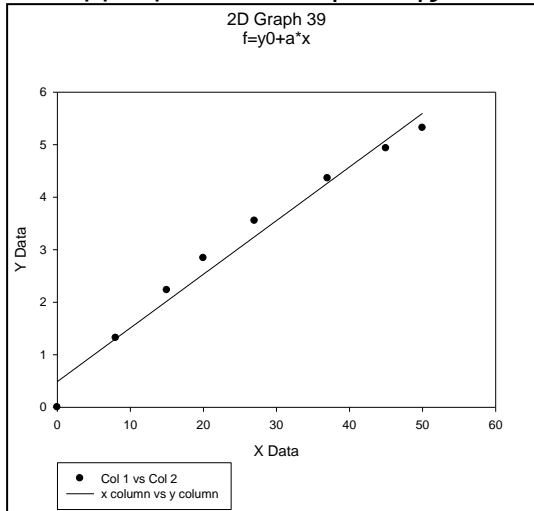


Εικόνα 7.96: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς HxT και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,363 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC με προσθήκη εκχυλίσματος κορίανδρου στη μεμβράνη.

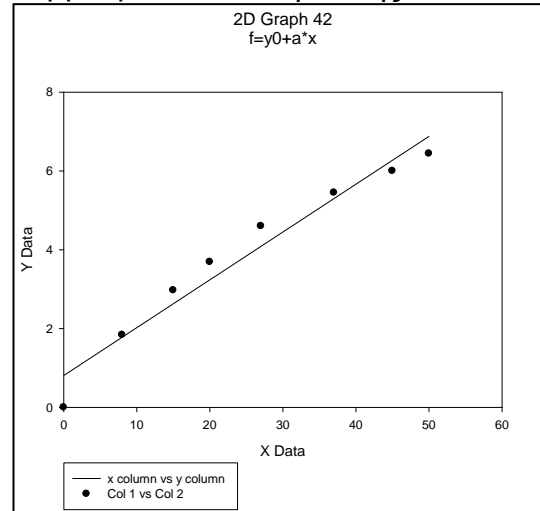
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.97: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΗxΚ και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,234 \text{ days}^{-1}$$

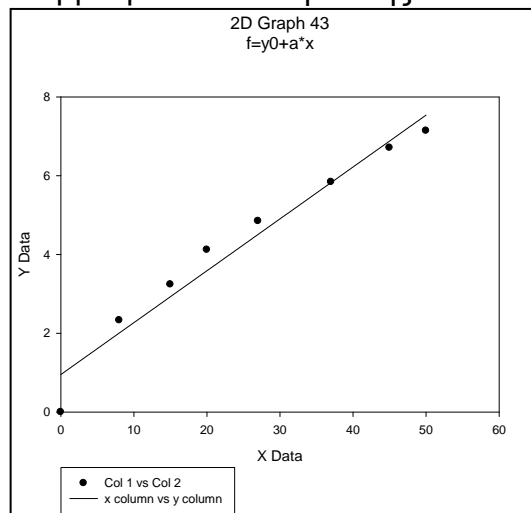
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.98: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΗxΚ και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,278 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

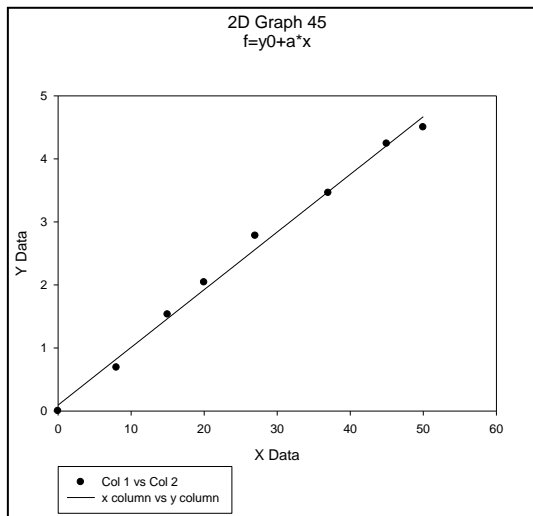


Εικόνα 7.99: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΗxΚ και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,301 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με επικάλυψη ΗΡΜC με προσθήκη εκχυλίσματος δενδρολίβανου στη μεμβράνη.

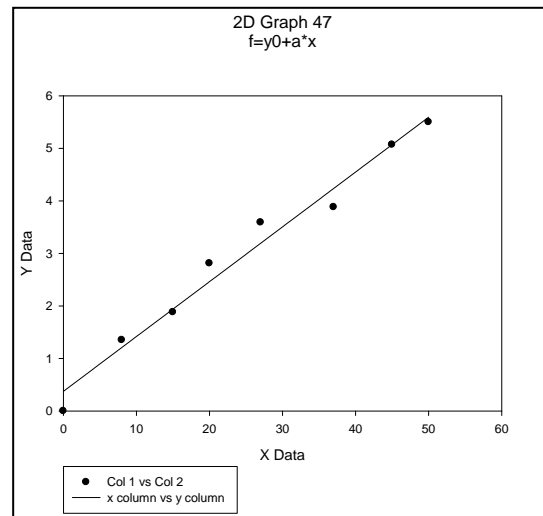
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.100: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΗxD και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,209 \text{ days}^{-1}$$

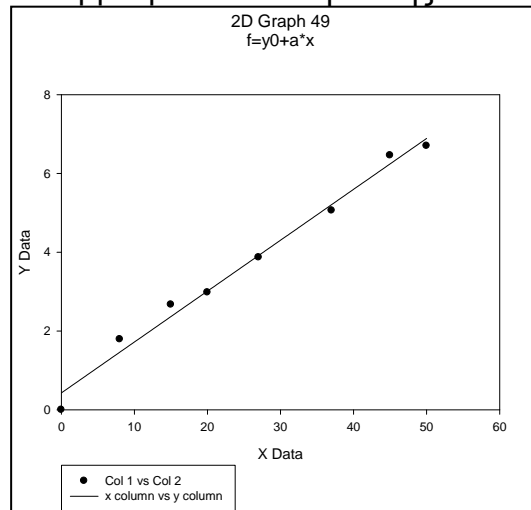
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.101: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΗxD και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,239 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.102: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΗxD και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

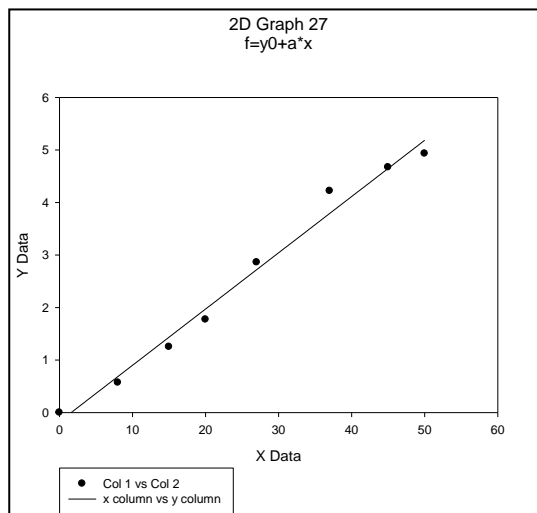
$$k = 0,297 \text{ days}^{-1}$$

## 7.4.6 Δείγματα με ενσωματωμένο φυσικό αντιμικροβιακό στην κρεατόμαζα.

Μικροβιακή ανάλυση MRS

Δείγματα με ενσωματωμένο εκχύλισμα κορίανδρου στη μεμβράνη

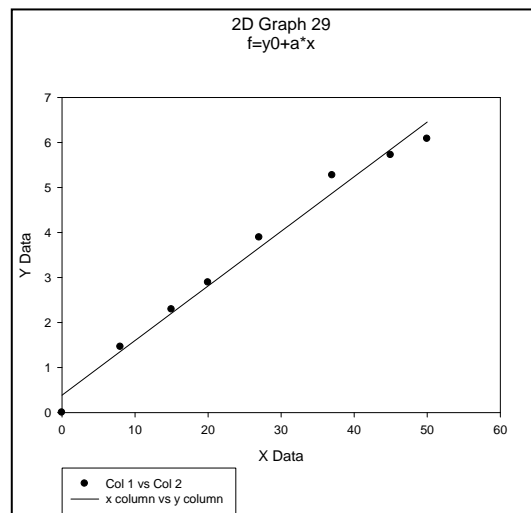
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.103: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΕxΚ και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,246 \text{ days}^{-1}$$

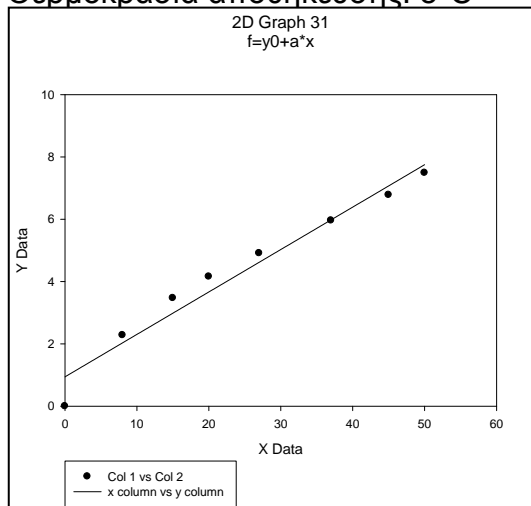
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.104: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΕxΚ και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,278 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C

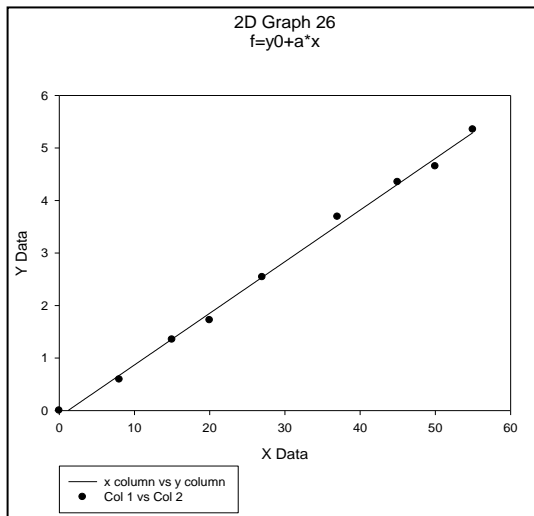


Εικόνα 7.105: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ΕxΚ και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,313 \text{ days}^{-1}$$

Δείγματα με ενσωματωμένο εκχύλισμα δενδρολίβανου στη μεμβράνη.

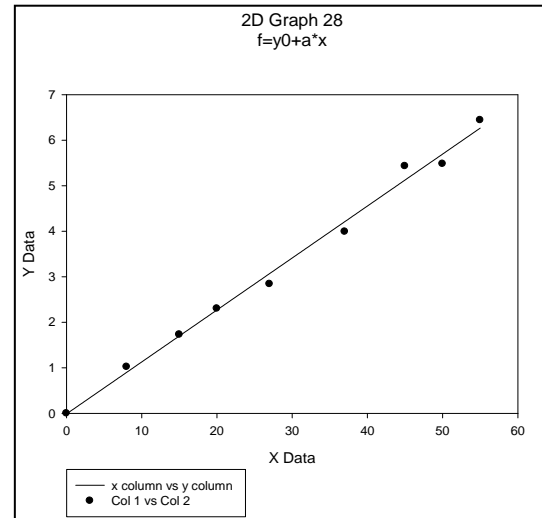
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 0°C



Εικόνα 7.106: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ExD και θερμοκρασίας 0°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,225 \text{ days}^{-1}$$

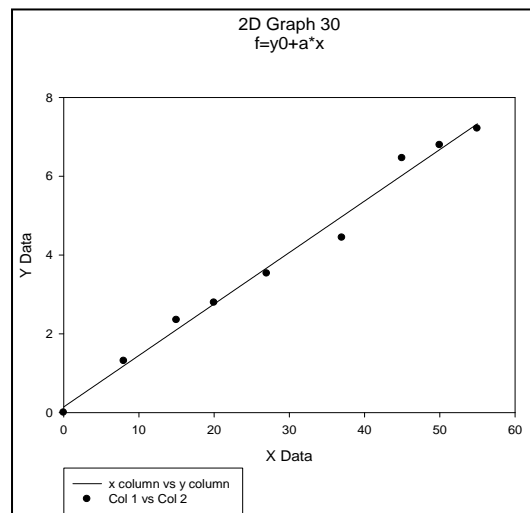
Θερμοκρασία αποθήκευσης: 4°C



Εικόνα 7.107: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ExD και θερμοκρασίας 4°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,262 \text{ days}^{-1}$$

Θερμοκρασία αποθήκευσης: 8°C



Εικόνα 7.108: Προσαρμογή των δεδομένων των μικροβιολογικών αναλύσεων MRS σειράς ExD και θερμοκρασίας 8°C στο μοντέλο Monod.

$$k = 0,299 \text{ days}^{-1}$$

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά οι τιμές όλων των ειδικών ρυθμών ανάπτυξης, όπως αυτοί υπολογίστηκαν από το πρόγραμμα SigmaPlot:

Πίνακας 7.1: Ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης των μικροβιακών καμπυλών και για τα δύο υποστρώματα.

Θερμοκρασία T (°C)	Πειραματική Σειρά	k (days <sup>-1</sup> ) (μικροβιολογική ανάλυση PCA)	k (days <sup>-1</sup> ) (μικροβιολογική ανάλυση MRS)
0	CxT	0,292	0,193
4	CxT	0,361	0,216
8	CxT	0,396	0,244
0	CxK	0,222	0,145
4	CxK	0,225	0,181
8	CxK	0,256	0,218
0	CxD	0,251	0,179
4	CxD	0,287	0,204
8	CxD	0,315	0,244
0	HxT	0,248	0,283
4	HxT	0,294	0,317
8	HxT	0,297	0,363
0	HxK	0,239	0,234
4	HxK	0,280	0,278
8	HxK	0,306	0,301
0	HxD	0,262	0,209
4	HxD	0,32	0,239
8	HxD	0,331	0,297
0	ExK	0,289	0,246
4	ExK	0,332	0,278
8	ExK	0,396	0,313
0	ExD	0,310	0,225
4	ExD	0,315	0,262
8	ExD	0,363	0,299



Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση, η θερμοκρασία επιδρά σημαντικά ( $P < 0,01$ ) στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης σε όλα τα δείγματα. Συγκεκριμένα στη θερμοκρασία των  $8^{\circ}\text{C}$ , οι τιμές των ειδικών ρυθμών ανάπτυξης είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με εκείνες για τους  $0$  και  $4^{\circ}\text{C}$  για κάθε σειρά δειγμάτων.

## 7.5 Προσαρμογή στο μοντέλο Arrhenius

Στη συνέχεια, οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης για κάθε σειρά δειγμάτων για τις μικροβιολογικές παραμέτρους, την ολική μικροβιακή χλωρίδα και τα οξυγαλακτικά βακτήρια (PCA & MRS) δοκιμάστηκαν με προσαρμογή στο μαθηματικό μοντέλο Arrhenius. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η θερμοκρασία επιδρά στη μικροβιολογική εξέλιξη καθώς και το είδος του αντιμικροβιακού είτε αυτό είναι ενσωματωμένο σε μεμβράνη είτε μέσα στο προϊόν. Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της προσαρμογής αυτής στα δείγματα που περιείχαν εκχύλισμα κορίανδρου ή δενδρολίβανου και για τις δύο μικροβιολογικές παραμέτρους. Αρχικά, το μοντέλο γραμμικοποιείται με λογαρίθμηση. Στη συνέχεια τα δεδομένα προσαρμόζονται στο γραμμικοποιημένο μοντέλο και υπολογίζεται η βέλτιστη ευθεία (ευθεία των ελαχίστων τετραγώνων), από την οποία προκύπτουν οι σταθερές του μοντέλου Arrhenius.

$$k = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \Rightarrow \ln k = \ln A + \left(\frac{E_a}{R}\right) \cdot \left(\frac{1}{T}\right)$$

Όπου :

k: Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης σε θερμοκρασία T.

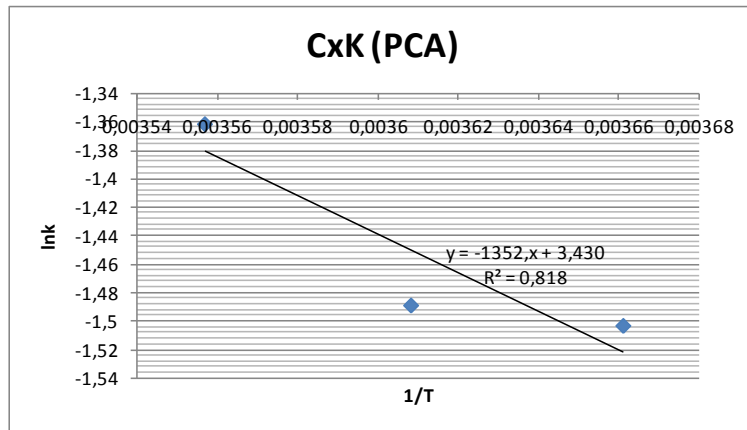
Ea: Η ενέργεια ενεργοποίησης.

A: Εμπειρική σταθερά.

R: Παγκόσμια σταθερά των αερίων ( $R=8,3144 \text{ J/mol}\cdot\text{K}$ ).

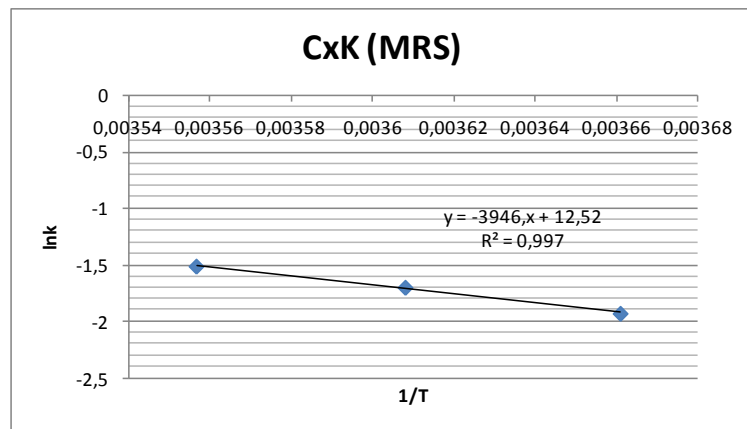
T: Θερμοκρασία (K).

Στα διαγράμματα 7.109-7.124 παρουσιάζεται η προσαρμογή των δεδομένων των δειγμάτων με ενσωματωμένα εκχυλίσματα κορίανδρου και δενδρολίβανου είτε στις μεμβράνες είτε μέσα στην κρεατόμαζα, στο γραμμικοποιημένο μοντέλο Arrhenius:



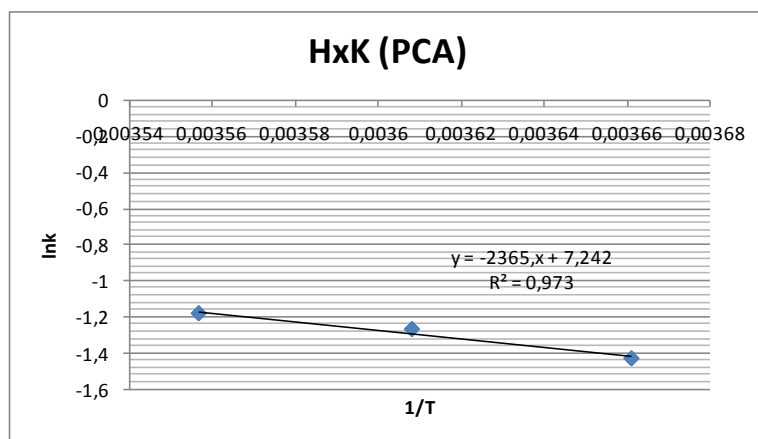
Εικόνα 7.109: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς CxK.

$E_a = 11,24 \text{ kJ/mol}$



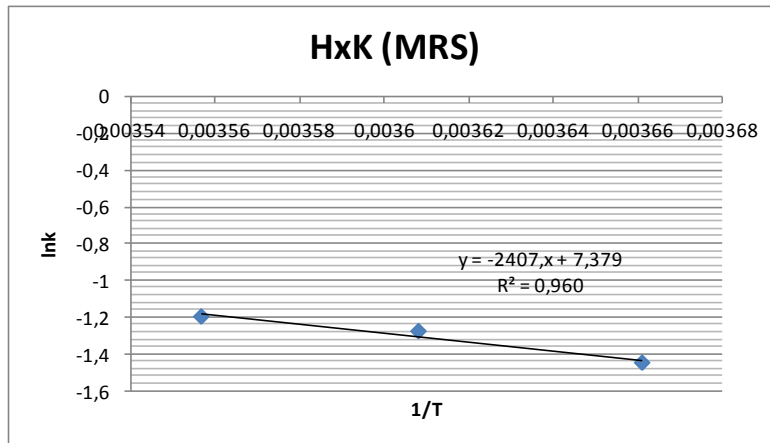
Εικόνα 7.110: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων MRS σειράς CxK.

$E_a = 32,80 \text{ kJ/mol}$



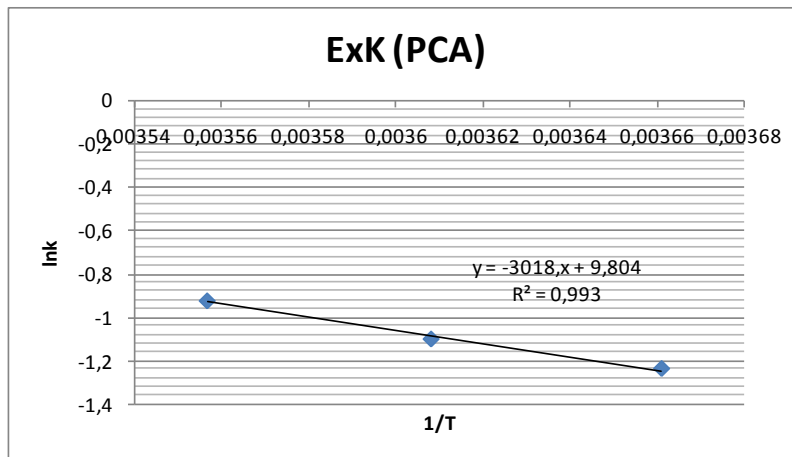
Εικόνα 7.111: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς HxK.

$E_a = 19,66 \text{ kJ/mol}$



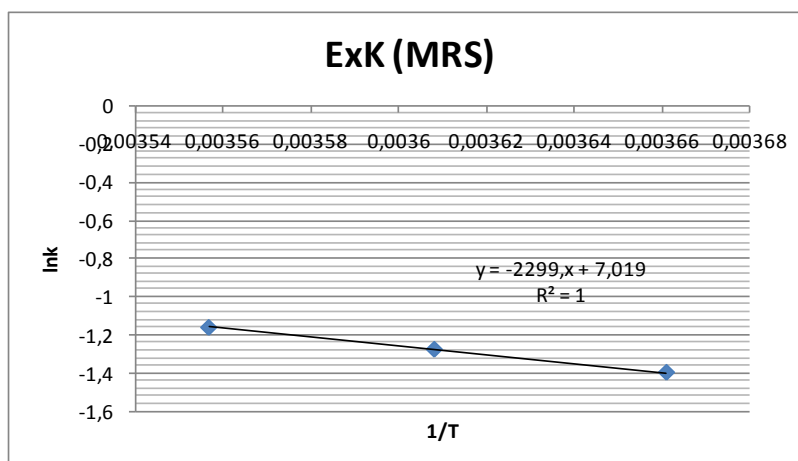
Εικόνα 7.112: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων MRS σειράς ΗxΚ.

$$E_a = 20,01 \text{ kJ/mol}$$



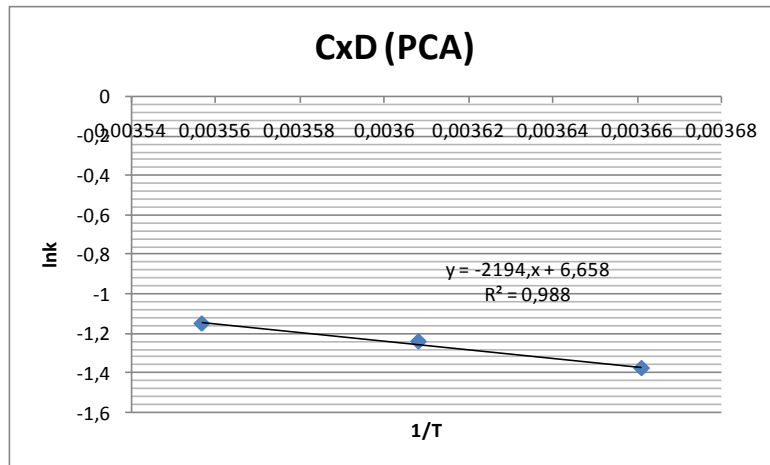
Εικόνα 7.113: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς ExΚ.

$$E_a = 25,09 \text{ kJ/mol}$$



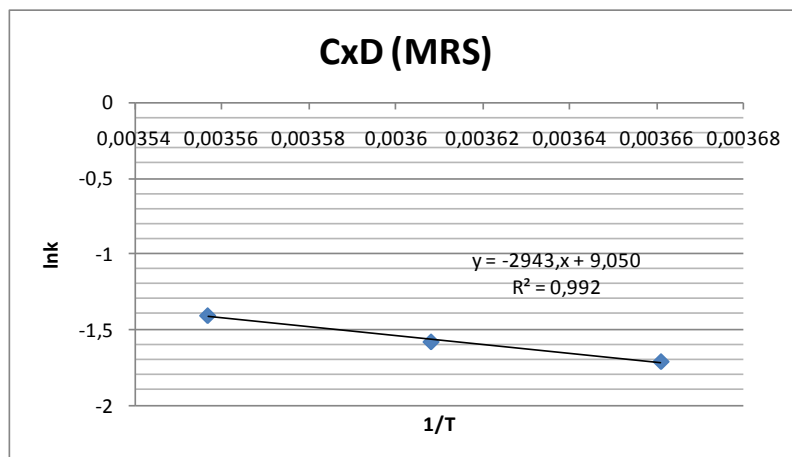
Εικόνα 7.114: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων MRS σειράς ExΚ.

$$E_a = 19,11 \text{ kJ/mol}$$



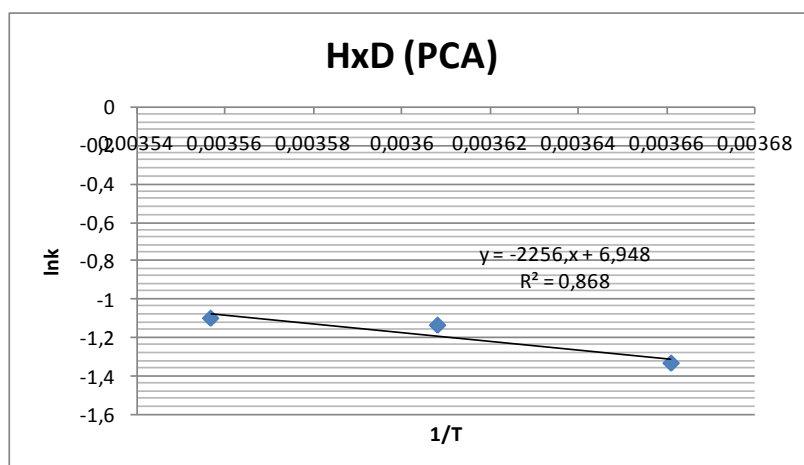
Εικόνα 7.115: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς CxD.

$E_a = 18,24 \text{ kJ/mol}$



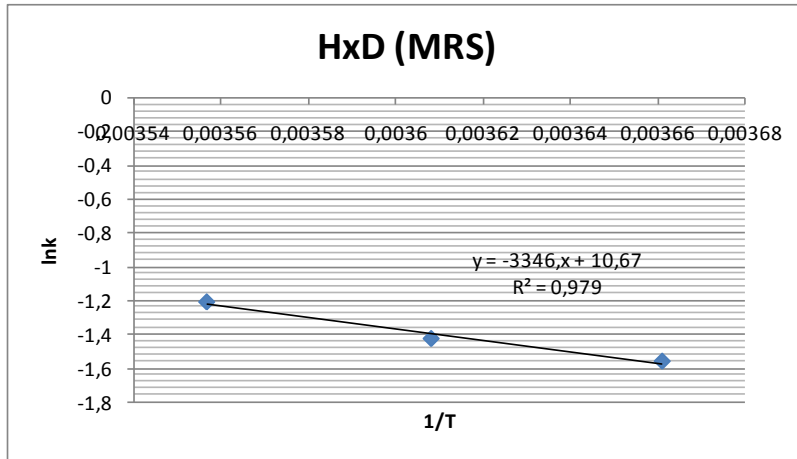
Εικόνα 7.116: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων MRS σειράς CxD.

$E_a = 24,46 \text{ kJ/mol}$



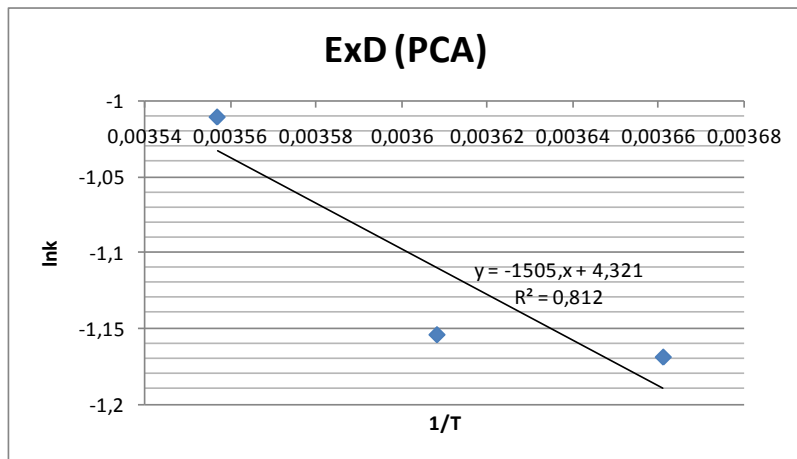
Εικόνα 7.117: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς HxD.

$E_a = 18,75 \text{ kJ/mol}$



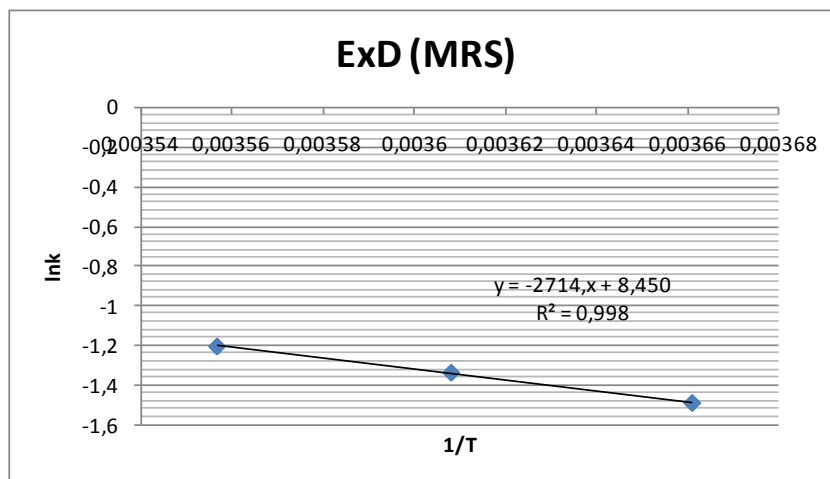
Εικόνα 7.118: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων MRS σειράς HxD.

$E_a = 27,81 \text{ kJ/mol}$



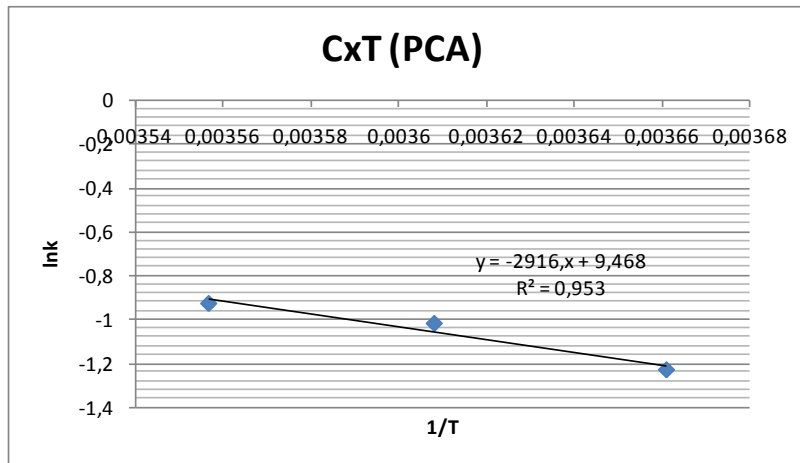
Εικόνα 7.119: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς ExD.

$E_a = 12,51 \text{ kJ/mol}$



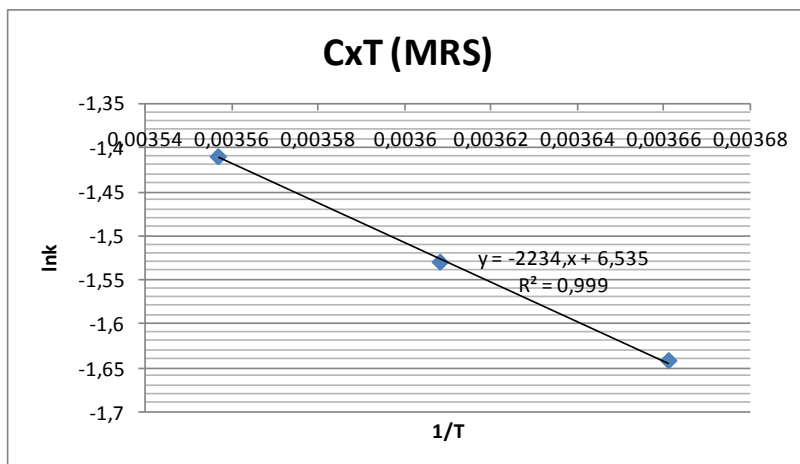
Εικόνα 7.120: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων MRS σειράς ExD.

$E_a = 22,56 \text{ kJ/mol}$



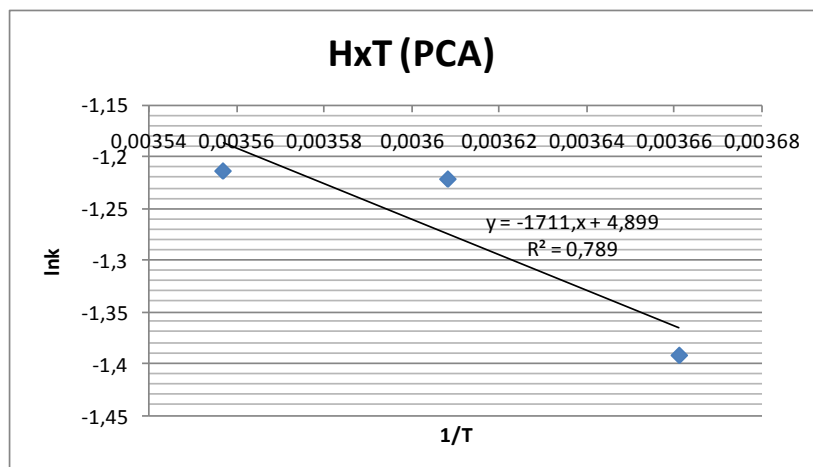
Εικόνα 7.121: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς CxT.

$E_a = 24,24 \text{ kJ/mol}$



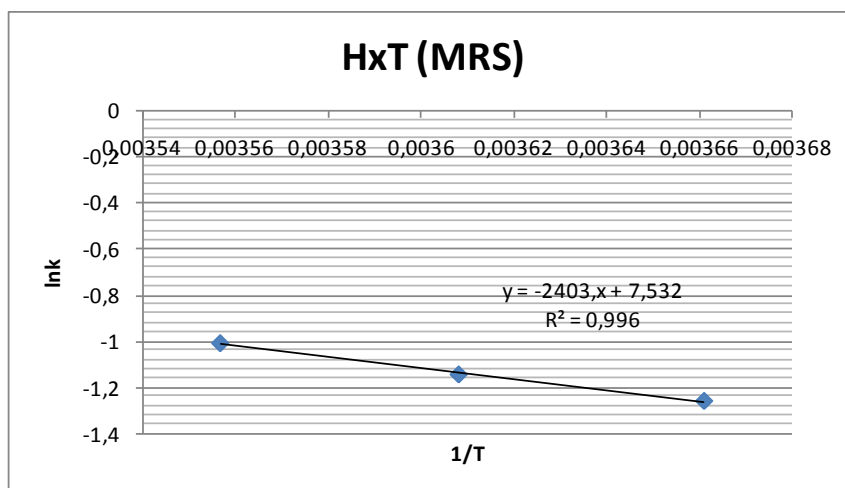
Εικόνα 7.122: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς CxT.

$E_a = 18,57 \text{ kJ/mol}$



Εικόνα 7.123: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς CxT.

$E_a = 14,22 \text{ kJ/mol}$



Εικόνα 7.124: Προσαρμογή Arrhenius αναλύσεων PCA σειράς CxT.

$$E_a = 19,97 \text{ kJ/mol}$$

Πίνακας 7.2: Ενέργειες ενεργοποίησης των μικροβιακών καμπύλων και για τα δύο υποστρώματα.

Πειραματική Σειρά	$E_a$ (kJ/mol) (μικροβιολογική ανάλυση PCA)	$E_a$ (kJ/mol) (μικροβιολογική ανάλυση MRS)
<b>CxT</b>	24,24	18,57
<b>CxK</b>	11,24	32,80
<b>CxD</b>	18,24	24,46
<b>HxT</b>	14,22	19,97
<b>HxK</b>	19,66	20,00
<b>HxD</b>	18,75	27,81
<b>ExK</b>	25,09	19,11
<b>ExD</b>	12,51	22,56

Οι τιμές των ενεργειών ενεργοποίησης κυμαίνονται από 18 kJ/mol έως 33 kJ/mol και παρατηρείται ότι οι τιμές δε διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων, ίσως λόγω της μικρής διαφοράς των των αντίστοιχων ειδικών ρυθμών ανάπτυξης καθώς και των θερμοκρασιών μεταξύ τους.

## 7.6 Προσδιορισμός των χρόνων ζωής των δειγμάτων

Σε κάθε σειρά δειγμάτων προσδιορίστηκε ο χρόνος ζωής (days) με τη βοήθεια των μαθηματικών εξισώσεων που προσδιορίστηκαν κατά την προσαρμογή των δεδομένων στο μοντέλο Monod. Οι υπολογισμοί έγιναν για τη θερμοκρασία των 0°C, καθώς αυτή ήταν και η θερμοκρασία που έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα. Ως αποδεκτό όριο ελήφθη το  $\log\text{CFU} < 6$  και για την ολική μικροβιακή χλωρίδα και για τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Τα αποτελέσματα των επιλύσεων των εξισώσεων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (οι στρογγυλοποιήσεις έγιναν προς τα κάτω):

Πίνακας 7.3: Χρόνοι ζωής για κάθε σειρά στους 0°C.

Πειραματική Σειρά	Χρόνος Ζωής (PCA)	Χρόνος Ζωής (MRS)
<b>CxT</b>	15	25
<b>CxK</b>	22	36
<b>CxD</b>	17	28
<b>HxT</b>	13	14
<b>HxK</b>	20	18
<b>HxD</b>	21	20
<b>ExK</b>	15	25
<b>ExD</b>	18	26

Για τη μικροβιολογική παράμετρο, ολική μικροβιακή χλωρίδα, καλύτερο χρόνο ζωής εμφάνισαν τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωμάτωσης κορίανδρου σ' αυτή,  $t=22$  ημέρες. Τα δείγματα με το ίδιο αντιμικροβιακό ενσωματωμένο σε μεμβράνη HPMC, είχαν χρόνο ζωής  $t=20$  ημέρες. Για το αντιμικροβιακό δενδρολίβανο, τα δείγματα εμφάνισαν χρόνο ζωής  $t=17$  ημέρες (όταν είναι ενσωματωμένος στη μεμβράνη χιτοζάνης) και  $t=21$  ημέρες (όταν είναι ενσωματωμένος στη μεμβράνη HPMC). Επίσης, τα δείγματα με ενσωματωμένο κορίανδρο μέσα στην κρεατόμαζα εμφάνισαν χρόνο ζωής,  $t=15$  ημέρες και αντίστοιχα, για τον δενδρολίβανο,  $t=18$  ημέρες. Όσον αφορά τα Οξυγαλακτικά βακτήρια, τους καλύτερους χρόνους έδωσαν τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωμάτωσης κορίανδρου σε αυτή,  $t=36$  ημέρες και αντίστοιχα με ενσωμάτωση δενδρολίβανου σε αυτή,  $t=28$  ημέρες. Τα δείγματα με επικάλυψη HPMC έδωσαν μικρότερους χρόνους ζωής και για τα δύο αντιμικροβιακά, συγκεκριμένα  $t=14$  ημέρες για το αντιμικροβιακό κορίανδρο ενσωματωμένο στη μεμβράνη και αντίστοιχα,  $t=18$  ημέρες για το

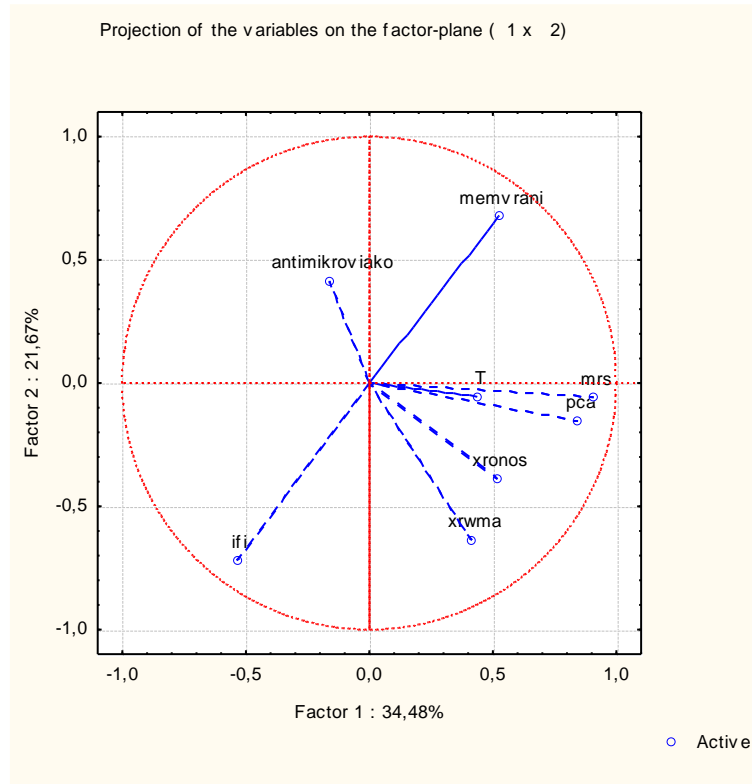


αντιμικροβιακό δενδρολίβανο. Τα δείγματα, όπου τα αντιμικροβιακά ήταν ενσωματωμένα μέσα στην κρεατόμαζα έδωσαν αρκετά καλούς χρόνους ζωής,  $t=25$  ημέρες για το αντιμικροβιακό κορίανδρο και  $t=26$  ημέρες για το αντιμικροβιακό δενδρολίβανο. Τα δείγματα με επικάλυψη HPMC εμφάνισαν πιο μικρούς χρόνους ζωής, ίσως λόγω του υψηλού μικροβιακού φορτίου που είχε η πρώτη ύλη σ' αυτή τη σειρά πειραμάτων.

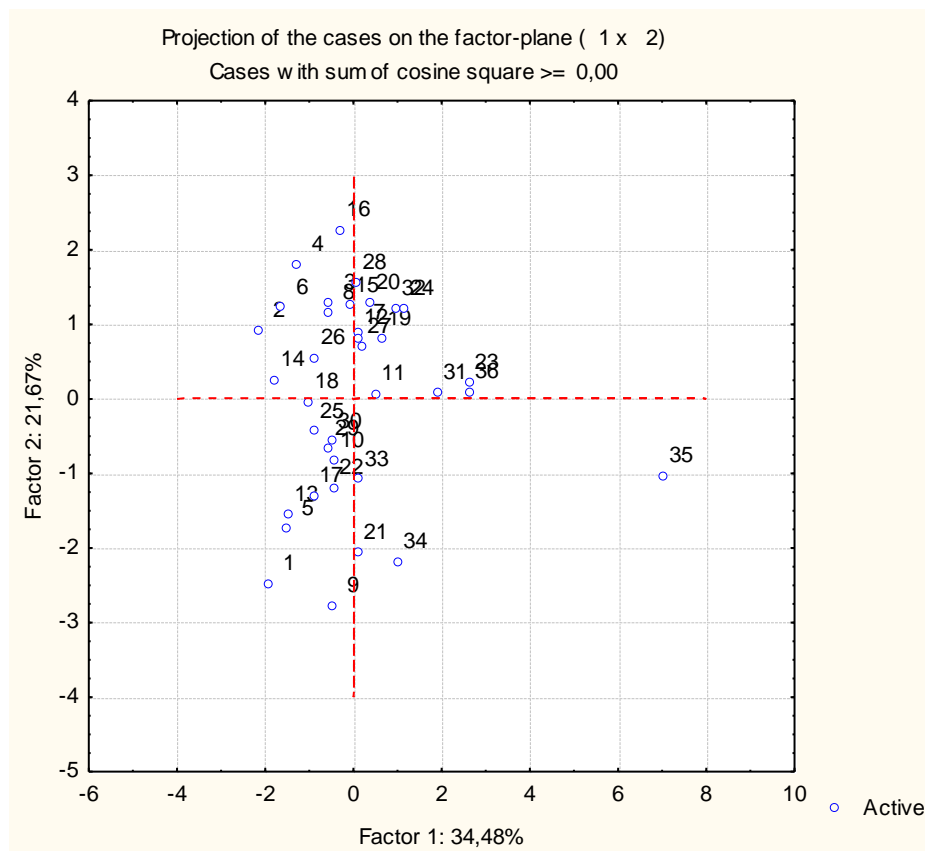
Παρατηρείται ότι τα δείγματα με επικάλυψη μεμβράνης, χιτοζάνης και HPMC, και ενσωμάτωση αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρου και δενδρολίβανου, εμφανίζουν μικρότερους χρόνους ζωής σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δείγματα με επικάλυψη μεμβρανών χωρίς προσθετική ουσία (τυφλά).

## **7.7 Ανάλυση συσχέτισης**

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) για τα δείγματα που είναι επικαλυμμένα με μεμβράνη, χιτοζάνης και HPMC. Εξαιρέθηκαν τα δείγματα στα οποία το φυσικό αντιμικροβιακό είναι ενσωματωμένο μέσα στο προϊόν. Τα διαγράμματα 7.125 και 7.126 φαίνονται στη συνέχεια.



Εικόνα 7.125: Διάγραμμα ανάλυσης συσχέτισης των μεταβλητών.

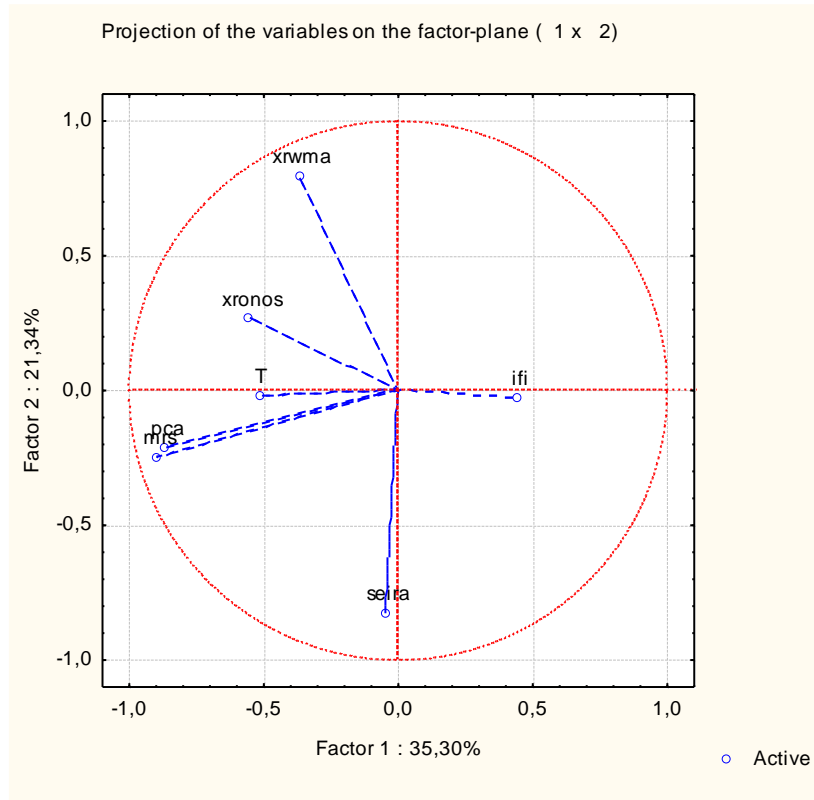


Εικόνα 7.126: Διάγραμμα ανάλυσης συσχέτισης των δειγμάτων.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι το αντιμικροβιακό συνεισφέρει σημαντικά στη συνιστώσα 2. Επίσης το MRS, το PCA και η θερμοκρασία, συνεισφέρουν σημαντικά στην 1<sup>η</sup> κύρια συνιστώσα του πειράματος (34,48%). Το χρώμα φαίνεται να συσχετίζεται με το χρόνο, ενώ η υφή φαίνεται να μην συσχετίζεται με τη μεμβράνη.

Όσον αφορά τα δείγματα, μία ομάδα αποτελούν τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωματωμένο κορίανδρο σ' αυτή σε θερμοκρασίες 0 και 4°C και για χρόνο αποθήκευσης έως 15 ημέρες (5, 13, 17, 25) και σχετίζονται με την υφή, εμφανίζοντας μεγαλύτερη τιμή σκληρότητας σε σχέση με τα άλλα δείγματα. Επίσης, μία ομάδα αποτελούν και τα δείγματα με ενσωματωμένο δενδρολίβανο στις μεμβράνες είτε χιτοζάνης είτε HPMC σε θερμοκρασίες 0 και 4°C και για χρόνο αποθήκευσης 8 ημέρες (4, 6, 14, 26) και σχετίζονται με το χρώμα, εμφανίζοντας μεγαλύτερη τιμή φωτεινότητας σε σχέση με τα άλλα δείγματα. Τέλος, μια ομάδα αποτελεί το δείγμα με επικάλυψη HPMC και ενσωματωμένο κορίανδρο στη μεμβράνη στους 8°C και για χρόνο αποθήκευσης 20 ημέρες (35), που εμφανίζει τη μεγαλύτερη τιμή μικροβιακού φορτίου από όλα τα δείγματα, για τις μικροβιολογικές παραμέτρους, ολική μικροβιακή χλωρίδα και αριθμό οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Επίσης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση συσχέτισης για όλα τα δείγματα που περιέχουν αντιμικροβιακό, κορίανδρο και δενδρολίβανο, ενσωματωμένο είτε στη μεμβράνη, χιτοζάνης και HPMC, είτε μέσα στο προϊόν (διαγράμματα 7.127 και 7.128).



Εικόνα 7.127: Διάγραμμα ανάλυσης συσχέτισης των μεταβλητών.



Εικόνα 7.128: Διάγραμμα ανάλυσης συσχέτισης των δειγμάτων.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται ότι το είδος των δειγμάτων συνεισφέρει σημαντικά στη συνιστώσα 2 (21,34%), κάτι που ήταν και αναμενόμενο. Επίσης, το MRS και PCA συνεισφέρουν σημαντικά στην 1<sup>η</sup> κύρια συνιστώσα του πειράματος (35,3%) και συσχετίζονται μεταξύ τους. Το χρώμα φαίνεται να συσχετίζεται λίγο με το χρόνο και η υφή συσχετίζεται με τη 2<sup>η</sup> συνιστώσα.

Όσον αφορά τα δείγματα, μία ομάδα αποτελούν τα δείγματα με επικάλυψη μεμβράνης, χιτοζάνης και HPMC, και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, στους 0 και 4°C και για χρόνο αποθήκευσης έως 15 ημέρες (36, 39, 40, 41, 46) και σχετίζονται με την υφή, εμφανίζοντας σχετικά μεγάλη τιμή σκληρότητας. Φαίνεται επομένως ότι τα δείγματα που είναι επικαλυμμένα με μεμβράνες, σχετίζονται με την υφή και εμφανίζονται πιο σκληρά σε σχέση με εκείνα με ενσωματωμένο αντιμικροβιακό μέσα στην κρεατόμαζα. Επίσης, μία ομάδα αποτελούν τα δείγματα με ενσωματωμένο κορίανδρο και δενδρολίβανο, μέσα στην κρεατόμαζα στους 4 και 8°C και για χρόνο αποθήκευσης 20 ημέρες (31, 32, 43, 50, 52) και σχετίζονται με το χρώμα, εμφανίζοντας μικρές τιμές φωτεινότητας σε σχέση με τα άλλα δείγματα. Τέλος, μια ομάδα αποτελεί το δείγμα με επικάλυψη HPMC και ενσωματωμένο κορίανδρο στη μεμβράνη στους 8°C και χρόνο αποθήκευσης 20 ημέρες (35), που εμφανίζει τη μεγαλύτερη τιμή μικροβιακού φορτίου από όλα τα δείγματα, για τις μικροβιολογικές παραμέτρους, ολική μικροβιακή χλωρίδα και αριθμό οξυγαλακτικών βακτηρίων.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Συμπεράσματα και προτάσεις**

Στο κεφάλαιο αυτό συνοψίζονται τα κυριότερα συμπεράσματα που προέκυψαν από τα αποτελέσματα των πειραμάτων και από τη στατιστική ανάλυση αυτών. Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, μελετήθηκε η επίδραση της φυσικής αντιμικροβιακής ουσίας ενσωματωμένης είτε σε επικαλυπτική μεμβράνη είτε μέσα στο προϊόν, σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 0, 4 και 8°C και με ατμόσφαιρα συσκευασίας υπό κενό, στην εξέλιξη της ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και των οξυγαλακτικών βακτηρίων, όπως και στη μεταβολή των ποιοτικών χαρακτηριστικών, της σκληρότητας, της φωτεινότητας (L) και του ολικού χρώματος (ΔΕ) των δειγμάτων.

### **8.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Τα αποτελέσματα για τις μεταβολές των μικροβιακών παραμέτρων, ολική μικροβιακή χλωρίδα και οξυγαλακτικά βακτήρια, έδειξαν ότι το φυσικό αντιμικροβιακό ενσωματωμένο στη μεμβράνη λειτουργεί θετικά και παρέχει προστασία ως προς τις μικροβιολογικές αλλοιώσεις. Αυτό ισχύει και για τις δύο μεμβράνες που χρησιμοποιήθηκαν, χιτοζάνης και HPMC, και για τα δύο αντιμικροβιακά που ενσωματώθηκαν σε αυτές (κορίανδρος και δενδρολίβανος). Τα δείγματα με ενσωματωμένα αντιμικροβιακά στις μεμβράνες διατηρούνται καλύτερα από εκείνα με απλή μεμβράνη (τυφλά). Συγκεκριμένα, οι μεμβράνες επηρεάζουν σημαντικά την μικροβιολογική εξέλιξη των δειγμάτων για τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Γι' αυτή την παράμετρο φαίνεται ότι τα δείγματα με επικάλυψη μεμβράνης χιτοζάνης και ενσωμάτωση εκχυλίσματος κορίανδρου, εμφανίζουν την πιο ήπια μικροβιακή εξέλιξη. Επιπλέον, τα δείγματα με επικάλυψη HPMC και ενσωμάτωση εκχυλίσματος αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, εμφανίζουν μειωμένη μικροβιολογική εξέλιξη. Όμοια, για τη μικροβιολογική παράμετρο, ολική μικροβιακή χλωρίδα, πιο αποτελεσματική εμφανίστηκε η μεμβράνη χιτοζάνης με ενσωματωμένο κορίανδρο σε αυτή, ενώ για τη μεμβράνη HPMC, πιο

αποτελεσματικός ήταν ο συνδυασμός της μεμβράνης αυτής και ενσωμάτωσης αντιμικροβιακών ουσιών, κορίανδρο και δενδρολίβανο. Επίσης, όσον αφορά τα φυσικά αντιμικροβιακά, ο κορίανδρος έδρασε πιο αποτελεσματικά ενσωματωμένος στη μεμβράνη χιτοζάνης, ενώ το δενδρολίβανο εμφάνισε παρόμοια δραστηριότητα ενσωματωμένο είτε στη μεμβράνη χιτοζάνης είτε μέσα στη μάζα του λουκάνικου.

Όσον αφορά τις θερμοκρασίες αποθήκευσης, για τις μικροβιολογικές παραμέτρους, ολική μικροβιακή χλωρίδα και οξυγαλακτικά βακτήρια, τα δείγματα συντηρούνται καλύτερα στους 0°C, ενώ αντίθετα στους 8°C παρατηρείται η πιο έντονη μικροβιακή εξέλιξη για κάθε δείγμα, κάτι που ήταν αναμενόμενο και που δείχνει την επίδραση της θερμοκρασίας στη μικροβιακή ανάπτυξη. Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών δεν φαίνεται να είναι σημαντικές και ίσως οφείλεται στις μικρές διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών που επιλέχτηκαν.

Όσον αφορά τους ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνη και ενσωμάτωση εκχυλίσματος κορίανδρου είχαν μικρότερο ρυθμό από τα αντίστοιχα με ενσωματωμένο δενδρολίβανο στη μεμβράνη αυτή. Παρόμοιο συμπέρασμα εξάγεται και για τα αποτελέσματα για το ολικό μικροβιακό φορτίο. Επίσης, οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και των οξυγαλακτικών βακτηρίων των δειγμάτων με επικάλυψη HPMC και ενσωμάτωση εκχυλίσματος δενδρολίβανου έχουν μικρότερη τιμή από τους αντίστοιχους των δειγμάτων με ενσωματωμένο κορίανδρο στη μεμβράνη. Ακόμα, τα δείγματα με ενσωμάτωση των αντιμικροβιακών, κορίανδρο και δενδρολίβανο, μέσα στη μάζα των προϊόντων είχαν μεγαλύτερη τιμή ειδικού ρυθμού ανάπτυξης από εκείνα που περιέχουν τα αντιμικροβιακά ενσωματωμένα στις μεμβράνες. Επιπλέον, η θερμοκρασία επιδρά στους ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης και για τις δύο μικροβιολογικές παραμέτρους και συγκεκριμένα, στη θερμοκρασία των 8°C, οι τιμές των ειδικών ρυθμών ανάπτυξης είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με εκείνες για τους 0 και 4°C για κάθε σειρά δειγμάτων.

Οι αναλύσεις της σκληρότητας στα δείγματα έδειξαν ότι η σκληρότητα στα δείγματα παρέμενε σχεδόν σταθερή με το χρόνο με κάποιες αυξομειώσεις ( $5,5 \pm 1$  N). Γενικά πάντως φαίνεται να υπάρχει κάποια αρχική αύξηση που

μπορεί να οφείλεται στη μεταβολή της επιφάνειας των δειγμάτων, λόγω απώλειας της υγρασίας. Η σημαντική μείωση που παρατηρείται στα περισσότερα δείγματα σε μεγαλύτερους χρόνους αποθήκευσης, πιθανότατα είναι αποτέλεσμα δράσης των μικροοργανισμών. Η θερμοκρασία αποθήκευσης των δειγμάτων δεν είχε σημαντική επίδραση στη σκληρότητα των δειγμάτων, ομοίως τα διαφορετικά αντιμικροβιακά δεν φαίνεται να επιδρούν σημαντικά. Οι δύο μεμβράνες, χιτοζάνης και ΗΡΜC, αποδείχτηκε ότι επιδρούν σημαντικά, στατιστικά. Τα επικαλυμμένα δείγματα εμφανίζονται με σχετικά αυξημένη σκληρότητα σε σχέση με αυτά που το αντιμικροβιακό είναι ενσωματωμένο μέσα στο προϊόν.

Η εξέλιξη της φωτεινότητας (L) των δειγμάτων φαίνεται να παραμένει σχεδόν σταθερή σε σχέση με το χρόνο (L της τάξης του 65-70) και στα περισσότερα δείγματα μειώνεται στις αναλύσεις των μεγάλων χρόνων της επιφάνειας, ίσως και εδώ λόγω απώλειας της επιφανειακής υγρασίας (σύμφωνα με τη θεωρία, η απώλεια υγρασίας της επιφάνειας των τροφίμων αυτών οδηγεί σε σκουρόχρωμη απόχρωση). Η θερμοκρασία αποθήκευσης φαίνεται να μην επηρεάζει την εξέλιξη της φωτεινότητας των δειγμάτων. Ωστόσο, ο χρόνος αποθήκευσης επηρεάζει τη φωτεινότητα, αφού σε μεγάλους χρόνους αποθήκευσης, μειώνεται η τιμή της φωτεινότητας σε όλα τα δείγματα.

Οι αναλύσεις του ολικού χρώματος ( $\Delta E$ ) που προέκυψαν ακολουθούσαν τις αντίστοιχες της φωτεινότητας, υποδηλώνοντας ότι η φωτεινότητα ήταν αυτή που μεταβαλλόταν περισσότερο σε σχέση με τους χρωματικούς δείκτες (a και b). Ακόμη, σε ορισμένες μετρήσεις προκύπτει μία σχετική αύξηση του συντελεστή του κίτρινου χρώματος (ο συντελεστής b προς τα θετικά) στις μετρήσεις του χρώματος της επιφάνειας των δειγμάτων σε μεγάλους χρόνους, κάτι που ίσως να αποτελεί ένδειξη για την αρχή της αλλοίωσης των δειγμάτων από τους μικροοργανισμούς.

Όσον αφορά τις προσαρμογές στο μαθηματικό μοντέλο Arrhenius για την εύρεση των ενεργειών ενεργοποίησης, οι τιμές των ενεργειών ενεργοποίησης δεν διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων, ίσως λόγω της μικρής διαφοράς των αντίστοιχων ειδικών ρυθμών ανάπτυξης καθώς και των θερμοκρασιών μεταξύ τους.



Τέλος, όσον αφορά τους χρόνους ζωής που υπολογίστηκαν με βάση τις εξισώσεις που προέκυψαν από το μοντέλο Monod για τα δεδομένα της ολικής μικροβιακής χλωρίδας, καλύτερο χρόνο ζωής εμφάνισαν τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωμάτωσης κορίανδρου σ' αυτή,  $t=22$  ημέρες. Τα δείγματα με το ίδιο αντιμικροβιακό ενσωματωμένο σε μεμβράνη HPMC, είχαν χρόνο ζωής  $t=20$  ημέρες. Για το αντιμικροβιακό δενδρολίβανο, τα δείγματα εμφάνισαν χρόνο ζωής  $t=17$  ημέρες (όταν είναι ενσωματωμένος στη μεμβράνη χιτοζάνης) και  $t=21$  ημέρες (όταν είναι ενσωματωμένος στη μεμβράνη HPMC). Επίσης, τα δείγματα με ενσωματωμένο κορίανδρο μέσα στην κρεατόμαζα εμφάνισαν χρόνο ζωής,  $t=15$  ημέρες και αντίστοιχα, για τον δενδρολίβανο,  $t=18$  ημέρες. Όσον αφορά τα Οξυγαλακτικά βακτήρια, τους καλύτερους χρόνους έδωσαν τα δείγματα με επικάλυψη χιτοζάνης και ενσωμάτωσης κορίανδρου σε αυτή,  $t=36$  ημέρες και αντίστοιχα με ενσωμάτωση δενδρολίβανου σε αυτή,  $t=28$  ημέρες. Τα δείγματα με επικάλυψη HPMC έδωσαν μικρότερους χρόνους ζωής και για τα δύο αντιμικροβιακά, συγκεκριμένα  $t=14$  ημέρες για το αντιμικροβιακό κορίανδρο ενσωματωμένο στη μεμβράνη και αντίστοιχα,  $t=18$  ημέρες για το αντιμικροβιακό δενδρολίβανο. Τα δείγματα, όπου τα αντιμικροβιακά ήταν ενσωματωμένα μέσα στην κρεατόμαζα έδωσαν αρκετά καλούς χρόνους ζωής,  $t=25$  ημέρες για το αντιμικροβιακό κορίανδρο και  $t=26$  ημέρες για το αντιμικροβιακό δενδρολίβανο. Τα δείγματα με επικάλυψη HPMC εμφάνισαν πιο μικρούς χρόνους ζωής, ίσως λόγω του υψηλού μικροβιακού φορτίου που είχε η πρώτη ύλη σ' αυτή τη σειρά πειραμάτων.

## **8.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ**

Γενικά, η χρησιμοποίηση φυσικών αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ενσωματωμένων είτε σε εδώδιμες μεμβράνες είτε στη μάζα των τροφίμων, με σκοπό την αντικατάσταση των υπαρχόντων συντηρητικών και την καθυστέρηση της μικροβιακής και ποιοτικής αλλοίωσής τους, αποτελεί ένα νέο αντικείμενο έρευνας και εφαρμογής για τη συντήρηση των τροφίμων. Ο τομέας αυτός φαίνεται να είναι αρκετά υποσχόμενος και να εξελίσσεται ραγδαία με σημαντική αποδοχή από τους καταναλωτές, ιδιαίτερα μετά τις

μελέτες για τις ιδιότητες των φλαβονοειδών. Για κάποιον που ενδιαφέρεται να πραγματοποιήσει περαιτέρω μελέτη πάνω σε αυτό το αντικείμενο προτείνεται:

- Η μελέτη της συνεργιστικής δράσης αντιμικροβιακής ουσίας ενσωματωμένης μέσα στο προϊόν και επικάλυψη αυτού με εδώδιμες μεμβράνες.
- Εξέταση διαφορετικών συγκεντρώσεων ενός φυσικού αντιμικροβιακού και συσχέτιση της αντιμικροβιακής δράσης του είτε μέσα στη μάζα του δείγματος είτε στις εδώδιμες μεμβράνες.
- Η εξέταση του συνδυασμού των φυσικών αντιμικροβιακών και η σύγκρισή τους, καθώς ενδέχεται ο συνδυασμός να δώσει καλύτερα (ή και χειρότερα) αποτελέσματα σε σχέση με τα αντίστοιχα της κάθε ουσίας μόνης της και η ενσωμάτωσή τους τόσο στις μεμβράνες όσο και στο προϊόν.
- Η μελέτη των δειγμάτων σε θερμοκρασίες με μεγαλύτερο εύρος, για τη διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στη συντήρηση των δειγμάτων.
- Η μελέτη άλλων φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών, όπως η δάφνη, το μοσχοκάρυδο, για τη διερεύνηση της αντιμικροβιακής τους δράσης είτε μέσα στη μάζα του δείγματος είτε στις εδώδιμες μεμβράνες.
- Η μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης φυσικών αντιμικροβιακών προσθετικών σε δείγματα εμβολιασμένα με ειδική καλλιέργεια παθογόνων μικροοργανισμών σχετικών με το τρόφιμο που εξετάζεται για παράδειγμα δείγματα με καλλιέργεια από *Listeria monocytogenes*.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aider Mohammed, Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: review, *Food science and technology*, 2010, 43: 837-842.

Arihara K, Strategies for designing novel functional meat products, *Meat science*, 2006, 74: 219-229.

Aumerich T., Picouet A.P., Monfort M.J., Decontamination technologies for meat products, *Meat Science*, 2007, 78: 114-119.

Beverly R., Janes M., Prinyawiwatkula W., No H., Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*, *Food Microbiology*, 2007, 25: 534-537.

Bourtoom, T., Edible films and coatings: characteristics and properties, Department of Material Product Technology, Prince of Songkla University, Thailand, 2008, vol.15.

Burdock G., Carabin I., Safety assessment of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil as a food ingredient, *Food and chemical toxicology*, 2008, 47: 22-34.

Davidson P. Michael, Sofos N. John, Branen L. A., "Antimicrobials in food", Third Edition, Taylor & Francis Group, 2005, 1-10, 429-454, 573-579.

Davies Andrew, Board Ron, "The Microbiology of Meat and Poultry", Blackie Academic & Professional, 1998.

Dutta P., Tripathi Shipra, Mehrotra G., Dutta Joydeep, Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food application, *Food chemistry*, 2008, 114: 1173-1182.

Embuscado E. M., Huber C. K., "Edible films and coatings for food applications", Springer, 2009, 67-95, 232-298.

- Frye C.B., "Manufacturing sausage without casings", 1996, 49: 169-171.
- Georgantelis D., Ambrosiadis I, Katikou P, Blekas G, Georgakis S, Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C, Meat Science, 2006, 74: 113-130.
- Gerhard Feiner, "Meat products handbook, Practical science and technology", CRC Press LLC & Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, 2006.
- Hood D.E., Mead G.C., (1993) "Modified atmosphere storage of fresh meat and poultry", T. Blackie, Glasgow, UK, 1993, 34: 71-80.
- Huiyun Z., Kong B., Xiong Y., Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices at 4°C, Meat Science, 2008, 81: 686-692.
- Humphreys P., "Vacuum packaging of fresh meat – An overview", Utrecht, 1996, 86: 214-226.
- Imran M., El-Fahmy S., Revol-Junelles A., Desobry S., Cellulose derivative based active coatings: Effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films, Carbohydrate Polymers, 2010, 81: 219-225.
- Joseph Kerry, John Kerry and David Ledward, "Meat processing, Improving quality", CRC Press LLC & Woodhead Publishing Ltd, Cambridge 2002.
- Kanatt S., Chander R., Sharma A., Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products, Food Chemistry, 2007, 107: 845-852.
- Kerry J., O'Grady M., Hogan S., Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review, Meat science, 2006, 74: 113-130.

Kong Ming, Guang Chen Xi, Xing Ke, Jin Park Hyun, Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review, *International journal of food microbiology*, 2010, 144: 51-63.

Lin Daniel, Zhao Yanyun, *Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables*, 2007, 6: 60-75.

Naidu S. A., *Natural Food Antimicrobial Systems*, Director, Center for Antimicrobial Research Department of Food, Nutrition & Consumer Sciences California State Polytechnic University, 2000.

Pastor C., Sanchez-Gonzalez L., Chafer M., Chiralt A., Gonzalez-Martinez C., Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content, *Carbohydrate Polymer*, 2010, 82: 1174-1183.

*Pathak V., Bhat F.Z., Bukhari A.A.S., Kotwal K.S., and. Kumar R.R,* Recent Trends in Meat Packaging, 2006.

Ponce Al., Roura S., Del Valle C., Moreira M., Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts, *Postharvest Biology and Technology*, 2008, 49: 294-300.

Purnell G., "Robotic Equipment in the Meat Industry", *Meat Science*, 1998, 49: 297-307.

Quattara Blaise, Simard Ronald, Piette Gabriel, Begin Andre, Holley Richard, Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan, *international journal of food microbiology*, 2000, 62: 139-148.

Quintavalla Stefania, Loredana Vicini, Antimicrobial food packaging in meat industry, *Meat science*, 2002, 62: 373-380.

Roller Sibel, *Natural antimicrobials for the minimal processing of foods*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2003.

Scollan N, Hocquette J, Nuernberg K., Dannenberger D., Richardson I., Moloney A., Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality, *Meat science*, 2006, 74: 17-33.

Sofos John, Challenges to meat safety in the 21<sup>st</sup> century, *Meat science*, 2008, 78: 3-13.

Sorheim O., Nissen H., "Current technology for MAP Meat", *Food Marketing and Technology*, 2000.

Soultos N., Tzikas Z., Abraham A., Georgantelis D., Ambrosiadis I., Chitosan effects on quality properties of greek style fresh pork sausages, *Meat science*, 2008, 80: 1150-1156.

Tajkarimi M., Ibrahim S., Cliver D., Antimicrobial herb and spice compounds in food, *Food control*, 2010, 21:1199-1218.

Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J., Effects of adding citrus waste water, thyme, oregano essential oil on the chemical, physical and sensory characteristics of a bologna sausage, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2009, 10: 655-660.

Weiss J., Gibis M., Schuh V., Salminen H., Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products, *Meat Science*, 2010, 86: 196-213.

Wenjiao Fan, Junxiu Sun, Yunchuan Chen, Jian Qiu, Yan Zhang, Yuanlong Chi, Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage, *Food Chemistry*, 2008, 115: 66-70.

Y.H. Hui, Wai-Kit Nip, Robert W. Rogers, Owen A. Young, "Meat Science and Applications", Marcel Dekker Inc., New York, 2001.

Zagory D. "Modified atmosphere packaging", John Wiley and Sons Inc., New York, 1997.

Zhou G., Xu X., Liu Y., Preservation technologies for fresh meat – a review, Meat science, 2010, 86: 119-128.

Π. Ταούκης, Β. Ωραιοπούλου, “Εφαρμοσμένη μικροβιολογία, χημεία και μηχανική διεργασιών τροφίμων”, Εκδόσεις Ε.Μ.Π., Αθήνα 2009, 84-119.

Κ. Τζιά, Π. Ταούκης, Β. Ωραιοπούλου, “Επιστήμη και μηχανική τροφίμων: συστατικά, ιδιότητες, ρεολογία, μικροβιολογία, ποιότητα, συσκευασία”, Εκδόσεις Ε.Μ.Π., Αθήνα 2008, 227-265.

Β. Ωραιοπούλου, Κ. Τζιά, “Σχεδιασμός Βιομηχανιών Τροφίμων, Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων”, Εκδόσεις Ε.Μ.Π., Αθήνα, 2008, 270-296.

Χίνη Θ., Σημειώσεις Γενικής Μικροβιολογίας, ΤΕΙ Αθήνας, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα, 2006, 71-87.





## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Αποτελέσματα για το υπόστρωμα PCA για τις μεμβράνες.

Univariate Tests of Significance for pca (Spreadsheet20) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
<b>Intercept</b>	2,361909E+15	1	2,361909E+15	4,687232	0,038756
<b>memvrani</b>	1,179053E+15	1	1,179053E+15	2,339844	0,136938
<b>antimikroviako</b>	6,321189E+14	1	6,321189E+14	1,254446	0,271895
<b>T</b>	2,639687E+15	2	1,319843E+15	2,619243	0,090014
<b>xronos</b>	2,151337E+15	2	1,075668E+15	2,134675	0,136499
<b>Error</b>	1,461318E+16	29	5,039026E+14		

Αποτελέσματα για το υπόστρωμα MRS για τις μεμβράνες.

Univariate Tests of Significance for mrs (Spreadsheet20) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
<b>Intercept</b>	4,093073E+14	1	4,093073E+14	8,372912	0,007158
<b>memvrani</b>	3,017290E+14	1	3,017290E+14	6,172257	0,018997
<b>antimikroviako</b>	2,977677E+13	1	2,977677E+13	0,609122	0,441443
<b>T</b>	2,398412E+14	2	1,199206E+14	2,453131	0,103684
<b>xronos</b>	4,287074E+14	2	2,143537E+14	4,384882	0,021686
<b>Error</b>	1,417657E+15	29	4,888471E+13		

Duncan test; variable mrs (Spreadsheet20) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 489E11, df = 29,000					
	xronos	{1}	{2}	{3}	
<b>1</b>	1		0,603874	0,012367	
<b>2</b>	2	0,603874		0,031512	
<b>3</b>	3	0,012367	0,031512		

Αποτελέσματα για το χρώμα στα δείγματα με μεμβράνες.

Univariate Tests of Significance for xrwma (Spreadsheet20) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
<b>Intercept</b>	153086,7	1	153086,7	229928,2	0,000000
<b>memvrani</b>	0,0	1	0,0	0,0	0,907796
<b>antimikroviako</b>	2,4	1	2,4	3,6	0,066644
<b>T</b>	1,5	2	0,7	1,1	0,347049
<b>xronos</b>	10,3	2	5,2	7,8	0,001990
<b>Error</b>	19,3	29	0,7		

Duncan test; variable xrwma (Spreadsheet20) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests  
Error: Between MS = ,66580, df = 29,000

	xronos	{1}	{2}	{3}
1	1		0,663303	0,001627
2	2	0,663303		0,003729
3	3	0,001627	0,003729	

### Αποτελέσματα στην υφή στα δείγματα με μεμβράνες.

Univariate Tests of Significance for ifi (Spreadsheet20) Sigma-restricted parameterization  
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	1076,059	1	1076,059	1484,851	0,000000
memvrani	36,341	1	36,341	50,147	0,000000
antimikroviako	1,240	1	1,240	1,710	0,201207
T	3,574	2	1,787	2,466	0,102555
xronos	1,564	2	0,782	1,079	0,353231
Error	21,016	29	0,725		

Duncan test; variable ifi (Spreadsheet20) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = ,72469, df = 29,000

	memvrani	{1}	{2}
1	1		0,000139
2	2	0,000139	

### Αποτελέσματα στο PCA στα δείγματα με αντιμικροβιακό.

Univariate Tests of Significance for pca (Spreadsheet3) Sigma-restricted parameterization  
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	2,805403E+15	1	2,805403E+15	8,820282	0,004810
seira	3,308158E+15	5	6,616316E+14	2,080192	0,085941
T	2,651611E+15	2	1,325805E+15	4,168377	0,021989
xronos	2,595950E+15	2	1,297975E+15	4,080877	0,023671
Error	1,399476E+16	44	3,180627E+14		

Duncan test; variable pca (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = 318E12, df = 44,000

	T	{1}	{2}	{3}
1	1		0,594184	0,012353
2	2	0,594184		0,034088
3	3	0,012353	0,034088	

Duncan test; variable pca (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = 318E12, df = 44,000

	xronos	{1}	{2}	{3}
1	1		0,493881	0,011737
2	2	0,493881		0,045858
3	3	0,011737	0,045858	

Αποτελέσματα στο MRS στα δείγματα με αντιμικροβιακό.

Univariate Tests of Significance for mrs (Spreadsheet3) Sigma-restricted parameterization  
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	4,962126E+14	1	4,962126E+14	11,63573	0,001397
seira	4,659265E+14	5	9,318530E+13	2,18511	0,072973
T	3,831643E+14	2	1,915821E+14	4,49243	0,016773
xronos	5,211536E+14	2	2,605768E+14	6,11029	0,004553
Error	1,876406E+15	44	4,264559E+13		

Duncan test; variable mrs (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = 426E11, df = 44,000

	T	{1}	{2}	{3}
1	1		0,432042	0,007931
2	2	0,432042		0,040974
3	3	0,007931	0,040974	

Duncan test; variable mrs (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = 426E11, df = 44,000

	xronos	{1}	{2}	{3}
1	1		0,528569	0,002776
2	2	0,528569		0,011000
3	3	0,002776	0,011000	

Αποτελέσματα που αφορούν το χρώμα στα δείγματα με αντιμικροβιακό.

Univariate Tests of Significance for xrwma (Spreadsheet3) Sigma-restricted parameterization  
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	231870,7	1	231870,7	385573,5	0,000000
seira	13,9	5	2,8	4,6	0,001785
T	1,5	2	0,7	1,2	0,300964
xronos	11,5	2	5,8	9,6	0,000355
Error	26,5	44	0,6		

Duncan test; variable xrwma (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests  
Error: Between MS = ,60137, df = 44,000

	seira	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	1		0,923780	0,149751	0,001652	0,036518	0,007495
2	2	0,923780		0,152624	0,001898	0,038662	0,008275
3	3	0,149751	0,152624		0,058227	0,437986	0,162507
4	4	0,001652	0,001898	0,058227		0,216408	0,545714
5	5	0,036518	0,038662	0,437986	0,216408		0,474330
6	6	0,007495	0,008275	0,162507	0,545714	0,474330	

Duncan test; variable xrwma (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests  
Error: Between MS = ,60137, df = 44,000

	xronos	{1}	{2}	{3}
1	1		0,526155	0,001458
2	2	0,526155		0,000334
3	3	0,001458	0,000334	

Αποτελέσματα στην υφή για τα δείγματα με αντιμικροβιακά.

Univariate Tests of Significance for ifi (Spreadsheet3) Sigma-restricted parameterization  
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	1407,704	1	1407,704	3176,145	0,000000
seira	55,589	5	11,118	25,085	0,000000
T	7,390	2	3,695	8,337	0,000851
xronos	1,929	2	0,965	2,176	0,125529
Error	19,501	44	0,443		

Duncan test; variable ifi (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = ,44321, df = 44,000

	seira	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	1		0,180544	0,000028	0,000033	0,495924	0,221848
2	2	0,180544		0,000065	0,000180	0,452872	0,859029
3	3	0,000028	0,000065		0,004654	0,000033	0,000056
4	4	0,000033	0,000180	0,004654		0,000063	0,000113
5	5	0,495924	0,452872	0,000033	0,000063		0,533102
6	6	0,221848	0,859029	0,000056	0,000113	0,533102	

Duncan test; variable ifi (Spreadsheet3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = ,44321, df = 44,000

	{1}	{2}	{3}
1		0,002275	0,000765
2	0,002275		0,620954
3	0,000765	0,620954	

Αποτελέσματα στους ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης για τα όλα τα δείγματα.

Univariate Tests of Significance for k pca (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization  
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	2,570391	1	2,570391	7163,572	0,000000
seira	0,049797	8	0,006225	17,348	0,000002
T	0,027006	2	0,013503	37,632	0,000001
Error	0,005741	16	0,000359		

Duncan test; variable k pca (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error:  
Between MS = ,00036, df = 16,000

	seira	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
1	1		0,000027	0,001298	0,000808	0,000501	0,015065	0,039649	0,508401	0,116097
2	2	0,000027		0,008152	0,012568	0,018128	0,000709	0,000023	0,000037	0,000104
3	3	0,001298	0,008152		0,770104	0,580207	0,213730	0,000049	0,004391	0,031417
4	4	0,000808	0,012568	0,770104		0,768490	0,149887	0,000038	0,002760	0,020370
5	5	0,000501	0,018128	0,580207	0,768490		0,099608	0,000031	0,001690	0,012685
6	6	0,015065	0,000709	0,213730	0,149887	0,099608		0,000222	0,047987	0,257487
7	7	0,039649	0,000023	0,000049	0,000038	0,000031	0,000222		0,013009	0,001788
8	8	0,508401	0,000037	0,004391	0,002760	0,001690	0,047987	0,013009		0,300143
9	9	0,116097	0,000104	0,031417	0,020370	0,012685	0,257487	0,001788	0,300143	

Duncan test; variable k mrs (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests  
Error: Between MS = ,00005, df = 16,000

	T	{1}	{2}	{3}
1	1		0,000159	0,000084
2	2	0,000159		0,000159
3	3	0,000084	0,000159	

## MRS

Univariate Tests of Significance for k mrs (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
<b>Intercept</b>	1,820419	1	1,820419	35182,88	0,000000
<b>seira</b>	0,062566	8	0,007821	151,15	0,000000
<b>T</b>	0,021245	2	0,010622	205,30	0,000000
<b>Error</b>	0,000828	16	0,000052		

Duncan test; variable k mrs (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00005, df = 16,000										
	seira	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
1	1		0,000098	0,170441	0,000033	0,000062	0,000230	0,000027	0,000036	0,000084
2	2	0,000098		0,000375	0,000025	0,000033	0,000062	0,000023	0,000027	0,000036
3	3	0,170441	0,000375		0,000027	0,000036	0,000088	0,000025	0,000033	0,000062
4	4	0,000033	0,000025	0,000027		0,000084	0,000036	0,018851	0,000159	0,000062
5	5	0,000062	0,000033	0,000036	0,000084		0,001702	0,000062	0,208480	0,704766
6	6	0,000230	0,000062	0,000088	0,000036	0,001702		0,000033	0,000195	0,002886
7	7	0,000027	0,000023	0,000025	0,018851	0,000062	0,000033		0,000084	0,000036
8	8	0,000036	0,000027	0,000033	0,000159	0,208480	0,000195	0,000084		0,126386
9	9	0,000084	0,000036	0,000062	0,000062	0,704766	0,002886	0,000036	0,126386	

Duncan test; variable k mrs (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00005, df = 16,000				
	T	{1}	{2}	{3}
1	1		0,000159	0,000084
2	2	0,000159		0,000159
3	3	0,000084	0,000159	