



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**«Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης οζονισμού και φυσικών
αντιμικροβιακών παραμέτρων (χιτοζάνης και αιθέριων ελαίων) στην
αύξηση του χρόνου ζωής νωπού κοτόπουλου συσκευασμένου σε
τροποποιημένη ατμόσφαιρα, υπό κενό και αέρα και συντηρούμενο
υπό ψύξη»**

Γκέρτζου Ν. Ιωάννα

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

2018



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**«Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης οζονισμού και φυσικών
αντιμικροβιακών παραμέτρων (χιτοζάνης και αιθέριων ελαίων) στην
αύξηση του χρόνου ζωής νωπού κοτόπουλου συσκευασμένου σε
τροποποιημένη ατμόσφαιρα, υπό κενό και αέρα και συντηρούμενο
υπό ψύξη»**

Γκέρτζου Ν. Ιωάννα

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

2018

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2».

Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 819^A /19-12-2014

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Δεμερτζής Γ. Παναγιώτης, Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Ακρίδα-Δεμερτζή Κωνσταντούλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων

Μπαδέκα Αναστασία, Επίκουρη Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 10-07-2018

Θέμα: «Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης οζονισμού και φυσικών αντιμικροβιακών παραμέτρων (χιτοζάνης και αιθέριων ελαίων) στην αύξηση του χρόνου ζωής νωπού κοτόπουλου συσκευασμένου σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, υπό κενό και αέρα και συντηρούμενο υπό ψύξη».

Ορισμός επταμελούς εξεταστικής επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 978^A/13-06-2018

1. Δεμερτζής Γ. Παναγιώτης, Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Ακρίδα-Δεμερτζή Κωνσταντούλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Μπαδέκα Αναστασία, Επίκουρη Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Κωνσταντίνου Ιωάννης, Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Κούκκου Ειρήνη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Σακκάς Βασίλειος, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Χελά Δήμητρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό « Άριστα 10 » στις 25-06-2018

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας

Λέκκα Μαρία - Ελένη, Καθηγήτρια

Η Γραμματέας του Τμήματος

Ξανθή Τουτουτζόγλου

Αφιερώνεται στη μνήμη του αγαπημένου μου παππού
Γεώργιου Σ. Γκαρτζονίκα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή διεξήχθη στο ερευνητικό Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου, υπό την επίβλεψη του αείμνηστου Αναπληρωτή Καθηγητή του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων Ρηγανάκου Α. Κυριάκου, προς τον οποίο εκφράζω τις θερμές ευχαριστίες μου για την διαρκή παρακολούθηση, τη σωστή και υπεύθυνη καθοδήγηση, την αδιάκοπη και φιλική συνεργασία και ενθάρρυνση καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της ερευνητικής μου εργασίας.

Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στον Καθηγητή του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων κ. Δεμερτζή Γ. Παναγιώτη, ο οποίος ανέλαβε την επίβλεψη της διδακτορικής μου διατριβής, για την αμέριστη βοήθειά του, την πολύτιμη συμβουλευτική του υποστήριξη και την καθοδήγηση της συγγραφής του δοκιμίου και στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων κ. Ακρίδα-Δεμερτζή Κωνσταντούλα, για την πολύτιμη βοήθεια, την υποστήριξη, την ευγένεια και την ενθάρρυνση καθ' όλη την διάρκεια της ερευνητικής μου εργασίας. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επίκουρη Καθηγήτρια του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων κ. Μπαδέκα Αναστασία, για τις πολύ σημαντικές συμβουλές της και την καθοδήγησή της.

Τέλος, κρίνεται σκόπιμο να ευχαριστήσω τον κ. Δρόσο Παναγιώτη, Γεωπόνο, για την πολύτιμη βοήθειά του στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της έρευνας καθώς και τις εύστοχες υποδείξεις και συμβουλές του.

Ι.Ν.ΤΚΕΡΤΖΟΥ

Συντομογραφίες

A.E.	αιθέρια έλαια
Δ.	δενδρολίβανο
ΙΣΥ	ικανότητα συγκράτησης ύδατος
M.B.	μοριακό βάρος
μl	μικρόλιτρο
O.M.X.	ολική μεσόφιλη χλωρίδα
O.O.	οξικό οξύ
π.X.	προ Χριστού
Σ.Β.	σωματικό βάρος
X.	χιτοζάνη
Å	Amstrong
Atm	ατμόσφαιρα
BOD	βιολογικά απαιτούμενο οξυγόνο
COD	χημικά απαιτούμενο οξυγόνο
CFU	μονάδα σχηματισμού αποικίας
D.D.	βαθμός ακετυλίωσης
EVA	συμπολυμερές αιθυλενίου και οξικού βινυλεστέρα
FDA	Food and Drug Administration
g	γραμμάριο
HDPE	πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας
HMW	μεγάλου μοριακού βάρους
IEP	ισοηλεκτρικό σημείο πρωτεϊνών
kDa	κιλοντάλτον
kg	χιλιόγραμμο (κιλά)
kGy	κιλογκρεϊ
l	λίτρο
LDPE	χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο
LLDPE	γραμμικό χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο
LPS	λιποπολυσακαχαρίτες
LMW	μικρού μοριακού βάρους
M.A.P.	Συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας
M.I.C.	ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση
min	λεπτό
mg	μιλιγραμμάριο
ml	μιλιλίτρο
MMW	μεσαίου μοριακού βάρους
mV	μili βόλτ
nm	νανόμετρο
PA	πολυαμίδιο
PE	πολυαιθυλένιο
ppm	μέρη στο εκατομμύριο
pKa	σταθερά διάσπασης οξέος
PVDC	πολυβινυλιδενοχλωρίδιο
UV	ultra violet
Vo	βολτ
Vol	όγκος
v/v	volume/volume

v/w	volume/weight
w/v	weight/volume
w	watt
C	δείγμα αναφοράς χωρίς συσκευασία
CP	δείγμα αναφοράς σε αερόβια συσκευασία
CP + 2ppm O₃	δείγμα σε αερόβια συσκευασία και επεξεργασμένο με 2 ppm O ₃
CP + 5ppm O₃	δείγμα σε αερόβια συσκευασία και επεξεργασμένο με 5 ppm O ₃
CP + 10ppm O₃	δείγμα σε αερόβια συσκευασία και επεξεργασμένο με 10 ppm O ₃
CV	δείγμα αναφοράς σε συσκευασία υπό κενό
CV + 2ppm O₃	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό και επεξεργασμένο με 2 ppm O ₃
CV + 5ppm O₃	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό και επεξεργασμένο με 5 ppm O ₃
CV + 10ppm O₃	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό και επεξεργασμένο με 10 ppm O ₃
CMAP	δείγμα αναφοράς σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας
CMAP + 2ppm O₃	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και επεξεργασμένο με 2 ppm O ₃
CMAP + 5ppm O₃	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και επεξεργασμένο με 5 ppm O ₃
CMAP + 10ppm O₃	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και επεξεργασμένο με 10 ppm O ₃
CP + 0,5% X	δείγμα σε αερόβια συσκευασία επεξεργασμένο με 0,5% χιτοζάνη
CP + 1,0% X	δείγμα σε αερόβια συσκευασία επεξεργασμένο με 1,0% χιτοζάνη
CP + 1,5% X	δείγμα σε αερόβια συσκευασία επεξεργασμένο με 1,5% χιτοζάνη
CP + 1,5% O.O.	δείγμα σε αερόβια συσκευασία επεξεργασμένο με 1,5% οξικό οξύ
CV + 0,5% X	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό επεξεργασμένο με 0,5% χιτοζάνη
CV + 1,0% X	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό επεξεργασμένο με 1,0% χιτοζάνη
CV + 1,5% X	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό επεξεργασμένο με 1,5% χιτοζάνη
CV + 1,5% O.O.	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό επεξεργασμένο με 1,5% οξικό οξύ
CMAP + 0,5% X	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας επεξεργασμένο με 0,5% χιτοζάνη
CMAP + 1,0% X	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας επεξεργασμένο με 1,0% χιτοζάνη
CMAP + 1,5% X	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας επεξεργασμένο με 1,5% χιτοζάνη
CMAP + 1,5% O.O.	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας επεξεργασμένο με 1,5% οξικό οξύ
CP + 0,1% Δ	δείγμα σε αερόβια συσκευασία και επεξεργασμένο με 0,1% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου
CP + 0,5% Δ	δείγμα σε αερόβια συσκευασία και επεξεργασμένο με 0,5% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου
CP + 1% Δ	δείγμα σε αερόβια συσκευασία και επεξεργασμένο με 1,0% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου
CV + 0,1% Δ	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό και επεξεργασμένο με 0,1% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου
CV + 0,5% Δ	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό και επεξεργασμένο με 0,5% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου
CV + 1% Δ	δείγμα σε συσκευασία υπό κενό και επεξεργασμένο με 1,0% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου
CMAP + 0,1% Δ	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και επεξεργασμένο με 0,1% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου

CMAP + 0,5% Δ	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και επεξεργασμένο με 0,5% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου
CMAP + 1% Δ	δείγμα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και επεξεργασμένο με 1,0% αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	Σελ. 1
1.1	Εισαγωγή	σελ. 1
1.2	Η κρεοπαραγωγός πτηνοτροφία στην Ελλάδα	σελ. 1
1.3	Κρεοπαραγωγός τύπος ορνίθων	σελ. 5
1.4	Ποιοτικά χαρακτηριστικά κρέατος κοτόπουλου	σελ. 6
1.4.1	Χημική σύσταση και λειτουργικές ιδιότητες	σελ. 6
1.4.2	Εξωτερική εμφάνιση	σελ. 8
1.4.3	Τεχνολογία παραγωγής κρέατος κοτόπουλου	σελ. 8
1.5	Μικροβιολογία του κρέατος	σελ. 10
1.5.1	Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί	σελ. 10
1.5.2	Μικροχλωρίδα που εμπλέκεται στα στάδια τυποποίησης	σελ. 10
1.5.3	Παθογόνοι μικροοργανισμοί του κοτόπουλου	σελ. 11
1.5.3.1	<i>Salmonella</i> spp.	σελ. 12
1.5.3.2	<i>Campylobacter</i> spp.	σελ. 12
1.5.3.3	<i>Staphylococcus</i> spp.	σελ. 12
1.5.3.4	<i>Clostridium</i> spp.	σελ. 13
1.5.3.5	<i>Escherichia coli</i>	σελ. 13
1.5.3.6	<i>Listeria</i> spp.	σελ. 14
1.6	Σύγχρονοι μέθοδοι επεξεργασίας και συντήρησης	σελ. 15
1.6.1	Όζον	σελ. 15
1.6.1.1	Χημικές και φυσικές ιδιότητες του όζοντος	σελ. 16
1.6.1.2	Παρασκευή όζοντος	σελ. 18
1.6.1.3	Μηχανισμός δράσης	σελ. 21
1.6.1.4	Αντιμικροβιακή δράση	σελ. 22
1.6.1.5	Όζον και πόσιμο νερό	σελ. 24
1.6.1.6	Χρήση του όζοντος στη βιομηχανία τροφίμων	σελ. 27
1.6.1.7	Σημασία του όζοντος για την υγιεινή των τροφίμων	σελ. 28
1.6.1.8	Τοξικότητα	σελ. 35
1.6.2	Αιθέρια έλαια (Α.Ε.)	σελ. 35
1.6.2.1	Σύσταση των Α.Ε.	σελ. 36
1.6.2.2	Αντιμικροβιακή δράση των Α.Ε.	σελ. 37
1.6.2.3	Μηχανισμός αντιβακτηριακής δράσης των Α.Ε.	σελ. 40

1.6.2.4	Ευαισθησία των θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων έναντι της δράσης των Α.Ε.	σελ. 42
1.6.2.5	Μελέτες της αντιμικροβιακής δράσης των αιθέριων ελαίων σε κρέας και προϊόντα κρέατος	σελ. 44
1.6.2.6	Το δενδρολίβανο- <i>Rosmarinus officinalis</i>	σελ. 45
1.6.3	Χιτίνη και Χιτοζάνη	σελ. 46
1.6.3.1	Γενικά χαρακτηριστικά – Προέλευση	σελ. 46
1.6.3.2	Αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης	σελ. 48
1.6.3.3	Παράγοντες που επηρεάζουν την αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης	σελ. 50
1.6.3.4	Μηχανισμός αντιβακτηριακής δράσης της χιτοζάνης	σελ. 54
1.6.3.5	Εφαρμογές στη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων	σελ. 59
1.6.3.6	Μελέτες της αντιμικροβιακής δράσης της χιτοζάνης σε κρέας και προϊόντα κρέατος	σελ. 62
1.6.4	Συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP)	σελ. 63
1.6.5	Συσκευασία υπό κενό	σελ. 64
1.7	Πλαστικά υλικά συσκευασίας	σελ. 66
1.8	Οργανοληπτική εξέταση τροφίμων	σελ. 68
2.	ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΕΡΕΥΝΑΣ	σελ. 72
3.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	σελ. 73
3.1	Υλικά	σελ. 73
3.1.1	Δείγματα κοτόπουλου – Υλικά συσκευασίας	σελ. 73
3.1.1.1	Πειραματική περίπτωση I	σελ. 73
3.1.1.2	Πειραματική περίπτωση II	σελ. 74
3.1.1.3	Πειραματική περίπτωση III	σελ. 74
3.2	Μέθοδοι	σελ. 75
3.2.1	Φυσικοχημικές αναλύσεις	σελ. 75
3.2.1.1	Μέτρηση χρώματος	σελ. 75
3.2.1.2	Ph	σελ. 75
3.2.2	Μικροβιολογικές αναλύσεις	σελ. 75
3.2.3	Οργανοληπτική αξιολόγηση	σελ. 76
3.2.4	Στατιστική επεξεργασία	σελ. 77
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	σελ. 78
4.1	Πειραματική περίπτωση I	σελ. 78

4.1.1	Χημικές αναλύσεις	σελ. 78
4.1.1.1	pH	σελ. 78
4.1.1.2	Χρώμα	σελ. 81
4.1.2	Μικροβιολογικές αναλύσεις	σελ. 86
4.1.2.1	Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (O.M.X.)	σελ. 86
4.1.2.2	Ψευδομονάδες (<i>Pseudomonas</i> spp.)	σελ. 90
4.1.2.3	Ζύμες και Μύκητες	σελ. 93
4.1.2.4	Γαλακτικά βακτήρια	σελ. 95
4.1.2.5	Εντεροβακτήρια	σελ. 98
4.1.3	Οργανοληπτική αξιολόγηση	σελ. 101
4.1.3.1	Οσμή	σελ. 101
4.1.3.2	Υφή	σελ. 103
4.1.3.3	Εμφάνιση	σελ. 106
4.1.3.4	Γεύση	σελ. 108
4.1.4	Συμπεράσματα	σελ. 111
4.2	Πειραματική περίπτωση II	σελ. 113
4.2.1	Χημικές αναλύσεις	σελ. 113
4.2.1.1	pH	σελ. 113
4.2.1.2	Χρώμα	σελ. 116
4.2.2	Μικροβιολογικές αναλύσεις	σελ. 122
4.2.2.1	Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (O.M.X.)	σελ. 122
4.2.2.2	Ψευδομονάδες (<i>Pseudomonas</i> spp.)	σελ. 126
4.2.2.3	Ζύμες και Μύκητες	σελ. 129
4.2.2.4	Γαλακτικά βακτήρια	σελ. 132
4.2.2.5	Εντεροβακτήρια	σελ. 135
4.2.3	Οργανοληπτική αξιολόγηση	σελ. 138
4.2.3.1	Οσμή	σελ. 138
4.2.3.2	Υφή	σελ. 141
4.2.3.3	Εμφάνιση	σελ. 143
4.2.3.4	Γεύση	σελ. 145
4.2.4	Συμπεράσματα	σελ. 149
4.3	Πειραματική περίπτωση III	σελ. 151
4.3.1	Χημικές αναλύσεις	σελ. 151

4.3.1.1	pH	σελ.	151
4.3.1.2	Χρώμα	σελ.	154
4.3.2	Μικροβιολογικές αναλύσεις	σελ.	162
4.3.2.1	Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.)	σελ.	162
4.3.2.2	Ψευδομονάδες (<i>Pseudomonas</i> spp.)	σελ.	166
4.3.2.3	Ζύμες και Μύκητες	σελ.	169
4.3.2.4	Γαλακτικά βακτήρια	σελ.	171
4.3.2.5	Εντεροβακτήρια	σελ.	174
4.3.3	Οργανοληπτική αξιολόγηση	σελ.	177
4.3.3.1	Οσμή	σελ.	177
4.3.3.2	Υφή	σελ.	179
4.3.3.3	Εμφάνιση	σελ.	181
4.3.3.4	Γεύση	σελ.	183
4.3.4	Συμπεράσματα	σελ.	186
5.	ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	σελ.	188
6.	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	σελ.	190
7.	ABSTRACT	σελ.	192
8.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	σελ.	194
8.1	Ελληνική βιβλιογραφία	σελ.	216
8.2	Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	σελ.	217
	Παράρτημα Ι	σελ.	218
	Παράρτημα ΙΙ	σελ.	232
	Παράρτημα ΙΙΙ	σελ.	245
9.	ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ	σελ.	257

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα πτηνοτροφικά προϊόντα, αυγά και κρέας έχουν εξαιρετική διατροφική και εμπορική αξία και η αρχή του νήματος της ορνιθοτροφίας απαντάται πριν το 2000 π.Χ. με την εξημέρωση της όρνιθας στην Ινδία. Στον ελλαδικό χώρο έως τον δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο η άσκηση της ορνιθοτροφίας ακολουθούσε τον παραδοσιακό τρόπο, παραμένοντας σε χωρικό επίπεδο. Οι όρνιθες αυγοπαραγωγής προέρχονταν από τον εγχώριο πληθυσμό. Το κρέας πουλερικών ήταν αποτέλεσμα της σφαγής των ορνίθων αυγοπαραγωγής.

1.2 Η ΚΡΕΟΠΑΡΑΓΩΓΟΣ ΠΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Στη δεκαετία του 1950 άρχισε η ανάπτυξη της ορνιθοτροφίας με την ίδρυση των πρώτων συστηματικών πτηνοτροφικών επιχειρήσεων. Η ανάπτυξή της ήταν αποτέλεσμα της εξέλιξης των επιστημονικών της πεδίων, της εκτροφής, διατροφής, γενετικής και υγιεινής των εκτρεφόμενων ορνίθων. Η πρόοδος στη γενετική οδήγησε στην ανάπτυξη ζωικού υλικού (υβριδίων αυγοπαραγωγής και κρεατοπαραγωγής) με υψηλές παραγωγικές αποδόσεις.

Η Πτηνοτροφία στην Ελλάδα είναι ο δυναμικότερος κλάδος της ζωικής παραγωγής με βαθμό αυτάρκειας σε αυγό και σε κρέας άνω του 90%. Επίσης είναι από τους πιο δυναμικούς κλάδους της αγροτικής οικονομίας και αντιπροσωπεύει σήμερα το 5% της συνολικής αξίας της αγροτικής παραγωγής. Οι οργανωμένες πτηνοτροφικές επιχειρήσεις στην Ελλάδα παράγουν ετησίως 120.000.000 κοτόπουλα. Στον κλάδο δραστηριοποιούνται περί τις 50 επιχειρήσεις διαφόρων μεγεθών. Στην ζωική παραγωγή δραστηριοποιούνται περί τους 2.000 αγρότες πτηνοτρόφοι, οι οποίοι συνεργάζονται με τις οργανωμένες-καθετοποιημένες επιχειρήσεις. Η παραγωγή κοτόπουλου είναι συγκεντρωμένη κατά 45% στην Ήπειρο, κατά 27% στην Στερεά Ελλάδα και κατά 18% στην Μακεδονία και τη Θράκη.

Τα εκτρεφόμενα είδη πτηνών είναι οι όρνιθες, ινδιάνοι (γαλοπούλες), πάπιες, χήνες, μελεαγρίδες (φραγκόκοτες), ορτύκια, περιστέρια, φασιανοί, πέρδικες και στρουθοκάμηλοι. Ωστόσο από τα παραπάνω εκτρεφόμενα πτηνά μεγαλύτερη οικονομική αξία έχουν οι όρνιθες και επομένως ο όρος "Πτηνοτροφία" έχει ταυτιστεί με τον όρο "Ορνιθοτροφία".

Η συστηματική ορνιθοτροφία σήμερα γίνεται σε ειδικές εγκαταστάσεις. Για το λόγο αυτό υπάρχουν τεράστια συγκροτήματα, όπου δημιουργούνται σταθερές συνθήκες περιβάλλοντος και διατροφής. Οι αίθουσες αυτές, που χωρούν από 500 μέχρι και 2000 κοτόπουλα, χρησιμοποιούνται αποκλειστικά για την πάχυνση. Σε πολλές χώρες υπάρχουν συγκροτήματα που κάθε χρόνο εκτρέφονται εκατοντάδες χιλιάδες ή και εκατομμύρια κοτόπουλα και λέγονται ορνιθοτροφεία, τα οποία έχουν πλήρη μηχανολογικό εξοπλισμό και τα νεαρά κοτόπουλα δεν εξαρτώνται καθόλου απ' τις οποιεσδήποτε εξωτερικές συνθήκες.

Στον **πίνακα 1** αναφέρονται οι εκμεταλλεύσεις με πουλερικά και ο αριθμός των κεφαλών κατά τάξεις μεγέθους του αριθμού αυτών.

Πίνακας 1. Εκμεταλλεύσεις με πουλερικά και αριθμός κεφαλών κατά τάξεις μεγέθους του αριθμού αυτών (πηγή: ΕΛΣΤΑΤ 2007).

ΣΥΝΟΛΟ ΕΛΛΑΔΟΣ ΜΕΓΑΛΕΣ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΕΣ ΝΟΜΟΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΑ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΑ	ΚΟΤΟΠΟΥΛΑ		ΟΡΝΙΘΕΣ	
	ΚΡΕΑΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ		ΑΥΓΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	
			ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΝΤΑΙ ΚΑΙ ΟΙ ΠΕΤΕΙΝΟΙ	
	ΕΚΜ/ΣΕΙΣ	ΚΕΦΑΛΕΣ	ΕΚΜ/ΣΕΙΣ	ΚΕΦΑΛΕΣ
ΣΥΝΟΛΟ ΤΗΣ ΧΩΡΑΣ	166.276	24.470.776	283.753	8.396.698
ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ & ΘΡΑΚΗ	12.560	354.011	27.456	812.538
ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	5.539	6.650.937	26.559	1.296.558
ΔΥΤΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	2.048	26.811	11.461	333.882
ΘΕΣΣΑΛΙΑ	19.165	637.038	33.504	674.157
ΗΠΕΙΡΟΣ	6.217	10.413.723	20.474	920.136
ΙΟΝΙΑ ΝΗΣΙΑ	7.417	169.675	11.897	194.883
ΔΥΤΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ	43.757	1.289.244	48.579	868.118
ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	13.479	2.242.758	22.705	479.231
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	22.591	953.199	31.741	977.537
ΑΤΤΙΚΗ	987	568.407	2.031	906.194
ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ	3.522	295.405	8.425	227.273
ΝΟΤΙΟ ΑΙΓΑΙΟ	2.591	58.822	6.584	246.500
ΚΡΗΤΗ	26.404	810.746	32.338	459.690
ΒΟΡΕΙΑ ΕΛΛΑΔΑ	39.312	7.668.796	98.980	3.117.136

ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ & ΘΡΑΚΗ	12.560	354.011	27.456	812.538
ΝΟΜΟΣ ΔΡΑΜΑΣ	725	14.508	1.908	41.993
ΝΟΜΟΣ ΚΑΒΑΛΑΣ	283	73.404	3.590	106.006
ΝΟΜΟΣ ΕΒΡΟΥ	5.514	94.707	10.507	381.142
ΝΟΜΟΣ ΞΑΝΘΗΣ	1.540	78.517	3.579	125.775
ΝΟΜΟΣ ΡΟΔΟΠΗΣ	4.498	92.876	7.872	157.623
ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	5.539	6.650.937	26.559	1.296.558
ΝΟΜΟΣ ΗΜΑΘΙΑΣ	1.224	513.230	3.495	302.680
ΝΟΜΟΣ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ	648	3.724.628	2.082	457.679
ΝΟΜΟΣ ΚΙΛΚΙΣ	103	506.413	4.349	64.479
ΝΟΜΟΣ ΠΕΛΛΑΣ	850	147.654	5.335	119.835
ΝΟΜΟΣ ΠΙΕΡΙΑΣ	286	1.026.873	3.997	119.144
ΝΟΜΟΣ ΣΕΡΡΩΝ	2.392	725.573	6.916	219.039
ΝΟΜΟΣ ΧΑΛΚΙΔΙΚΗΣ	35	6.565	385	13.702
ΔΥΤΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	2.048	26.811	11.461	333.882
ΝΟΜΟΣ ΓΡΕΒΕΝΩΝ	325	6.003	1.700	56.733
ΝΟΜΟΣ ΚΑΣΤΟΡΙΑΣ	9	689	691	22.061
ΝΟΜΟΣ ΚΟΖΑΝΗΣ	1.366	15.113	5.995	185.596
ΝΟΜΟΣ ΦΛΩΡΙΝΑΣ	347	5.006	3.075	69.493
ΘΕΣΣΑΛΙΑ	19.165	637.038	33.504	674.157
ΝΟΜΟΣ ΚΑΡΔΙΤΣΑΣ	7.807	318.854	12.265	269.270
ΝΟΜΟΣ ΛΑΡΙΣΑΣ	5.383	141.065	8.679	157.050
ΝΟΜΟΣ ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ	173	10.293	2.400	78.300
ΝΟΜΟΣ ΤΡΙΚΑΛΩΝ	5.802	166.827	10.161	169.537
ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ	93.460	15.068.599	135.395	3.439.905
ΗΠΕΙΡΟΣ	6.217	10.413.723	20.474	920.136
ΝΟΜΟΣ ΑΡΤΑΣ	2.773	4.013.020	7.501	173.393
ΝΟΜΟΣ ΘΕΣΠΡΩΤΙΑΣ	1.058	16.090	3.240	56.778
ΝΟΜΟΣ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ	1.312	5.696.461	6.022	603.290
ΝΟΜΟΣ ΠΡΕΒΕΖΑΣ	1.074	688.152	3.712	86.675
ΙΟΝΙΑ ΝΗΣΙΑ	7.417	169.675	11.897	194.883
ΝΟΜΟΣ ΖΑΚΥΝΘΟΥ	2.883	76.548	3.393	52.937
ΝΟΜΟΣ ΚΕΡΚΥΡΑΣ	3.128	63.582	5.462	84.566
ΝΟΜΟΣ ΚΕΦΑΛΛΗΝΙΑΣ	274	11.246	1.252	29.960
ΝΟΜΟΣ ΛΕΥΚΑΔΟΣ	1.132	18.300	1.789	27.419
ΔΥΤΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ	43.757	1.289.244	48.579	868.118

ΝΟΜΟΣ ΑΙΤΩΛΙΑΣ ΚΑΙ ΑΚΑΡΝΑΝΙΑΣ	16.257	440.223	21.526	396.262
ΝΟΜΟΣ ΑΧΑΪΑΣ	10.457	303.228	11.215	193.650
ΝΟΜΟΣ ΗΛΕΪΑΣ	17.043	545.793	15.837	278.206
ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	13.479	2.242.758	22.705	479.231
ΝΟΜΟΣ ΒΟΙΩΤΙΑΣ	1.583	1.251.570	2.828	100.991
ΝΟΜΟΣ ΕΥΒΟΙΑΣ	6.143	817.635	8.195	126.670
ΝΟΜΟΣ ΕΥΡΥΤΑΝΙΑΣ	298	4.930	2.336	37.558
ΝΟΜΟΣ ΦΘΙΩΤΙΔΑΣ	4.749	149.915	7.660	164.388
ΝΟΜΟΣ ΦΩΚΙΔΑΣ	707	18.708	1.686	49.625
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	22.591	953.199	31.741	977.537
ΝΟΜΟΣ ΑΡΓΟΛΙΔΑΣ	2.617	71.724	3.463	157.291
ΝΟΜΟΣ ΑΡΚΑΔΙΑΣ	5.469	291.636	7.639	189.927
ΝΟΜΟΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΣ	2.101	195.460	3.349	372.796
ΝΟΜΟΣ ΛΑΚΩΝΙΑΣ	4.653	242.374	6.666	106.934
ΝΟΜΟΣ ΜΕΣΣΗΝΙΑΣ	7.751	152.004	10.624	150.590
ΑΤΤΙΚΗ	987	568.407	2.031	906.194
ΝΟΜΑΡΧΙΑ ΑΘΗΝΩΝ	6	10.235	35	188.882
ΝΟΜΑΡΧΙΑ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ	154	328.653	791	88.592
ΝΟΜΑΡΧΙΑ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ	49	217.649	103	601.786
ΝΟΜΑΡΧΙΑ ΠΕΙΡΑΙΩΣ	778	11.869	1.103	26.934
ΝΗΣΙΑ	32.516	1.164.973	47.347	933.463
ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ	3.522	295.405	8.425	227.273
ΝΟΜΟΣ ΛΕΣΒΟΥ	2.206	163.387	5.647	185.479
ΝΟΜΟΣ ΣΑΜΟΥ	1.293	21.869	1.743	25.929
ΝΟΜΟΣ ΧΙΟΥ	23	110.148	1.036	15.865
ΝΟΤΙΟ ΑΙΓΑΙΟ	2.591	58.822	6.584	246.500
ΝΟΜΟΣ ΔΩΔΕΚΑΝΗΣΟΥ	828	26.296	1.581	124.373
ΝΟΜΟΣ ΚΥΚΛΑΔΩΝ	1.763	32.527	5.002	122.127
ΚΡΗΤΗ	26.404	810.746	32.338	459.690
ΝΟΜΟΣ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ	9.867	353.339	12.428	172.782
ΝΟΜΟΣ ΛΑΣΙΘΙΟΥ	3.883	53.466	5.800	70.608
ΝΟΜΟΣ ΡΕΘΥΜΝΗΣ	4.426	207.629	6.171	102.611
ΝΟΜΟΣ ΧΑΝΙΩΝ	8.229	196.312	7.938	113.689

1.3 ΚΡΕΟΠΑΡΑΓΩΓΟΣ ΤΥΠΟΣ ΟΡΝΙΘΩΝ

Οι όρνιθες που ανήκουν σε αυτόν τον τύπο είναι σχετικά βαρύσωμες. Εμφανίζουν κεφαλή ογκώδη, που λίγο ή πολύ είναι στρογγυλή. Το άνω λειρί είναι μικρό, αλλά παχύ και τραχύ. Το πρόσωπο σχετικά χονδροειδές. Ο τράχηλος χοντρός και αναλογικά βραχύς. Ο κορμός έχει ωοειδές ή κυλινδρικό σχήμα και είναι ευρύς και βαθύς. Η ράχη είναι οριζόντια μέχρι ελαφρά κυρτή, αλλά πάντοτε πλατιά. Η λεκάνη έχει πλούσια μυϊκή κάλυψη. Το στήθος είναι ευρύ, στρογγυλεμένο και μακρύ με πλούσια μυϊκή κάλυψη. Η κοιλία είναι αναλογικά περιορισμένη σε όγκο. Οι φτερούγες προεξέχουν ελαφρά από τον κορμό, διότι η στενή προσκόλλησή τους παρεμποδίζεται από την παρουσία της πλούσιας μυϊκής κάλυψης που υπάρχει στην αντίστοιχη χώρα του κορμού. Τα οπίσθια άκρα, κατά τις χώρες των μηρών καθώς και των κνημών, έχουν μυϊκές μάζες πολύ ανεπτυγμένες. Εξάλλου, τα οπίσθια άκρα από τα μετατάρσια και κάτω, που στην πλειονότητα των περιπτώσεων είναι γυμνά από φτερά, εμφανίζονται αναλογικά κοντά και χοντρά, ενώ απέχουν αρκετά μεταξύ τους, διότι ανάμεσά τους παρεμβάλλεται το ευρύ και στρογγυλεμένο στήθος.

Οι όρνιθές της διπλής παραγωγικής κατεύθυνσης (κρεοπαραγωγικής-αυγοπαραγωγικής), έχουν μορφολογική διάπλαση σώματος που είναι ενδιάμεση του καθαρά κρεοπαραγωγού τύπου και αυγοπαραγωγού τύπου ορνίθων. Έχουν μέτριο σωματικό βάρος (μέσο Σ.Β. ενήλικων ορνίθων 2,9 kg και πετεινών 3,8 kg) και στη μορφολογική διάπλαση του σώματός τους, άλλοτε προέχουν τα χαρακτηριστικά του αυγοπαραγωγού τύπου και άλλοτε εκείνα του κρεοπαραγωγού.

(Σπαής και Χατζηζήσης 2011)

1.4 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΚΟΤΟΠΟΥΛΟΥ

1.4.1 Χημική σύσταση και λειτουργικές ιδιότητες

Στον **πίνακα 2** φαίνεται η χημική σύσταση του κοτόπουλου με ή χωρίς δέρμα.

Πίνακας 2. Χημική σύσταση κρέατος κοτόπουλου με ή χωρίς δέρμα (πηγή: Γεωργάκης 2002).

Παράμετρος	Κρέας κοτόπουλου (με δέρμα)	Κρέας κοτόπουλου (χωρίς δέρμα)
Πρωτεΐνη (%)	19	21
Λίπος (%)	12	3
Υγρασία (%)	66	75
Τέφρα (%)	0,8	0,9
Υδατάνθρακες (%)	0	0
Ασβέστιο (mg/100g)	11	12
Σίδηρος (mg/100g)	0,9	0,9
Νάτριο (mg/100g)	70	77
Χοληστερόλη (mg/100g)	75	70
Ενέργεια (Kcal/100g)	215	119

Η περιεκτικότητα στα παραπάνω συστατικά διαφέρει στα διάφορα τμήματα του κοτόπουλου (Mead 1989).

Το κρέας των πουλερικών περιέχει πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας και χαμηλή ποσότητα ενέργειας (Γιαννακόπουλος 1991). Ο μυϊκός ιστός αποτελεί τροφή πλούσια σε διάφορα αμινοξέα. Η ποσότητα του κάθε αμινοξέος στις πρωτεΐνες του κρέατος του κοτόπουλου φαίνεται στον **πίνακα 3**.

Πίνακας 3. Αμινοξέα του κρέατος κοτόπουλου (πηγή: Βουδούρης και Κοντομηνάς 1997).

Αμινοξέα	g / 100g πρωτεϊνών
Αργινίνη*	12,8
Κυστεΐνη	2,6
Ιστιδίνη*	6,2
Ισολευκίνη*	9,5
Λευκίνη*	15,4
Λυσίνη*	18,4
Μεθειονίνη	4,9
Φαινυλαλανίνη*	9,2
Θρεονίνη*	8,5
Θρυπτοφάνη*	2,3
Τυροσίνη	7,2
Βαλίνη*	9,8

*δεν συνθέτονται από τον ανθρώπινο οργανισμό

Η περιεκτικότητα του λίπους του κοτόπουλου σε κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι 31-36%, σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα 42-47% και σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα 21-22,4% (Γεωργάκης, 2002).

Ο μυϊκός ιστός του κρέατος κοτόπουλου είναι φτωχός σε βιταμίνες. Το κρέας παρά τη μεγάλη ποσότητα νερού που περιέχει μπορεί να συγκρατήσει και επιπλέον ποσότητα νερού. Το φαινόμενο ονομάζεται 'Ικανότητα Συγκράτησης Ύδατος' (ΙΣΥ) (Water Holding Capacity). Ως ΙΣΥ του κρέατος ή του μυϊκού ιστού ορίζεται η ικανότητά του να δεσμεύει και να συγκρατεί ποσότητα νερού, έστω κι αν ασκηθεί στον μυϊκό ιστό σχετική πίεση ή θέρμανση.

Μια άλλη λειτουργική ιδιότητα του κρέατος είναι το «χυμώδες», δηλαδή η ικανότητα του κρέατος να δημιουργεί κατά τη μάσηση, την αίσθηση της πληρότητας της στοματικής κοιλότητας με το παχύρευστο περιεχόμενό του. Το χυμώδες συνδέεται άμεσα με την ΙΣΥ καθώς και με την τρυφερότητα του κρέατος. Η τρυφερότητα του κρέατος σχετίζεται με την αίσθηση του σκληρού ή μαλακού, την αντίσταση που προβάλλει στη μάσηση και την αίσθηση της συνοχής των μυϊκών ινών μεταξύ τους.

Το pH του κρέατος κοτόπουλου έχει τιμή περίπου 7 πριν τη σφαγή. Μετά τη σφαγή το pH του μυϊκού ιστού αρχίζει και ελαττώνεται. Η ελάττωση αυτή οφείλεται σε διάφορους παράγοντες. Μερικοί από αυτούς είναι:

- η παραγωγή του γαλακτικού οξέος από την αναερόβια διάσπαση της γλυκόζης.
- η συσσώρευση του CO₂. Μετά τη σφαγή σταματάει η παραγωγή του CO₂ από το κυκλοφορικό και αναπνευστικό σύστημα, ενώ συνεχίζεται η παραγωγή από τους ιστούς.
- η απελευθέρωση φωσφορικών ιόντων (PO₄)⁻³ (αντίδραση αποφωσφορυλίωσης).

Οι παράγοντες που ρυθμίζουν την τιμή του pH μετά το θάνατο εξαρτώνται από την ποσότητα του γλυκογόνου στους μύες κατά την σφαγή, τη θερμοκρασία, το βαθμό αφαιμάξης και την περιεκτικότητα του κρέατος σε λιπώδη και συνδετικό ιστό. Η καταπόνηση του ζώου πριν τη θανάτωση έχει ως αποτέλεσμα την εξάντληση του γλυκογόνου με συνέπεια τη λιγότερη παραγωγή γαλακτικού οξέος και την περιορισμένη πτώση του pH μετά τη σφαγή (Πατσιάς 2005).

1.4.2 Εξωτερική εμφάνιση

Το φυσιολογικό χρώμα μετά τη θανάτωση μπορεί να είναι ανοιχτό ή και σκούρο κόκκινο και οφείλεται στο ποσοστό της μυογλοβίνης και αιμογλοβίνης, που περιέχονται στο κρέας. Η μυογλοβίνη, χημικά, είναι σύνθετη πρωτεΐνη του μυός, παρόμοια με την αιμοσφαιρίνη από άποψη λειτουργικότητας, δεσμεύει δηλαδή το O₂ που απαιτείται για τις ανάγκες του μεταβολισμού. Η πρόσληψη του O₂ από τη μυογλοβίνη, είναι γνωστή ως οξυγόνωση και έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό της οξυμυογλοβίνης, ζωηρού κόκκινου χρώματος (Βουδούρης και Κοντομηνάς 1990).

Το χρώμα του δέρματος του κοτόπουλου είναι συνήθως λευκό ή σκούρο και εξαρτάται από το ποσοστό λευκών και ερυθρών μυϊκών ιστών αλλά και από παράγοντες όπως είναι η φυλή του πτηνού, η διατροφή, η θερμοκρασία ζεματισμού κ.α.

1.4.3 Τεχνολογία παραγωγής κρέατος κοτόπουλου

Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρείται αύξηση της ζήτησης του κρέατος κοτόπουλου σε όλο τον κόσμο. Αυτό έχει ως συνέπεια την αυτοματοποίηση της

παραγωγής καθώς και την αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των μονάδων εκτροφής. Οι σύγχρονες μονάδες σφαγής έχουν τη δυνατότητα να επεξεργάζονται δεκάδες χιλιάδες πτηνά την ημέρα (Πατσιάς 2005). Με τον τρόπο αυτό παραγωγής, βελτιώνεται σημαντικά η υγιεινή και η ασφάλεια των πουλερικών και των προϊόντων τους. Ταυτόχρονα δίνεται η δυνατότητα για μεταποίηση και δημιουργία νέων προϊόντων με βάση το κρέας κοτόπουλου.

Ακολουθεί συνοπτική περιγραφή των κυριότερων σταδίων του σύγχρονου τρόπου σφαγής.

Η διαδικασία της μεταποίησης αρχίζει με την κτηνιατρική επιθεώρηση πριν τη σφαγή των πτηνών. Ακολουθεί ανάρτηση αυτών από τα πόδια σε ειδικά άγκιστρα της μεταφορικής αλυσίδας. Το πρώτο βασικό βήμα είναι η αναισθητοποίηση, η οποία γίνεται με ηλεκτρικό ρεύμα 60-110 V και για περίπου 4 sec σε δεξαμενή με νερό που εμβαπτίζεται το κεφάλι του πτηνού. Ένας άλλος τρόπος είναι η χρήση μίγματος αέρα, CO₂ και NO₂ σε αναλογία 30%, 40% και 30%. Η αναισθητοποίηση αποτελεί πολύ σημαντικό στάδιο στη διαδικασία της μεταποίησης διότι αν δεν γίνει σωστά και λειτουργούν τα αντανακλαστικά του ζώου κατά την αφαίμαξη, είναι πιθανή η αναρρόφηση νερού και η μόλυνση των αναπνευστικών οργάνων. Επόμενο στάδιο είναι η σφαγή, που γίνεται με αποκοπή της καρωτίδας με τη βοήθεια περιστροφικού μαχαιριού. Στο επόμενο στάδιο τα πτηνά εμβαπτίζονται σε δεξαμενή με ζεστό νερό (ζεμάτισμα). Οι θερμοκρασίες δεν ξεπερνούν τους 60 °C γιατί πέρα από την οπτική υποβάθμιση του προϊόντος, υπάρχει και πιθανότητα ελάττωσης της διάρκειας συντήρησης του προϊόντος. Ακολουθεί η αφαίρεση των φτερών (αποπτίλωση) με την βοήθεια μικρών περιστρεφόμενων ελαστικών κώνων και η αποτελεσματικότητα του σταδίου αυτού εξαρτάται από το ζεμάτισμα. Η πιθανή μικροβιακή επιμόλυνση περιορίζεται με τον ψεκάσμο χλωριωμένου νερού. Αμέσως μετά αφαιρείται το κεφάλι και απορρίπτεται. Στα επόμενα στάδια ανοίγεται αυτόματα η κοιλιακή χώρα και αφού γίνει επιθεώρηση κάθε πτηνού ξεχωριστά, αφαιρούνται τα εντόσθια και οι πνεύμονες και το πτηνό πλένεται καλά με νερό υπό πίεση εσωτερικά και εξωτερικά. Ο τεμαχισμός γίνεται μηχανικά και ακολουθεί σε σύντομο χρονικό διάστημα η συσκευασία σε κλιματιζόμενο χώρο (Πατσιάς 2005).

1.5 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΡΕΑΤΟΣ ΚΟΤΟΠΟΥΛΟΥ

1.5.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί

Παρακάτω γίνεται σύντομη αναφορά στη μικροχλωρίδα του κρέατος κοτόπουλου όπως διαμορφώνεται στα κυριότερα στάδια σφαγής και τυποποίησης. Οι μικροοργανισμοί ανάλογα με την προέλευσή τους διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: α) σε αυτούς που υπάρχουν φυσιολογικά στο δέρμα του κοτόπουλου, β) σε αυτούς που μπορεί να έχουν μεταφερθεί στα φτερά ή στο δέρμα πριν τη σφαγή αλλά δεν υπάρχουν συνήθως στο δέρμα του κοτόπουλου και γ) σε αυτούς που μπορεί να επιμολύνουν το κρέας κατά τη διάρκεια της σφαγής/επεξεργασίας.

Η επιμόλυνση του κρέατος από βακτήρια γίνεται μέσω:

- κατακράτησης βακτηρίων. Όταν το κρέας έρθει σε επαφή με νερό που έχει υψηλό πληθυσμό βακτηρίων, μια λεπτή στοιβάδα νερού κατακρατείται στην επιφάνεια του δέρματος μαζί με τα μικρόβια που περιέχει.
- εγκλωβισμού βακτηρίων. Κατά την επεξεργασία του κρέατος, βακτήρια παγιδεύονται σε κοιλότητες που γεμίζουν με νερό. Όσο περισσότεροι τραυματισμοί συμβαίνουν κατά το ζεμάτισμα και την αποπίλωση, τόσο αυξάνεται ο αριθμός των βακτηρίων που μπορεί να εγκλωβιστεί στο σφάγιο.
- προσκόλλησης βακτηρίων. Γίνεται από ορισμένα είδη βακτηρίων που έχουν την ικανότητα να προσκολλούνται στους επιφανειακούς ιστούς του κρέατος. Δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως ο μηχανισμός προσκόλλησης, αλλά το ουδέτερο pH, η χαμηλή ιονική ισχύς και η εμβάπτιση σε νερό δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες.

1.5.2 Μικροχλωρίδα που εμπλέκεται στα στάδια τυποποίησης

Τα στάδια της αναισθητοποίησης και της σφαγής δεν επηρεάζουν ιδιαίτερα την μικροβιολογική ποιότητα του τελικού προϊόντος.

Κατά το ζεμάτισμα μπορεί να βρεθούν μικροοργανισμοί στο νερό που προέρχονται από πιθανές ακαθαρσίες στο πόδια, τα φτερά το δέρμα και το πεπτικό σύστημα. Συνήθως στην αρχή παρατηρείται αύξηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (O.M.X.) του νερού, ενώ στη συνέχεια σταθεροποιείται σε τιμή που δεν ξεπερνά την τιμή των 5×10^4 CFU/ml. Η O.M.X. του κοτόπουλου μετά το στάδιο αυτό είναι περίπου 10^4 CFU/cm² δέρματος. Η θερμοκρασία και ο χρόνος ζεματίσματος μπορεί να επηρεάσουν το είδος και τον αριθμό των βακτηρίων. Πιθανή

βελτίωση της μικροβιακής ποιότητας των προϊόντων επιτυγχάνεται με τη χρήση διαδοχικών ανεξάρτητων δεξαμενών.

Κατά την αποπίλωση υπάρχει η πιθανότητα επιμόλυνσης του ενός κοτόπουλου από το άλλο. Για να μειωθεί η πιθανότητα αυτή, γίνεται καταιονισμός με χλωριωμένο νερό.

Η χρήση σύγχρονων μηχανικών συστημάτων κατά την απεντέρωση, έχει περιορίσει σημαντικά τον κίνδυνο της επιμόλυνσης. Ένα κρίσιμο σημείο για την μικροβιολογική ποιότητα του προϊόντος είναι η αυτόματη μεταφορά από τη γραμμή σφαγής στη γραμμή απεντέρωσης και στη συνέχεια στη γραμμή ψύξης. Υπάρχουν δύο τρόποι χειρισμού των εντοσθίων μετά την αφαίρεσή τους από την κοιλιακή χώρα. Ο πρώτος απαιτεί την παραμονή τους στο σφάγιο μέχρι να γίνει επιθεώρηση, ενώ ο δεύτερος απαιτεί την άμεση απομάκρυνσή τους από το υπόλοιπο κρέας. Πιθανολογείται ότι ο δεύτερος επιμολύνει λιγότερο το προϊόν. Πριν την ψύξη του προϊόντος γίνεται πλύσιμο με καθαρό πόσιμο νερό. Έχει αποδειχθεί ότι ο ψεκασμός με νερό στα ενδιάμεσα στάδια είναι αποτελεσματικός για τον περιορισμό των *Enterobacteriaceae* και των *Salmonella* spp.. Ο ψεκασμός ελαττώνει την O.M.X. από 50% έως 90%. Η ελάττωση της O.M.X. μπορεί επίσης να επιτευχθεί και με ταυτόχρονη προσθήκη χλωρίου στο νερό πλυσίματος και στο νερό της δεξαμενής υδρόψυξης (I.C.M.S.F. 2000).

Κατά τον τεμαχισμό και τη συσκευασία υπάρχει η πιθανότητα επιμόλυνσης του κρέατος κοτόπουλου. Η αποφυγή της επιμόλυνσης μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή των κανόνων υγιεινής που αφορούν κυρίως στον εξοπλισμό και στο προσωπικό. Ο αριθμός των ψυχρότροφων βακτηρίων στο τελικό προϊόν είναι καθοριστικός για τον χρόνο διατήρησης του προϊόντος. Σε χώρους συσκευασίας που η θερμοκρασία είναι μικρότερη ή ίση με 15 °C αυξάνεται ο αριθμός των ψυχρότροφων ενώ αν η θερμοκρασία είναι μεγαλύτερη από 25 °C παρατηρείται αύξηση του πληθυσμού των μεσόφιλων βακτηρίων (I.C.M.S.F. 2000).

1.5.3 Παθογόνοι μικροοργανισμοί του κοτόπουλου

Οι κυριότεροι παθογόνοι μικροοργανισμοί που ενδέχεται να βρεθούν στα ζωντανά κοτόπουλα ανήκουν συνήθως στα παρακάτω γένη: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia* spp., *Clostridium* spp. και *Listeria* spp. (Bolder 1998).

1.5.3.1 *Salmonella* spp.

Το γένος *Salmonella* είναι τυπικό μέλος της οικογένειας *Enterobacteriaceae* και αποτελείται από κατά Gram αρνητικά βακτήρια, θετικά στην αντίδραση καταλάσης και αρνητικά στην αντίδραση της οξειδάσης. Μέλη του γένους ευθύνονται για διάφορες ασθένειες που προκαλούνται στον άνθρωπο και στα ζώα.

Το κρέας του κοτόπουλου είναι από τα τρόφιμα που μπορούν εύκολα να επιμολυνθούν από το βακτήριο αυτό. Η πιθανότητα επιμόλυνσης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως από τις συνθήκες υγιεινής που επικρατούν στα σφαγεία και κατά τη συσκευασία και μεταφορά. Οι περισσότερες περιπτώσεις επιμόλυνσης κοτόπουλου από *Salmonella* spp., αναφέρονται σε προϊόντα που δεν μαγειρεύτηκαν ή προϊόντα όπως είναι τα σαλάμια, καθώς είναι γνωστό ότι η *Salmonella* μπορεί να επιζήσει στις συνθήκες ζύμωσης (NRC 1985).

Μερικοί από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου στα τρόφιμα είναι η θερμοκρασία, η τιμή του pH, η ενεργότητα νερού, το δυναμικό οξειδοαναγωγής κ.α..

1.5.3.2 *Campylobacter* spp.

Το γένος *Campylobacter* αποτελείται από κατά Gram αρνητικά βακτήρια, μικροαερόφιλα, που απαιτούν για την ανάπτυξή τους οξυγόνο σε ποσοστό 3-15% και διοξείδιο του άνθρακα 3-5%. Τα βακτήρια αυτά είναι υπεύθυνα για τροφογενείς ασθένειες στον άνθρωπο και το κοτόπουλο αποτελεί την κύρια πηγή τέτοιων λοιμώξεων. Σε αρκετές περιπτώσεις που αναφέρθηκαν δηλητηριάσεις οφείλονταν στο γεγονός ότι το τρόφιμο δεν είχε μαγειρευτεί καλά.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου είναι η θερμοκρασία, η τιμή του pH, η σύνθεση της ατμόσφαιρας της συσκευασίας και ο ανταγωνισμός με άλλους μικροοργανισμούς (Smibert 1984).

1.5.3.3 *Staphylococcus* spp.

Το γένος *Staphylococcus* είναι μέλος της οικογένειας των *Micrococcaceae* και ανήκει στα θετικά κατά Gram βακτήρια. Το γένος περιλαμβάνει παραπάνω από 20 είδη, μερικά από τα οποία είναι ικανά να προκαλέσουν τροφογενείς λοιμώξεις, όπως ο *Staphylococcus aureus*. Ο μικροοργανισμός αυτός βρίσκεται στο ωμό κρέας και στα πουλερικά. Πολλά από τα στελέχη προέρχονται από ζώα, χωρίς να αποκλείεται το ενδεχόμενο της προέλευσης από τον ίδιο τον άνθρωπο. Ο *Staphylococcus aureus*

στο ωμό κρέας, βρίσκεται συνήθως σε χαμηλούς πληθυσμούς. Παρόλα αυτά υψηλοί πληθυσμοί στο ωμό κοτόπουλο μπορεί να οδηγήσουν στην απόρριψή του από την παραγωγή (Dodd et al 1987)

Μερικοί από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού είναι η θερμοκρασία, το pH, η ενεργότητα νερού, η σύνθεση της ατμόσφαιρας της συσκευασίας, το είδος του τροφίμου καθώς και η ακτινοβολήση.

1.5.3.4 *Clostridium* spp.

Το γένος *Clostridium* αποτελείται από Gram θετικά, αρνητικά στην αντίδραση της καταλάσης βακτήρια, που σχηματίζουν ενδοσπόρια. Έχει βρεθεί ότι η πιθανότητα ύπαρξης και ανάπτυξης του βακτηρίου *Clostridium botulinum* στο κρέας και προϊόντα αυτού, είναι σχετικά χαμηλή (Hauschild and Hilheimer 1980). Τα προϊόντα τύπου «sous-vide» (προϊόντα που μαγειρεύονται αφού συσκευαστούν σε συνθήκες κενού, για μεγάλο χρονικό διάστημα σε θερμοκρασίες της τάξεως των 60°C) θεωρούνται καλά υποστρώματα για την ανάπτυξη αυτού του μικροοργανισμού. Επίσης το *Clostridium perfringens* υπάρχει σε χαμηλά ποσοστά στο ωμό κρέας και μαγειρεμένο κρέας.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των *Clostridium* είναι η θερμοκρασία, το pH και η οξύτητα, το NaCl, τα νιτρικά και νιτρώδη ιόντα, καθώς και η σύνθεση της ατμόσφαιρας της συσκευασίας.

1.5.3.5 *Escherichia coli*

Ο μικροοργανισμός αυτός ανήκει στην οικογένεια των *Enterobacteriaceae* και έχει όλα τα τυπικά χαρακτηριστικά της οικογένειας αυτής. Σε αντίθεση με τη *Salmonella* και τη *Shigella*, τα περισσότερα στελέχη *Escherichia* μεταβολίζουν τη γλυκόζη, παράγοντας οξύ και αέριο. Η *E. coli* είναι το πιο κοινό βακτήριο που βρίσκεται στον εντερικό βλεννογόνο του ανθρώπου αλλά και όλων των θερμόαιμων ζώων. Παρόλα αυτά, κάποια στελέχη της *E. coli* έχουν χαρακτηριστεί παθογόνα για τον άνθρωπο, όπως για παράδειγμα η *E. coli* O157:H7, η οποία έχει συσχετιστεί με αρκετά περιστατικά τροφοδολητηριάσεων από την κατανάλωση χοιρινού κρέατος και κοτόπουλου (Doyle and Scoemi 1987).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *E. coli* είναι η θερμοκρασία, η ενεργότητα νερού, το pH και η παρουσία άλλων μικροοργανισμών στο ίδιο περιβάλλον.

1.5.3.6 *Listeria* spp.

Το γένος *Listeria* αποτελείται από θετικά κατά Gram βακτήρια, τα οποία σε θερμοκρασία δωματίου παρουσιάζουν χαρακτηριστική στροβιλώδη κίνηση. Ο μικροοργανισμός είναι θετικός στην αντίδραση της καταλάσης και αρνητικός στην αντίδραση της οξειδάσης ενώ μεταβολίζει τη γλυκόζη παράγοντας οξύ αλλά όχι αέριο. Η *Listeria monocytogenes* σχετίζεται με πολλές τροφικές δηλητηριάσεις και θεωρείται παθογόνος μικροοργανισμός για τον άνθρωπο.

Η *Listeria monocytogenes* έχει απομονωθεί από πολλά τρόφιμα (κρέας και πουλερικά, γαλακτοκομικά προϊόντα, λαχανικά και ιχθυρά), γεγονός που αποδεικνύει, τόσο την εύκολη διείσδυση του μικροοργανισμού στην τροφική αλυσίδα, όσο και την ικανότητα του βακτηρίου να αναπτύσσεται σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Τα πουλερικά αποτελούν καλή πηγή ανάπτυξης του μικροοργανισμού. Η *Listeria monocytogenes* έχει απομονωθεί σε ποσοστό 57% από φρέσκο και κατεψυγμένο κοτόπουλο (Kwantes and Isaac 1971) και σε ποσοστό 15% από έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα πουλερικών. Η επιβίωση του μικροοργανισμού στα σφαγεία δικαιολογεί την παρουσία του σε τόσο μεγάλα ποσοστά στο ωμό κρέας. Η *Listeria monocytogenes* παρουσιάζει ανθεκτικότητα στη θέρμανση, με αποτέλεσμα οι συνήθεις συνθήκες μαγειρέματος να μην είναι αρκετές για την καταστροφή της.

Ένας από τους βασικούς παράγοντες που επηρεάζει την ανάπτυξη του βακτηρίου είναι η θερμοκρασία. Η μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι 45°C και η βέλτιστη μεταξύ 30 και 37°C (Wilkins et al 1972). Η ελάχιστη θερμοκρασία στην οποία παρατηρήθηκε ανάπτυξη του βακτηρίου ήταν 1,1°C (Juntilla et al 1988). Ο μικροοργανισμός έχει απομονωθεί από μοσχάρι και μπιφτέκια που είχαν ψηθεί σε θερμοκρασία 80-85°C, όταν το αρχικό εμβόλιο του βακτηρίου ήταν 10³/g.

Η *Listeria monocytogenes* μπορεί να θανατωθεί με την επίδραση της γ-ακτινοβολίας. Η δόση των 3 kGy έχει προταθεί για την θανάτωση του βακτηρίου στα πουλερικά (Patterson et al 1993).

Ανάπτυξη του βακτηρίου σε τιμές pH κάτω από την τιμή 5,0 και μέχρι την τιμή 9,2 αποδεικνύουν την ανθεκτικότητά του στις μεταβολές του pH.

Η νισίνη έχει βακτηριοστατική δράση στην *Listeria monocytogenes* καθώς επιμηκύνει τη φάση προσαρμογής για να ακολουθήσει η λογαριθμική φάση.

Η *Listeria monocytogenes* έχει αποδειχθεί αρκετά ανθεκτική σε συγκεντρώσεις 50-80% CO₂ (Ingham et al 1990).

1.6 ΣΥΓΧΡΟΝΟΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

1.6.1 ΟΖΟΝ

Οι απολυμαντικοί παράγοντες έχουν εκτεταμένα εφαρμοσθεί στη βιομηχανία τροφίμων διασφαλίζοντας την ασφάλεια και την ποιότητά τους. Ο οζονισμός είναι μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη συντήρηση των τροφίμων με σκοπό την αύξηση του χρόνου ζωής τους. Η χρησιμοποίηση του όζοντος αποσκοπεί στην απαίτηση των καταναλωτών για φρέσκα και κυρίως ασφαλή προϊόντα (FDA 1995). Σύμφωνα με τους Tzortzakis et al (2007), το όζον είναι κατάλληλο ως αντιμικροβιακό μέσο για τη συνολική γραμμή παραγωγής των τροφίμων (επεξεργασία, εξοπλισμός, απόβλητα) αλλά και για την άμεση απολύμανση αυτών, αφού χρησιμοποιείται για την αποστείρωση της επιφάνειάς τους και την αποστείρωση του πόσιμου νερού.

Η χρήση του όζοντος τόσο στην αέρια όσο και στην υγρή φάση ως αντιμικροβιακός παράγοντας στα τρόφιμα είναι ασφαλής. Το όζον, σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις και σε μικρό χρόνο επαφής, έχει ισχυρή αντιμικροβιακή δράση ενάντια στα βακτήρια, στις ζύμες, στους μύκητες και στους ιούς. Εξίσου σημαντικό ρόλο για την καταστροφή των μικροοργανισμών από τη δράση του αερίου όζοντος διαδραματίζει η φυσιολογική κατάσταση της καλλιέργειας, το pH του μέσου, η θερμοκρασία, η υγρασία και η παρουσία προσθέτων (π.χ. οξέων, σταθεροποιητών, σακχάρων κ.τ.λ.) (Kim et al 1999). Ωστόσο ο ρυθμός αδρανοποίησης είναι μικρότερος σε συστήματα όπου το μέσο περιέχει οργανικές ουσίες που οξειδώνονται εύκολα.

Η εφαρμογή του οζονισμού εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα στη βιομηχανία τροφίμων. Χρησιμοποιείται για τη μείωση του μικροβιακού φορτίου και συνεπώς παίζει σημαντικό ρόλο στην επέκταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Επιπλέον, συμβάλλει στην μείωση του βιολογικά (BOD) και χημικά (COD) απαιτούμενου οξυγόνου στα λύματα (Hovarth et al 1985). Ακόμη, τα φυτοφάρμακα που τυχόν υπάρχουν στα φρούτα και τα κηπευτικά αποσυντίθενται (Rice et al 1984).

Ωστόσο, το όζον είναι εξαιρετικά ασταθές. Αυτό αποτελεί μειονέκτημα που έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές, όσον αφορά τη χρήση του ως μέσο απολύμανσης. Επιπλέον, εκτεταμένη χρήση του όζοντος μπορεί να προκαλέσει αλλοίωση στα συστατικά των τροφίμων. Συγκεκριμένα προκαλεί οξείδωση στην επιφάνεια του τροφίμου, έχοντας ως αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό και την υποβάθμιση της γεύσης του προϊόντος (Kim et al 1999).

1.6.1.1 Χημικές και φυσικές ιδιότητες του όζοντος

Το 1795, ο Ολλανδός πειραματιστής Martinus Van Marum αντιλήφθηκε ότι ο αέρας κοντά σε μια ηλεκτροστατική γεννήτρια, αποκτούσε μια διαφορετική οσμή, όταν η γεννήτρια λειτουργούσε και πραγματοποιούνταν ηλεκτρικές εκκενώσεις. Το 1840, την ίδια οσμή αντιλήφθηκε ο Christian Friedrich Schonbein κατά την ηλεκτρόλυση του νερού και ονόμασε την εκλυόμενη αέρια ουσία όζον (από την ελληνική λέξη «όζω» που σημαίνει « μυρίζω»).

Είναι αέριο ασταθές, ισχυρά οξειδωτικό, με χαρακτηριστική οσμή και κυανό χρώμα. Το μοριακό του βάρος είναι 48, το σημείο ζέσης $-111,9^{\circ}\text{C}$ και το σημείο τήξης $-192,7^{\circ}\text{C}$ υπό πίεση 1 Atm. Το δυναμικό οξείδωσης του όζοντος είναι υψηλό (2,07 V), συγκρινόμενο με αυτό του υποχλωριώδους οξέος (1,49 V) και της χλωρίνης (1,36 V) (Kim et al 1999).

Το αέριο όζον σχηματίζεται φυσικά στην στρατόσφαιρα σε μικρές ποσότητες (0,05 mg/l) μέσω φωτοχημικών αντιδράσεων. Παράγεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στην επιφάνεια της γης από φωτοχημική αποσύνθεση του μολυσμένου αέρα. Η χαρακτηριστική οσμή του, περιγράφεται ως αυτή «του φρέσκου αέρα μετά από καταιγίδα». Ο χρόνος ημιζωής του, όταν βρίσκεται σε αέρια κατάσταση είναι 12 ώρες. Αντίθετα, στα υδατικά διαλύματα εξαιτίας της καθαρότητας του νερού και των άλλων συστατικών του, ο χρόνος ημιζωής του όζοντος είναι μικρότερος (Rice et al 1982, Rice 1986).

Διάφοροι ερευνητές βρήκαν ότι ο χρόνος ημιζωής του όζοντος σε απεσταγμένο νερό στους 20°C είναι 20-30 min, ενώ στο πόσιμο νερό είναι 2 έως 4 min μικρότερος (Khadre et al 2001). Το όζον είναι το δεύτερο πιο δραστικό οξειδωτικό μέσο (Manley and Niegowski 1997). Στον **πίνακα 4** φαίνονται τα οξειδωτικά μέσα και η οξειδωτική τους ισχύς.

Το αέριο όζον είναι μερικώς διαλυτό στο νερό και η διαλυτότητά του αυξάνεται με τη μείωση της θερμοκρασίας του νερού (Grimes et al 1983). Στον **πίνακα 5** φαίνεται η σχέση θερμοκρασίας και διαλυτότητας του όζοντος σε υδατικό διάλυμα (Rice et al 1981).

Πίνακας 4. Οξειδωτικά μέσα και η οξειδωτική τους ισχύς (πηγή: Καρακώστα 2010).

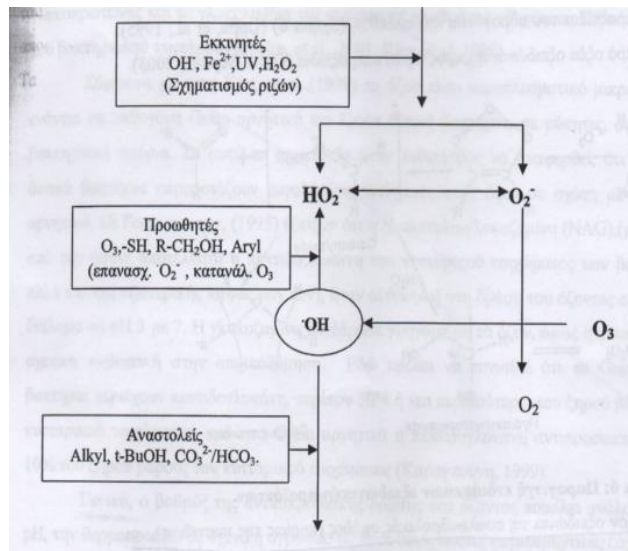
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΜΕΣΟ	ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΣΧΥΣ (mV)
Φθόριο (F)	3,07
Όζον (O ₃)	2,07
Υπερμαγγανικό ιόν (MnO ₄ ⁻)	1,67
Διοξείδιο του χλωρίου (ClO ₂)	1,50
Υποχλωριώδες οξύ (HClO)	1,49
Αέριο χλώριο (Cl)	1,36

Η ταχύτητα αποικοδόμησής του αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας (Rice et al 1981). Το όζον σε κανονική θερμοκρασία έχει μπλε χρώμα αλλά στις συγκεντρώσεις που συνήθως παράγεται δεν είναι αντιληπτό. Στους -112 °C, το όζον συμπυκνώνεται σε σκούρο μπλε υγρό (Oehlschlaeger 1978).

Πίνακας 5. Σχέση θερμοκρασίας και διαλυτότητας του όζοντος σε υδατικό διάλυμα (πηγή: Καρακώστα 2010).

ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (°C)	ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ (L O₃ / L ΝΕΡΟΥ)
0	0,640
15	0,456
27	0,270
40	0,112
60	0,000

Η αποσύνθεση του όζοντος είναι ταχύτερη στην υδατική φάση των τροφίμων και για αυτό η αντιμικροβιακή δράση του λαμβάνει χώρα κυρίως στην επιφάνεια (Kim et al 1999). Σύμφωνα με τους Staehelin and Hoigne (1985), το όζον αποικοδομείται σε διαλύματα με καθορισμένο τρόπο, δίνοντας ρίζες υδροϋπεροξειδίου ($\cdot\text{HO}_2$), υδροξυλίου ($\cdot\text{HO}$) και υπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$). Η δραστηριότητα του όζοντος οφείλεται στην πολύ μεγάλη οξειδωτική δύναμη των ελευθέρων αυτών ριζών. Συγκεκριμένα η αποικοδόμηση του όζοντος περιλαμβάνει αντιδράσεις έναρξης, διάδοσης και τερματισμού όπως φαίνεται στο **σχήμα 1**.



Σχήμα 1. Αντιδράσεις διάσπασης του όζοντος (Καρακώστα 2010).

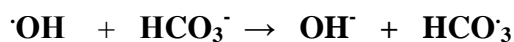
A) Κατά την έναρξη σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες, όπως το ανιόν του υπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$) και η ρίζα του υδροϋπεροξειδίου ($\cdot\text{HO}_2$). Ο σχηματισμός αυτών των ριζών οδηγεί στη δημιουργία της ρίζας υδροξυλίου ($\cdot\text{HO}$) που είναι ένα πολύ ενεργό σωματίδιο.

B) Οι αντιδράσεις διάδοσης οδηγούν στον επανασχηματισμό ριζών υδροϋπεροξειδίου και υπεροξειδίου, όπως:



Γ) Ο τερματισμός αναφέρεται σε αντιδράσεις που οδηγούν στην κατανάλωση ριζών υδροξυλίου, χωρίς τον επανασχηματισμό της ρίζας του ανιόντος υπεροξειδίου.

Π.χ.:



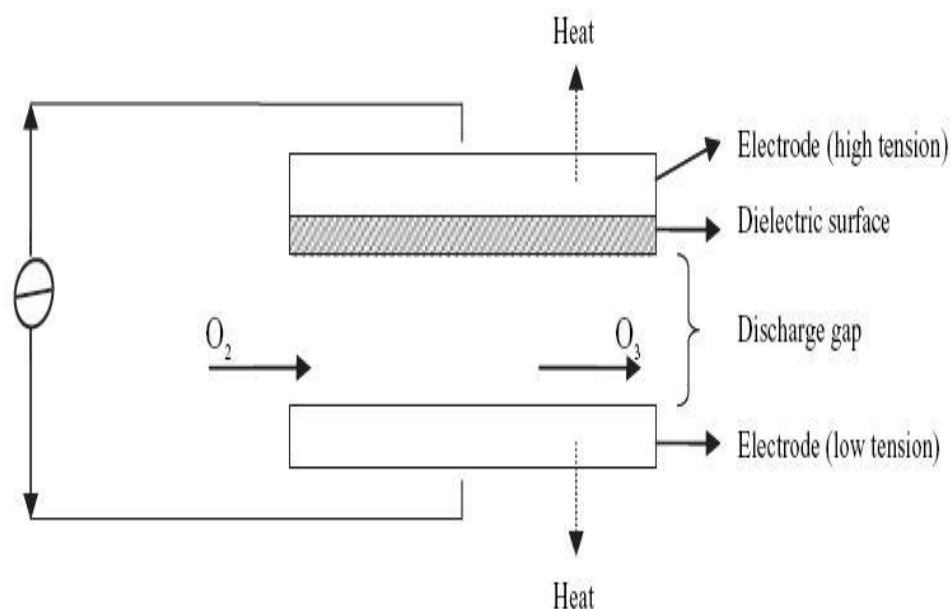
1.6.1.2 Παρασκευή όζοντος

Με την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στο οξυγόνο, το όζον σχηματίζεται φυσιολογικά στην στρατόσφαιρα σε μικρές ποσότητες. Στην τροπόσφαιρα υπάρχει ως παραπροϊόν της φωτοχημικής αντίδρασης μεταξύ υδρογονανθράκων, οξυγόνου και αζώτου που εκλύονται από τις εξατμίσεις των αυτοκινήτων, τα δάση, τις βιομηχανίες και τα ηφαίστεια (Hovarth et al 1985).

Στην βιομηχανία, το όζον παράγεται συνήθως στο σημείο εφαρμογής του στα προϊόντα και σε κλειστά συστήματα. Η παραγωγή του συνήθως γίνεται σε μικρές

συγκεντρώσεις (0,03 ppm) από το οξυγόνο του αέρα με ακτινοβολία η οποία εκπέμπεται από λάμπες UV, σε μήκος κύματος 185nm.

Η μέθοδος της ηλεκτρικής εκκένωσης (corona discharge method) χρησιμοποιείται ευρέως για την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων όζοντος (**σχήμα 2**). Η πειραματική διάταξη της συσκευής οζονισμού που βρίσκεται στο Φοιτητικό Εργαστήριο Ανάλυσης και Τεχνολογία Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, παρουσιάζεται στην **εικόνα 1**. Το όζον μπορεί επίσης να παραχθεί με χημικές, θερμικές, χημειοπυρηνικές και ηλεκτρολυτικές μεθόδους (Jin-Gab et al 1999) .



Σχήμα 2. Μέθοδος ηλεκτρικής εκκένωσης (corona discharge method), (πηγή: Καρακώστα 2010).



Εικόνα 1. Πειραματική διάταξη οζονισμού (πηγή: προσωπικό αρχείο)
A: Οζονιστήρας, B: Ψυγείο, Γ: Φιάλη οξυγόνου

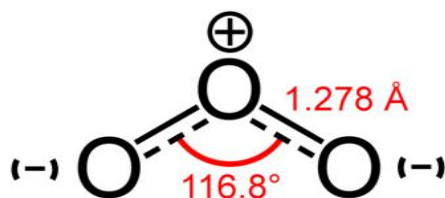
Στη φωτοχημική μέθοδο, το όζον παράγεται σε μικρές συγκεντρώσεις (0,03 ppm) από το οξυγόνο του αέρα με ακτινοβολία UV, η οποία παράγεται από υψηλής εκπομπής λάμπες, σε μήκος κύματος 185 nm. Εξαιτίας της μικρής απόδοσης, η μέθοδος αυτή δεν χρησιμοποιείται συχνά (Langlais et al 1990).

Στη ραδιοχημική μέθοδο, το όζον παράγεται με ακτινοβολία του οξυγόνου μέσω ραδιενεργών ακτίνων. Η μέθοδος είναι ιδιαίτερος πολύπλοκη και δεν χρησιμοποιείται ευρέως (Manley and Niegowsk 1967).

Στην ηλεκτρολυτική μέθοδο, το όζον σχηματίζεται από την ηλεκτρόλυση του θεικού οξέος. Η μέθοδος προκαλεί διάβρωση στα ηλεκτρόδια και χρειάζεται ειδικούς ηλεκτρολύτες ή νερό με χαμηλή ειδική αγωγιμότητα. Ωστόσο, δεν απαιτείται καμιά προετοιμασία στην τροφοδότηση του αερίου και γίνεται χρήση ρεύματος χαμηλού δυναμικού (Langlais et al 1990).

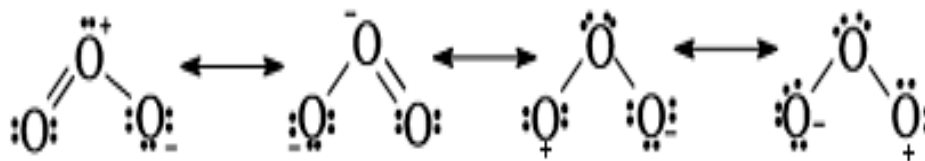
1.6.1.3 Μηχανισμός δράσης

Το μόριο του όζοντος αποτελείται από τρία άτομα οξυγόνου (**σχήμα 3**). Το κεντρικό άτομο ισαπέχει από τα άλλα δυο άτομα οξυγόνου σχηματίζοντας γωνία $116^{\circ}49'$. Το μήκος του δεσμού είναι $1,278 \text{ \AA}$ (Oehlschlaeger 1978).



Σχήμα 3. Δομή του μορίου του όζοντος.

Το όζον είναι ασταθές μόριο. Οι δομές συντονισμού του όζοντος φαίνονται στο **σχήμα 4**.



Σχήμα 4. Δομές συντονισμού στο όζον.

Το τρίτο άτομο οξυγόνου είναι χαλαρά δεσμευμένο και μπορεί εύκολα να αποσπασθεί από το μόριο. Αποδεσμευόμενο αντιδρά με άλλα μόρια. Η φυσική αποσύνθεση του όζοντος είναι μια λειτουργία του ασθενούς δεσμού στο τρίτο άτομο οξυγόνου. Όλη αυτή η διαδικασία δημιουργεί ένα ισχυρά δραστικό οξειδωτικό σύστημα (Hovarth et al 1985).

Οι αντιδράσεις του μοριακού όζοντος αφορούν κυρίως τις ακόρεστες αρωματικές και αλειφατικές ενώσεις. Το όζον επιδρά με ολεφίνες και τις οξειδώνει σχηματίζοντας κυκλικές προσθήκες στους διπλούς δεσμούς (Urpu et al 1999). Ακόμη, οξειδώνει τις σουλφουδρυλικές ομάδες (κυρίως της κυστεΐνης), οι οποίες χαρακτηρίζουν τα μικροβιακά ένζυμα (Khadre et al 2001). Επιπλέον, αντιδρά γρήγορα με τις νουκλεϊνικές βάσεις, απελευθερώνοντας υδρογονάνθρακες και φωσφορικά ιόντα. Αντίθετα, το όζον αντιδρά σχετικά αργά με τους πολυσακχαρίτες και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα (Kim et al 1999).

Το όζον δρα οξειδώνοντας και καταστρέφοντας τις οργανικές και τις ανόργανες ενώσεις των δομικών συστατικών καθώς και τους μικροοργανισμούς με τους οποίους έρχεται σε επαφή. Επιπλέον, το όζον είναι αποτελεσματικό στην εξουδετέρωση φυτοφαρμάκων, εντομοκτόνων και υπολειμμάτων φυσικών ενζύμων (Kim et al 1999).

1.6.1.4 Αντιμικροβιακή δράση

Η αντιμικροβιακή δράση του όζοντος είναι ιδιαίτερα σημαντική στη βιομηχανία τροφίμων. Το όζον είναι ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για απολύμανση. Υπερισχύει έναντι άλλων οξειδωτικών παραγόντων αφού η δράση του απαιτεί χαμηλές συγκεντρώσεις και μικρότερο χρόνο επαφής (Bader and Hoine 1982).

Οι μικροβιολογικές επιπτώσεις του όζοντος έχουν μελετηθεί και τεκμηριωθεί σε μια ευρεία ποικιλία μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων καθώς και των σπορίων και των βλαστικών κυττάρων (Hemphill and Palnikar 1995). Οι Restaino et al (1995) επίσης διερεύνησαν τις αντιμικροβιακές επιπτώσεις του οζονισμένου νερού εναντίον μικροοργανισμών συνδεδεμένων με τα τρόφιμα και προσδιόρισαν ότι το όζον κατέστρεψε αποτελεσματικά τόσο θετικά κατά Gram βακτήρια όπως *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, όσο και αρνητικά κατά Gram βακτήρια όπως *Pseudomonas aeruginosa* και *Yersinia enterocolitica*. Οι Restaino et al (1995) επίσης διαπίστωσαν ότι το όζον καταστρέφει τους ζυμομύκητες *Candida albicans* και *Zygosaccharomyces bacilli* και σπόρια *Aspergillus niger*. Το όζον έχει αποδειχθεί ότι καταστρέφει μια ευρεία ποικιλία ιών συμπεριλαμβανομένων των *hepatitis A*, *influenza A*, *vesicular stomatitis virus* καθώς και μερικά στελέχη βακτηριοφάγων.

Στον **πίνακα 6** παρατίθενται ορισμένες προτεινόμενες συγκεντρώσεις όζοντος που απαιτούνται για την καταστροφή ορισμένων μικροοργανισμών σε διάφορα τρόφιμα (Muthukumarappan et al 2000).

Πίνακας 6. Εφαρμογή όζοντος στη βιομηχανία τροφίμων ως αντιμικροβιακός παράγοντας.

ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΔΟΣΗ ΟΖΟΝΤΟΣ	ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ
Μαύρα μούρα	0,3 mg/l	<i>Botrytis cinerea</i>
Λάχανο	7–13 mg/l	<i>Botrytis cinerea</i>
Καρότα	5–15 mg/l 0,06 mg/l	<i>Botrytis cinerea/Scerotinia Sclerotiorum</i>
Πατάτες	20–25 mg/l	<i>Botrytis cinerea</i>
Γαλακτοκομικά	5 mg/l	<i>Alcaligenes faecalus/ P. fluorescens</i>
Ψάρι	0,27 mg/l 0,111 mg/l 0,064 mg/l	<i>P. putida/B. thermospacta/ L. plantarum/Shewanella putrefaciens/Enterobacter spp. Enterococcus seriolicida Pasteurella piscicida/Vibrio Anguillarum</i>
Πουλερικά	0,2–0,4 mg/l	<i>Salmonella sp./Enterobacteriaceae</i>
Καλαμπόκι	1,4 ml/l	<i>E. coli/Salmonella typhimurium</i>
Νερό	0,35 mg/l	<i>A. hydrophila/ B. subtilis/E. coli/ V. cholerae/P. aeruginosa/ L. monocytogenes/Salm. typhi/ Staph. aureus/Y. Enterocolitica</i>

Ο βαθμός της αντιμικροβιακής δράσης του όζοντος ποικίλει ανάλογα με:

1. οΤ *pH* του μέσου

Η σταθερότητα του υδάτινου όζοντος αυξάνεται με τη μείωση του *pH*. Οι Hewes et al (1973), υποστηρίζουν ότι σε υψηλό *pH* το όζον διασπάται εξαιτίας της καταλυτικής δράσης του υδροξυλιόντος.

2. Τη θερμοκρασία

Μείωση της θερμοκρασίας σε υδατικά μέσα οδηγεί στην αύξηση της διαλυτότητας του όζοντος. Αντίθετα, η αύξηση της θερμοκρασίας επιταχύνει την διάσπασή του (Katzenelson et al 1974).

3. Την υγρασία

Σύμφωνα με τους Kim et al (1999), σε χαμηλά επίπεδα όζοντος και σε επίπεδο σχετικής υγρασίας μικρότερο του 45%, το όζον δεν εμφάνισε ιδιαίτερη μικροβιοκτόνο δράση. Αντίθετα, η αύξηση της σχετικής υγρασίας οδήγησε σε σημαντική μείωση του αριθμού των βακτηρίων.

4. Τα πρόσθετα

Οι διαλυτές ουσίες που βρίσκονται στο νερό επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό το ποσοστό της αλυσιδωτής αντίδρασης ριζών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αποσύνθεση του όζοντος (Sehested et al 1987).

1.6.1.5 Όζον και πόσιμο νερό

Η επεξεργασία νερού και λυμάτων με αέριο όζον (O_3), κερδίζει συνεχώς έδαφος τα τελευταία 20 χρόνια, ειδικότερα στις βιομηχανικές εφαρμογές, αντικαθιστώντας σταδιακά και σταθερά το χλώριο (Guzel - Seydim et al 2003). Το όζον αποτελεί φιλική προς το περιβάλλον τεχνολογία απολύμανσης, καθώς μειώνει το περιβαλλοντικό κόστος της εταιρείας που το παράγει (Pascual et al 2007). Η διαδεδομένη χρήση της χλωρίνης ως απολυμαντικό αναθεωρείται καθώς η χλωρίνη αντιδρά με την οργανική ύλη και μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό τοξικών ή καρκινογόνων χλωριωμένων οργανικών ενώσεων στο νερό (Kim et al 1999).

Η μικροβιοκτόνος δράση του όζοντος για την καταστροφή των κυτταρικών δομών ακόμη και στην περίπτωση των ιών, απαιτεί υπολειμματικές συγκεντρώσεις μεταξύ 0,2 και 0,5 mg/l, με χρόνο επαφής 6 min (4 min στο καθαρό νερό), ενώ η συνήθης δοσολογία είναι περίπου 5 mg/l. Αντίστοιχα αποτελεσματική είναι και η χρήση όζοντος για την απολύμανση του πόσιμου νερού, κάτι το οποίο εφαρμόζεται στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική. Το όζον χρησιμοποιείται για τον καθαρισμό εμφιαλωμένων νερών, υδάτων δικτύων υδραγωγών αλλά και υδάτων ιδιωτικών αρτεσιανών πηγαδιών. Τα αποτελέσματα είναι θεαματικά στην εξάλειψη μικροβίων, ιών, μυκήτων, υπολειμμάτων, βαρέων μετάλλων και υποχλωριωδών (White et al 1999).

Η επεξεργασία του πόσιμου νερού με όζον έδειξε ότι ήταν πολύ αποτελεσματικό ενάντια στα σπόρια του *Bacillus subtilis*. Παρατηρήθηκε ότι 0,35 mg/l δόση όζοντος ήταν αρκετή για να προκαλέσει μείωση τουλάχιστον 5 log στους πληθυσμούς *E. coli*, *Vibrio cholera*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* και

Staphylococcus aureus. Αντίθετα, με δόση 0,50 mg/l χλωρίου η μείωση ήταν αρκετά μικρότερη για τους ίδιους μικροοργανισμούς και μόνο με δόση 2 mg/l τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια με αυτά του όζοντος (Foegeding 1985).

Σε αντίθεση με τα συμβατικά συστήματα πλύσης που χρησιμοποιούν χλώριο, τα υγρά απόβλητα που προκύπτουν από μια επεξεργασία με όζον, δεν περιλαμβάνουν χημικά υπολείμματα. Αυτό συντελεί στην προστασία του περιβάλλοντος από τη μόλυνση των υπόγειων υδάτων (Kim et al 1999). Επιπλέον, το όζον στο νερό μπορεί να μειώσει τα υπολείμματα των φυτοφαρμάκων (Nickols and Varas 1992) και τις μυκοτοξίνες (Mckenzie et al 1997).

Στον **πίνακα 7** γίνεται σύγκριση χρήσης υποχλωριωδών και όζοντος στο νερό.

Πίνακας 7. Σύγκριση χρήσης υποχλωριωδών και όζοντος στο νερό (2003 proceedings, Organic certification in the United States and Europe WSU—TFREC POSTHARVEST INFORMATION NETWORK).

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	ΥΠΟΧΛΩΡΙΩΔΗ	ΟΖΟΝ
Μικροβιακή δραστηριότητα	Αποτελεσματική θανάτωση φυτικών παθογόνων και μικροβιακών σαπροφυτικών. Μερικά παθογόνα για τον άνθρωπο, σπορογόνα πρωτόζωα, είναι ανθεκτικά.	Αποτελεσματική θανάτωση φυτικών παθογόνων και μικροβιακών σαπροφυτικών, συμπεριλαμβανομένων σπορογόνων πρωτόζωων. Μέγιστο όριο, εξαρτάται από τη διαλυτότητα, δεν υπερβαίνει τα 10 µg/ml.
Κόστος	Χαμηλό χημικό κόστος. Απαιτείται συνεχής παροχή, μερικές φορές απαιτείται σύστημα ρύθμισης συγκέντρωσης και pH, μικρό κόστος συντήρησης, αποθήκευσης και ενέργειας. Απαιτείται νερό χαμηλής ποιότητας.	Δεν υπάρχει χημικό κόστος. Μεγάλο κόστος εξοπλισμού, (γεννήτρια, συστήματα φιλτραρίσματος), εγκαταστάσεων, υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις για την γεννήτρια. Απαιτείται υψηλής ποιότητας καθαρό νερό με μικρό οξειδοαναγωγικό δυναμικό.

Επίδραση pH	Μειωμένη δραστηριότητα όσο αυξάνεται το pH, πάνω από 8 μπορεί να χρειαστεί ρυθμιστής pH. Το αέριο χλώριο απελευθερώνεται σε πολύ χαμηλό pH (4 ή λιγότερο).	Η δραστηριότητα δεν επηρεάζεται πολύ από το pH, αλλά η αποικοδόμηση του όζοντος επιταχύνεται σε pH πάνω από 8.
Απολύμανση παραπροϊόντων	Παρατηρείται κάποια ανησυχία. Αλογονωμένα συστατικά, κυρίως χλωροφόρμιο, που αποτελούν πρόβλημα για την ανθρώπινη ασφάλεια.	Παρατηρείται μικρότερη ανησυχία. Μικρή αύξηση αλδευδών, κετονών, αλκοολών και καρβοξυλικών οξέων που σχηματίζονται από οργανική ύλη, βρωμικό ιόν μπορεί να σχηματιστεί από βρώμιο.
Ασφάλεια	Μπορεί να σχηματιστούν χλωραμίνες και να παραχθούν επιβλαβή αέρια. Το αέριο χλώριο έχει όριο ασφαλείας OSHA (TWA) 1 mg/ml.	Η απώλεια αερίου όζοντος μπορεί να ελεγχθεί με MnO ₂ που αποικοδομεί το όζον. Έχει όριο ασφαλείας OSHA (TWA) 0,1 ppm.
Σταθερότητα στο νερό	Παραμένει σταθερό για ώρες σε καθαρό νερό, σε ακάθαρτο νερό παραμένει σταθερό για λίγα λεπτά.	Παραμένει σταθερό για μερικά λεπτά σε καθαρό νερό, σε ακάθαρτο νερό παραμένει σταθερό για λίγα δευτερόλεπτα.
Όρια χρήσης	Σύμφωνα με τους κανονισμούς τα όρια είναι 25-600 mg/ml, αλλά εξαρτώνται από τη χρήση.	Δεν υπάρχει κανονισμός για επιτρεπτά όρια αλλά σύμφωνα με τον νόμο του Henry τα θεωρητικά ανώτατα όρια όζοντος στο νερό είναι περίπου 30 ppm (mg/l) στους 20 °C. Τα περισσότερα συστήματα παράγουν 5 mg/l ή λιγότερο.
Χρήση σε θερμό νερό	Αυξάνεται η δραστηριότητα, μερική αύξηση των ατμών.	Σταδιακή αποικοδόμηση, αύξηση απώλειας αερίου, μείωση διαλυτότητας O ₃ .
Επίδραση στην ποιότητα των προϊόντων	Μικρή πιθανότητα πρόκλησης ζημίας σε τιμές 200 mg/ml ή χαμηλότερες.	Στο νερό και σε μικρές συγκεντρώσεις μικρή πιθανότητα ζημίας σε εσπεριδοειδή, αλλά χρειάζεται περισσότερη προσοχή.

Επίδραση στην ποιότητα του νερού	Μικρή αρνητική επίδραση: η συγκέντρωση των αλάτων του νερού αυξάνεται σε κάποιο βαθμό, μπορεί μαζί με διάφορες ζυμώσεις να μειωθεί το βιολογικά απαιτούμενο οξυγόνο, αδρανοποιούνται κάποια φυτοφάρμακα, μπορεί να χρειαστεί απομάκρυνση χλωρίου.	Κυρίως θετική επίδραση: Δεν αυξάνονται τα άλατα στο νερό, πολλά φυτοφάρμακα αποικοδομούνται, μπορεί να μειωθεί το βιολογικά/χημικά απαιτούμενο οξυγόνο, η κροκίδωση και η σταθερότητα ορισμένων οργανικών συστατικών ενισχύεται, καθίζηση σιδήρου, απομάκρυνση χρωστικών και οσμών.
Διαβρωτικότητα	Υψηλή, κυρίως ο σίδηρος και λιγότερο ο χάλυβας καταστρέφονται.	Υψηλότερη, κυρίως σε πλαστικά και μέταλλα (αλουμίνιο, σίδηρο, ψευδάργυρο και λιγότερο ο χάλυβας).

1.6.1.6 Χρήση του όζοντος στη βιομηχανία τροφίμων

Ο οζονισμός χρησιμοποιείται εδώ και χρόνια στην Ευρώπη για την απολύμανση του προς κατανάλωση νερού. Άλλες χρήσεις του όζοντος είναι η απολύμανση εμφιαλωμένων νερών, νερών σε πισίνες και απόνερων (Rice et al 1981, Legeron 1982, Echols and Mayne 1990, Costerton 1994, Videt et al 1995, Strittmter et al 1996). Στις Ηνωμένες Πολιτείες η χρήση του δεν είναι ευρέως διαδεδομένη, παρόλα αυτά ο FDA (Food and Drug Administration), αναγνώρισε το 1982 την χρήση όζοντος ως ασφαλή μέθοδο απολύμανσης εμφιαλωμένων νερών. Η χρήση του όζοντος έγινε αποδεκτή από το αρμόδιο Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών για την ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση του νερού που χρησιμοποιείται για την ψύξη των πουλερικών το 1997. Μετά από ένα χρόνο μία ομάδα επιστημόνων μελετώντας το όζον, αναγνώρισε την χρήση όζοντος ως ασφαλή μέθοδο απολύμανσης και αποστείρωσης των τροφίμων όταν η χρήση γίνεται σε συμφωνία με τις διαδικασίες επεξεργασίας. Έτσι, το όζον έχει γίνει δεκτό ως μέθοδος αποστείρωσης και απολύμανσης στα τρόφιμα και στην επεξεργασία των τροφίμων (USDA 1997).

Έχουν προταθεί αρκετές εφαρμογές του όζοντος στην βιομηχανία τροφίμων όπως, η απολύμανση επιφανειών επεξεργασίας των τροφίμων, η απολύμανση του χρησιμοποιούμενου εξοπλισμού, στην επαναχρησιμοποίηση των απόνερων, την μείωση του βιολογικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) και του χημικά απαιτούμενου

οξυγόνου (COD) που χρησιμοποιείται από τους ενυπάρχοντες μικροοργανισμούς για την διάσπαση της οργανικής ύλης δείγματος νερού και αποτελεί μέτρο της περιεκτικότητάς του σε ορισμένους τύπους οργανικών ρυπαντών (Rice et al 1982, Guzel-Seydmin 1996, Dosti 1998, Majchrowicz 1998). Το όζον δεν χρησιμοποιείται ευρέως ακόμη στην βιομηχανία τροφίμων.

Η χρήση του όζοντος ως ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας, έχει αρκετά πλεονεκτήματα στην βιομηχανία και ειδικότερα στην βιομηχανία τροφίμων. Μειώνει το μικροβιακό φορτίο, τα οργανικά τοξικά συστατικά, το χημικά και βιολογικά απαιτούμενο οξυγόνο. Το όζον μετατρέπει πολλές μη βιοδιασπώμενες ουσίες σε βιοδιασπώμενες (Hovarth et al 1985).

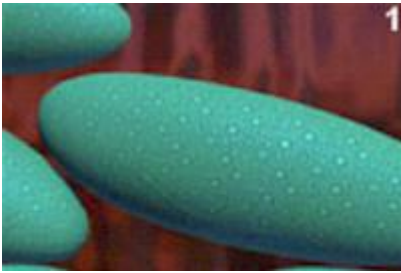
Τα νωπά φρούτα και λαχανικά πλένονται πρώτα με οζονοποιημένο νερό και το νερό πλύσης μπορεί να συλλεχθεί εκ νέου και να επεξεργαστεί με συνδυασμό οζονοποίησης και φιλτραρίσματος. Δυο τύποι συστημάτων πλύσης χρησιμοποιούνται για την μείωση του μικροβιακού πληθυσμού στην επιφάνεια του τροφίμου: ο ψεκασμός και η χρήση τεχνητού καναλιού (πειραματικής σήραγγας). Το επεξεργασμένο νερό πλύσης είναι ελεύθερο από βακτήρια, χρώμα και στερεά αιωρούμενα σωματίδια και μπορεί να ανακυκλωθεί για να μειωθεί η κατανάλωση νερού. Σε αντίθεση με τα συμβατικά συστήματα πλύσης που χρησιμοποιούν χλώριο, τα υγρά απόβλητα που εκκενώνονται από μια επεξεργασία με όζον είναι ελεύθερα από χημικά υπολείμματα. Αυτό παίζει ιδιαίτερο ρόλο όσον αφορά την προστασία του περιβάλλοντος και την μόλυνση των υπόγειων υδάτων. Το όζον καταστρέφει επίσης τα παρασιτοκτόνα και τα χημικά υπολείμματα, όπως τα χλωριωμένα παραπροϊόντα. (Jin Gab et al 1999).

1.6.1.7 Σημασία του όζοντος για την υγιεινή των τροφίμων

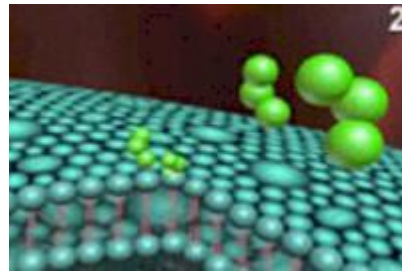
- **Καταστροφή ιών και βακτηρίων**

Στην **εικόνα 2** απεικονίζεται ο μηχανισμός καταστροφής των μικροοργανισμών από το όζον. Η έκταση αυτής της απολύμανσης εξαρτάται από τη συγκέντρωση του όζοντος και το χρόνο επαφής του με τον μικροοργανισμό. Τα βακτήρια είναι τα πιο ευάλωτα στο όζον. Π.χ., το κολοβακτηρίδιο καταστρέφεται από συγκεντρώσεις όζοντος μόλις 0,01 mg/l και για χρόνο επαφής 15 sec στους 25°C. Ο στρεπτόκοκκος καταστρέφεται ακόμα πιο εύκολα. Οι ιοί είναι ανθεκτικότεροι από τα βακτήρια, αλλά

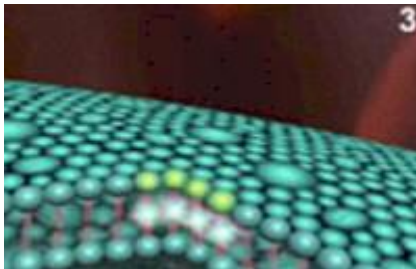
και αυτοί πάλι οξειδώνονται μέσα σε σύντομο χρόνο και με σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις όζοντος (Καρακώστα 2010).



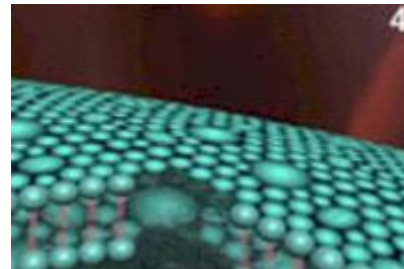
Βακτηρία σε διάλυμα.



Μόρια όζοντος πλησιάζουν ένα βακτήριο.



Οι ελεύθερες ρίζες διεισδύουν στα τοιχώματα.



Δημιουργία οπής στα τοιχώματα του κυττάρου.



Το κύτταρο αρχίζει να χάνει τη συνοχή του.



Καταστροφή του κυττάρου (κυτταρόλυση).

Εικόνα 2. Μηχανισμός καταστροφής των μικροοργανισμών από το όζον (Καρακώστα 2010).

- **Οξείδωση οργανικών ουσιών**

Το όζον είναι ισχυρότατος παράγων στην εξουδετέρωση φυσικών και συνθετικών οργανικών ουσιών (φυτοφάρμακα, υπολείμματα φυσικών ζυμώσεων, εντομοκτόνα). Μερικές οργανικές ουσίες καταστρέφονται σε δευτερόλεπτα (π.χ. φαινόλες και μυρμηκικό οξύ), ενώ άλλες χρειάζονται περισσότερο χρόνο (π.χ. ορισμένα εντομοκτόνα όπως το DTT κλπ.) Σε ορισμένες περιπτώσεις οργανικών ουσιών, η οξείδωση είναι μόνο μερική, με αποτέλεσμα η ουσία να παράγει πολύπλοκες αδιάλυτες ύλες που απομακρύνονται εύκολα με φίλτρο ενεργού άνθρακα (Καρακώστα 2010).

- **Οξείδωση ανόργανων ουσιών**

Το όζον οξειδώνει ταχύτατα και αποτελεσματικά πολλές ανόργανες ενώσεις παράγοντας αβλαβή υποπροϊόντα. Μερικά παραδείγματα: Στην περίπτωση του σιδήρου, του μαγγανίου και αρκετών ενώσεων του αρσενικού, η οξείδωση γίνεται ταχύτατα και αφήνει αδιάλυτες συνθέσεις που μπορούν να απομακρυνθούν εύκολα με φίλτρο ενεργού άνθρακα. Τα ιόντα του σουλφιδίου οξειδώνονται σε άλατα θεικού οξέος που είναι αβλαβή, ενώ εξαφανίζονται και οι όποιες οσμές θείου. Οι νιτρώδεις εστέρες οξειδώνονται σε νιτρικά άλατα που είναι σταθερά και αβλαβή.

Οι Kaess and Weidemann (1968), ανέφεραν ότι οι πληθυσμοί της *Pseudomonas* spp. και του *Cl. Scottii* σε βοδινό κρέας μειώθηκαν αισθητά σε αέριο όζον ($C > 2$ mg/l), η φάση λογαριθμικής ανάπτυξης του *Thamnidium* spp. και *Penicillium* spp. αυξήθηκε, αλλά ο ρυθμός αύξησης δεν άλλαξε. Το χρώμα στην επιφάνεια του βοδινού κρέατος, επεξεργασμένου με όζον ($C < 0,6$ mg/l), δεν διέφερε από το δείγμα του μάρτυρα. Οι ίδιοι ερευνητές παρατήρησαν ότι, αέριο μίγμα όζοντος, συγκέντρωσης 0,1 mg/l και περιεκτικότητας σε υγρασία 60 με 90% ήταν αρκετό για να αναστείλει τη δράση των βακτηρίων, ενώ για την παρεμπόδιση ανάπτυξης των μυκήτων χρειάστηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις.

Οι Dondo et al (1992), μελέτησαν τη χρήση του όζοντος σε βοδινό κρέας αποθηκευμένο σε θερμοκρασία ψύξης. Παρατήρησαν ότι το όζον καθυστέρησε την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που υπήρχαν στην επιφάνεια κατά τη διάρκεια της

αποθήκευσης. Επιπλέον, βελτίωσε την οργανοληπτική ποιότητα και μείωσε τον σχηματισμό πτητικών ενώσεων.

Σύμφωνα με τους Sheldon and Brown (1986), χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα όζοντος, συγκέντρωσης 3 έως 4,5 ppm για 45 min. Αποτέλεσμα της χρήσης του ήταν η απολύμανση των πουλερικών μετά τη σφαγή τους αφού διαπιστώθηκε μείωση των μικροοργανισμών κατά 2 λογαρίθμους. Ακόμη, δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη οξείδωση στα λίπη, στην ανάπτυξη οσμών και στην αλλαγή του χρώματος.

Οι Waldroup et al (1993), παρατήρησαν ότι η χρήση 0,5 ppm όζοντος οδήγησε στην θανάτωση όλων των κυττάρων *E. coli* σε πουλερικά, ενώ ο πληθυσμός της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας μειώθηκε σημαντικά.

Σε μια άλλη μελέτη το όζον χρησιμοποιήθηκε για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών σε κρέας πουλερικών. Αυτό επιτεύχθηκε όταν εφαρμόστηκε στο κρέας αέριο μίγμα όζοντος με ροή 1500 ppm/ min για 50 min (Kim and Kim 1991).

Στη βιομηχανία ιχθύων, το όζον δοκιμάστηκε ως προς τη βακτηριοκτόνο δράση του και ως προς την ικανότητά του να βελτιώνει τις οργανοληπτικές ιδιότητές τους. Μελετήθηκε η δυνατότητα συντήρησης στο σκουμπρί με χρήση όζοντος (Haraguchi et al 1969). Η επίδραση διαλύματος NaCl 3% που περιείχε 0,6 ppm όζοντος για 30 και 60 min στο δέρμα εκσπλαχμισμένων ψαριών, μείωσε το βακτηριακό πληθυσμό κατά 2 με 3 λογαρίθμους. Ο χρόνος ζωής αυξήθηκε από 20 έως 60% όταν η εφαρμογή του όζοντος γινόταν κάθε 2 ημέρες. Παρατηρήθηκε ότι το όζον ήταν αποτελεσματικό, σε απεσταγμένο νερό και σε διάλυμα NaCl 3%, για την αδρανοποίηση μικροοργανισμών, όπως *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* και *Staphylococcus aureus* (Chen et al 1987).

Οι Kotters et al (1997), παρατήρησαν ότι το επαναλαμβανόμενο πλύσιμο των πετρόψαρων με οζονισμένο νερό κατά τη διάρκεια της μεταφοράς τους από το σημείο αλίευσης προς το εργαστήριο, επιμήκυνε το χρόνο ζωής τους κατά 36 ώρες.

Επιπλέον, οι Campos et al (2005), κατεργάστηκαν δείγματα σαρδέλας και παρατήρησαν ότι τα δείγματα σαρδέλας που αποθηκεύτηκαν σε διάλυμα όζοντος, που περιείχε πάγο, είχαν χρόνο ζωής 19 ημέρες. Αντίθετα, ο χρόνος ζωής δειγμάτων σαρδέλας που αποθηκεύτηκαν σε κρυστάλλους πάγου και νιφάδες πάγου, που δεν είχαν υποστεί οζονισμό, ήταν 15 και 8 ημέρες αντίστοιχα. Επίσης, η αποθήκευση σε διάλυμα όζοντος που περιείχε πάγο οδήγησε σε σημαντική μείωση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, ψυχρότροφων βακτηρίων, αναερόβιων βακτηρίων και κολοβακτηριδίων.

Τα φρέσκα ψάρια μπορούν να συντηρηθούν περισσότερο εάν πλένονται σε νερό που περιέχει όζον και πάγο που προήλθε από οζονισμένο νερό. Το όζον μείωσε τους μολυσματικούς παράγοντες της επιφάνειας των ψαριών κατά την διάρκεια αποθήκευσης υπό κατάψυξη (Dondo et al 1992).

Παράταση στο χρόνο ζωής του οζονισμένου φρέσκου μυδιού συσκευασμένου σε κενό παρατηρήθηκε από τους Manousaridis et al (2005). Η συγκέντρωση όζοντος που χρησιμοποιήθηκε ήταν 1 mg/l και ο χρόνος έκθεσης των μυδιών στο υδατικό διάλυμα όζοντος 60 με 90 min. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η διάρκεια ζωής των οζονισμένων μυδιών για χρόνο 90 min αυξήθηκε κατά 3 ημέρες σε σχέση με αυτήν του μάρτυρα.

Οι Rojek et al (1995), χρησιμοποίησαν όζον υπό πίεση για να μειώσουν τον μικροβιακό πληθυσμό στο αποβουτυρωμένο γάλα. Η συγκέντρωση του αερίου όζοντος που χρησιμοποιήθηκε ήταν από 5 έως 35 mg/l και ο χρόνος επεξεργασίας 5 με 25 min. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι το όζον ήταν αποτελεσματικό στην μείωση των ψυχρότροφων πληθυσμών κατά 2,4 λογαρίθμους. Στην ίδια εργασία μελέτησαν επίσης την συμπεριφορά του όζοντος στο τυρόγαλα και στο χυμό μήλου και παρατήρησαν παρόμοια μικροβιολογική μείωση.

Το όζον επίσης έχει χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της ανάπτυξης μυκήτων στην επιφάνεια του τυριού Cheddar. Σε υψηλές συγκεντρώσεις αερίου όζοντος (3-10 ppm), το όζον φάνηκε να καταστρέφει τους μύκητες. Όμως, μετά το τέλος του οζονισμού η ανάπτυξη των μυκήτων αυξήθηκε (Gibson et al 1960). Ακόμη, σύμφωνα με τους Hovarth et al (1985), η επεξεργασία του τυριού Cheddar με χρήση υδατικού διαλύματος όζοντος (0,02 mg/l) αύξησε το χρόνο ζωής του προϊόντος σε 11 εβδομάδες κατά την διάρκεια της ωρίμανσης.

Προκειμένου να μελετηθεί το όζον ως συντηρητικό σε αποξηραμένα τρόφιμα, οι Naitoh et al (1987), χρησιμοποίησαν διάφορους σπόρους δημητριακών, αλεύρι, φασόλια και ολόκληρα μπαχαρικά και τα επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση όζοντος από 0,5 έως 50 mg/l, σε χρόνο 1 έως 6 ώρες, με ρυθμό ροής 100 L/min και σε θερμοκρασία 5 έως 50 °C. Με λίγες εξαιρέσεις, μεγαλύτερος χρόνος και χαμηλότερη θερμοκρασία έκθεσης συνετέλεσαν σε υψηλότερη μικροβιοκτόνο δράση στα τρόφιμα. Οι ερευνητές βρήκαν ότι σε συγκεντρώσεις όζοντος < 5ppm δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στην οξειδωση του λίπους, γεγονός που δεν ίσχυε σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις όζοντος.

Οι Naitoh and Shiga (1989), ανέφεραν ότι η ταυτόχρονη κατεργασία με μίγμα οζονισμένου αέρα (0,02-0,2 ppm) και οζονισμένου νερού (0,3-0,5 ppm) επέφερε ολική μείωση στο ποσοστό των μικροβίων και επιμήκυνση του χρόνου ζωής σε διάφορες ποικιλίες φασολιών (black matpe και alfalfa).

Το όζον χρησιμοποιήθηκε και στην επεξεργασία φρούτων και λαχανικών όπου σημειώθηκε αύξηση του χρόνου ζωής των προϊόντων (Norton et al 1968, Rice et al 1982). Ο Bazarova (1982), αποθήκευσε μήλα σε ειδικό χώρο θερμοκρασίας 0-1⁰C, σχετικής υγρασίας 90-95% όπου διοχετευόταν αέριο όζον (5-6 mg/l) καθημερινά για 4 ώρες. Η επεξεργασία αυτή προκάλεσε ελάττωση της απώλειας βάρους και γενικά μείωση της αλλοίωσης του προϊόντος. Οι Horvath et al (1985), παρατήρησαν ότι η αύξηση του χρόνου ζωής των μήλων οφειλόταν στην οξείδωση του αιθυλενίου και στην αφαίρεση άλλων μεταβολικών προϊόντων από το όζον.

Επιπλέον, το όζον έχει προταθεί ως εναλλακτική μέθοδος, αντί της παστερίωσης, στην επεξεργασία χυμού από μήλα και χυμού από πορτοκάλια, καθώς οδήγησε σε μείωση του πληθυσμού της *Escherichia coli* O157:H7 και της *Salmonella* spp. της τάξης του 10⁵ (Williams et al 2005).

Επεξεργασία μούρων με τη χρήση αερίου όζοντος σε συγκεντρώσεις 0,1- 0,3 ppm, εμπόδισε την ανάπτυξη μυκήτων για 12 ημέρες σε θερμοκρασία 2⁰C. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε επιφανειακός τραυματισμός στο προϊόν (Barth et al 1995). Σταφύλια τα οποία εκτέθηκαν σε διάλυμα όζοντος (8 mg/l) για 20 min οδήγησαν στη μείωση των βακτηρίων, των μυκήτων και των ζυμών. Περαιτέρω μείωση των μυκήτων και αύξηση στο χρόνο ζωής των σταφυλιών παρατηρήθηκε κατά την αποθήκευση αυτών σε θερμοκρασία ψύξης (Sarig et al 1996).

Στα λαχανικά τα πλεονεκτήματα χρήσης του όζοντος ήταν παρόμοια με εκείνα κατά την κατεργασία των φρούτων. Τα κρεμμύδια και οι πατάτες αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους που ήταν καλυμμένοι με ταινία πολυαιθυλενίου, στους οποίους παραγόταν αέριο όζον στις εξής συνθήκες: 0,2 mg/l για 8 ώρες/ημέρα, 5 ημέρες/εβδομάδα (Faitelberg-Blank et al 1979). Η κατεργασία με όζον μείωσε την πρόσληψη οξυγόνου, ενώ ήταν αισθητή η παρεμποδιστική επίδραση στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Ο Baranovskaya et al (1979), χρησιμοποίησαν αέριο όζον κατά τη βιομηχανική αποθήκευση καρπών πατάτας, κρεμμυδιών και ζαχαρότευτλων. Διατήρησαν τη συγκέντρωση του όζοντος στα 3 mg/l, σε θερμοκρασία 6 έως 14⁰C και σχετική υγρασία 93-97%. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ποσοστά των

βακτηρίων και των ζυμών ήταν πολύ ελαττωμένα για τα κατεργασμένα δείγματα, ενώ η χημική σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά δεν άλλαξαν ιδιαίτερα.

Η κατεργασία με όζον μείωσε κατά 80-90% το συνολικό πληθυσμό των βακτηρίων στο σκόρδο και στο τζίντζερ, ενώ βελτίωσε τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες (Kim et al 1999).

Αέριο όζον (4,9% vol/vol, 0,5 L/min) διοχετεύθηκε σε νερό και το μίγμα εφαρμόστηκε σε μαρούλια. Μετά την κατεργασία διαπιστώθηκε μείωση στη φυσική μικροβιακή ανάπτυξη από 1,5 έως 1,9 λογαρίθμους εντός 5 min. Οι Kim et al (1999), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το υδατικό διάλυμα όζοντος ήταν η πιο αποτελεσματική μέθοδος οζονισμού για το μαρούλι.

Επιμήκυνση στο χρόνο ζωής φρεσκοκομμένου σέλινου παρατήρησαν οι Zhang et al (2005), οι οποίοι το μεταχειρίστηκαν με οζονισμένο νερό χαμηλών συγκεντρώσεων, της τάξης των 0,03 ppm, 0,08 ppm και 0,18 ppm. Σε όλες τις περιπτώσεις βελτιώθηκαν οι οργανοληπτικές του ιδιότητες, ενώ η μεγαλύτερη διάρκεια συντήρησης στο φρεσκοκομμένο σέλινο παρατηρήθηκε σε συγκέντρωση οζονισμένου νερού με 0,18 ppm, όπου μειώθηκε το βακτηριακό φορτίο κατά 1,69 λογαρίθμους.

Οι Skog and Chu (2000) παρατήρησαν ότι συγκέντρωση 0,4 ppm αερίου όζοντος αύξησε σημαντικά την ποιότητα και το χρόνο ζωής σε μπρόκολα και αγγούρια, κατά την αποθήκευση αυτών σε ψυχρό περιβάλλον.

Δείγματα μαύρου πιπεριού, που περιείχαν ποικίλα επίπεδα υγρασίας, ψεκάστηκαν με αέριο όζον (συγκέντρωσης 6,7 mg/l) για απολύμανση, για περισσότερο από 6 ώρες. Ο συνολικός πληθυσμός αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων των κατεργασμένων με όζον δειγμάτων μειώθηκαν από 3 έως 6 λογαρίθμους, ανάλογα με τα επίπεδα υγρασίας. Η μεταχείριση με όζον του μαύρου πιπεριού οξείδωσε μερικώς διάφορα πτητικά έλαια, ενώ η μεταχείριση ολόκληρων των κόκκων του μαύρου πιπεριού δεν είχε καμιά επίδραση σε αυτά. Επειδή ο οζονισμός του μαύρου πιπεριού μείωσε το μικροβιακό του φορτίο και δεν προκάλεσε καμιά σημαντική οξείδωση στα πτητικά του έλαια, προτάθηκε ως μέθοδος για τη βιομηχανική του επεξεργασία (Zhao and Cranston 1995).

1.6.1.8 Τοξικότητα

Παρά το γεγονός ότι το όζον έχει ευχάριστη οσμή σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ωστόσο, συγκέντρωση 0,1 mg/l είναι δυσάρεστη σε όλους τους ανθρώπους εξαιτίας του ερεθισμού της μύτης, του λαιμού και των ματιών. Ο άνθρωπος μπορεί να αντιληφθεί την παρουσία όζοντος σε συγκεντρώσεις από 0,02 έως 0,04 mg/l, ενώ εκτεταμένη έκθεση σε συγκεντρώσεις 1000 mg/l ή μεγαλύτερες, μπορεί να προκαλέσει τον θάνατο. Ακόμη έκθεση σε συγκεντρώσεις, 2, 4, 15 και 95 ppm για μία ώρα μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση άλλων συμπτωμάτων, ερεθισμό, τοξική δράση ή θάνατο αντίστοιχα. Οι τοξικές επιδράσεις του εισπνεόμενου όζοντος εκδηλώνονται στους πνεύμονες. Επιπλέον, το όζον προκαλεί πονοκέφαλο, ζαλάδα, καυστικότητα στα μάτια και στο λαιμό, βήχα και πικρή γεύση. Επιπλέον, τα συμπτώματα από τη χρόνια έκθεση στο όζον είναι αδυναμία, απώλεια μνήμης, βρογχίτιδα και μυϊκός ερεθισμός (Hoof 1982).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής η μέγιστη επιτρεπτή έκθεση στο όζον είναι 0,1 ppm για περίοδο 8 ωρών εργασίας (Kim et al 1999). Η υπόθεση ότι το όζον προκαλεί μετάλλαξη ή καρκινογένεση στους ανθρώπους μπορεί να τεθεί υπό αμφισβήτηση εφόσον αυτή στηρίζεται κυρίως στις πληροφορίες του βιοχημικού μηχανισμού της τοξικότητας του όζοντος και στις έρευνες in vitro και σε πειραματόζωα (Jin-Gab et al 1999).

1.6.2 ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ (Α.Ε.)

Τα αιθέρια έλαια (Α.Ε.) είναι αρωματικές ελαιώδεις ουσίες που προέρχονται από φυτά (λουλούδια, μπουμπούκια, σπόρους, κλαδάκια, φλοιούς, βότανα, δένδρα, καρπούς και ρίζες). Τα Α.Ε. εξάγονται από τα φυτά με φυσικές και χημικές μεθόδους όπως το στύψιμο, η ζύμωση, η εκχύλιση και η απόσταξη με υδρατμούς. Η τελευταία αποτελεί την πιο συνηθισμένη μέθοδο για τη βιομηχανική παραγωγή τους. Ο όρος 'αιθέριο έλαιο' χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά τον 16^ο αιώνα από τον Σουηδό Ιατρό Paracelsus Von Hohenheim ο οποίος ονόμασε το δραστικό συστατικό ενός φαρμάκου, Quinta essential (Burt 2004).

Παρόλο που ο όρος 'αιθέριο έλαιο' έχει πια καθιερωθεί, μπορεί να θεωρηθεί παραπλανητικός δεδομένου ότι δεν πρόκειται για έλαια (δηλαδή μίγματα τριγλυκεριδίων) αλλά για τερπενικές ουσίες μικρού μοριακού βάρους. Αιθέρια ονομάστηκαν γιατί είναι πτητικά, όπως ο αιθέρας και έλαια γιατί είναι λιπαρά στην αφή και επιπλέουν στο νερό. Τα Α.Ε. και τα συστατικά τους έχουν αποδειχθεί ότι

έχουν αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή, αντιτοξική, αντιοξειδωτική, αντιπαρασιτική και εντομοκτόνα δράση (Burt 2004).

1.6.2.1 Σύσταση των Α.Ε.

Τα αιθέρια έλαια είναι πολυσύνθετα μίγματα οργανικών ουσιών, η σύνθεση των οποίων διαφέρει αισθητά στα διάφορα είδη ή και ποικιλίες φυτών. Ο προσδιορισμός των συστατικών έχει μεγάλη σημασία γιατί από την παρουσία και την ποσότητά τους εξαρτάται κυρίως η ποιότητα των αιθέριων ελαίων. Τα συστατικά των αιθέριων ελαίων διακρίνονται σε δύο μεγάλες ομάδες (Panou-Philotheou 1999).

A. Μη οξυγονούχα συστατικά

Υδρογονάνθρακες: Αλειφατικοί ή ανοιχτής αλυσίδας, αρωματικοί, κυκλικά τερπένια (μονοτερπένια), σεσκιτερπένια, διτερπένια, αζουλένια (παράγωγα του ναφθαλινίου).

B. Οξυγονούχα συστατικά

Παράγωγα ανώτερων υδρογονανθράκων

Αλκοόλες: Ο αριθμός και η ποσότητα αυτών σε κάθε αιθέριο έλαιο είναι παράγοντες οι οποίοι συμβάλλουν στην καλή ποιότητα αυτού και διακρίνονται σε:

α) αλειφατικές ή ανοιχτής αλυσίδας, β) κυκλικές τερπενικές: μονοκυκλικές, δικυκλικές και τρικυκλικές, γ) σεσκιτερπενικές, δ) αρωματικές.

Αλδεΐδες: αλειφατικές ή ανοιχτής αλυσίδας, κυκλικές τερπενικές, αρωματικές, ετεροκυκλικές.

Κετόνες: αλειφατικές ή ανοιχτής αλυσίδας, κυκλικές τερπενικές, σεσκιτερπενικές, αρωματικές, άλλες κετόνες.

Οργανικά οξέα: αλειφατικά, αρωματικά.

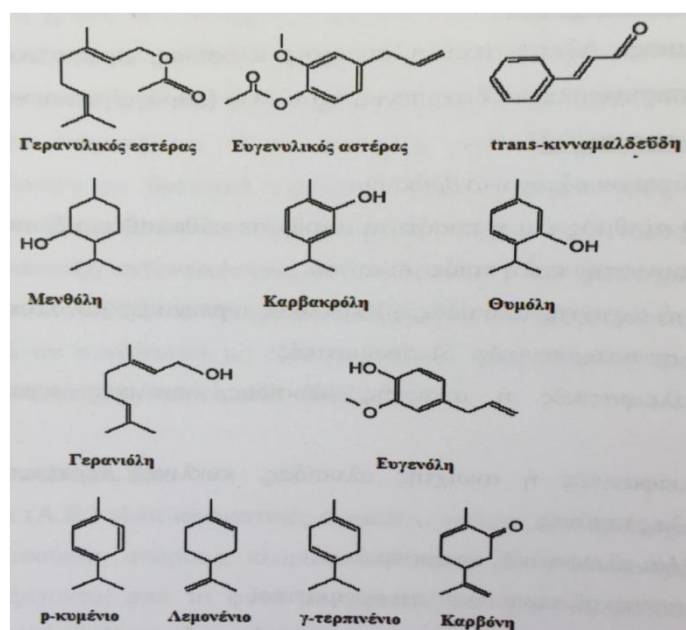
Εστέρες: αλειφατικοί, τερπενικοί και αρωματικοί.

Φαινόλες: Είναι παράγωγα των αρωματικών υδρογονανθράκων που προέρχονται με αντικατάσταση ενός ή περισσότερων ατόμων υδρογόνου του αρωματικού δακτυλίου τους, από υδροξύλια.

Λακτόνες, παράγωγα φουρανίου

Τα συστατικά των αιθέριων ελαίων διακρίνονται σε πρωτεύοντα (80% της συνολικής σύστασης) και δευτερεύοντα (20% της συνολικής σύστασης), που απαντούν σε ίχνη. Οι αντιβακτηριακές ιδιότητες των Α.Ε. αποδίδονται κυρίως στα

φαινολικά τους συστατικά (Cosentino et al 1999). Οι συντακτικοί τύποι των κυριότερων συστατικών αιθέριων ελαίων παρουσιάζονται στην **εικόνα 3**.



Εικόνα 3. Συντακτικοί τύποι κυριότερων συστατικών των αιθέριων ελαίων (Burt 2004)

1.6.2.2 Αντιμικροβιακή δράση των Α.Ε.

Τα αιθέρια έλαια έχουν επιδείξει δραστικότητα έναντι των βακτηρίων: *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium* και *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* καθώς και σε ζύμες/μύκητες όπως π.χ. *Saccharomyces cerevisiae*, *Apergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* (Burt 2004, Rota et al 2004)

Οι διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών των Α.Ε. και των μικροοργανισμών είναι λιγοστές. Τα φαινολικά τους συστατικά είναι τα κυρίως υπεύθυνα για την αντιμικροβιακή δράση.

Οι ελάχιστες συγκεντρώσεις αναστολής των βακτηρίων που καταγράφηκαν για διάφορα Α.Ε. κατά τη διάρκεια της δοκιμής “in vitro” φαίνονται στον **πίνακα 8**.

Πίνακας 8. Ελάχιστες Ανασταλτικές Συγκεντρώσεις – Minimum Inhibitory Concentration (MIC) των αιθέριων ελαίων *in vitro* έναντι παθογόνων βακτηρίων (Burt 2004).

Φυτό από το οποίο έγινε η εξαγωγή του αιθέριου ελαίου	Βακτήριο	MIC (μl/ml)
Ρίγανη	<i>Escherichia coli</i>	0,5-1,2
	<i>Salmonella enterica, typhimurium</i>	1,2
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5-1,2
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,2
Γαρύφαλλο	<i>Escherichia coli</i>	0,4-2,5
	<i>Salmonella enteric, typhimurium</i>	>20
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0-2,5
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,156-0,45
Θυμάρι	<i>Escherichia coli</i>	0,45-1,25
	<i>Salmonella enterica, typhimurium</i>	0,45-20
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,2-2,5
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,156-0,45

Μολονότι τα Α.Ε. επέδειξαν καλή αντιμικροβιακή συμπεριφορά σε ‘*in vitro*’ έρευνες, διαπιστώθηκε ότι για την επίτευξη της ίδιας δράσης σε τρόφιμα, απαιτείται αρκετά μεγαλύτερη συγκέντρωση. Ο λόγος που απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα Α.Ε. για να εκδηλωθεί η ίδια αντιμικροβιακή δραστηριότητα σε τρόφιμα σε σχέση με τις ‘*in vitro*’ μετρήσεις δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένος. Ωστόσο επικρατεί η άποψη ότι η διαφοροποίηση αυτή οφείλεται στο ότι τα τρόφιμα έχουν μεγαλύτερη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών από ότι τα εργαστηριακά τροφικά μοντέλα με αποτέλεσμα τα βακτήρια να μπορούν να επιδιορθώνουν γρηγορότερα τις κυτταρικές τους βλάβες. Γενικά, η ευαισθησία των μικροβίων στην επίδραση των Α.Ε. φαίνεται να αυξάνεται με τη μείωση του pH στο τρόφιμο, την μείωση της θερμοκρασίας συντήρησης και την ελάττωση του διαθέσιμου οξυγόνου στη συσκευασία. Σε

συνθήκες χαμηλού pH, η υδροφοβικότητα του αιθέριου ελαίου αυξάνει, διευκολύνοντας έτσι τη διάλυσή τους στα λιπίδια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των βακτηρίων (Juven et al 1994, Burt 2004, Holley and Patel 2005).

Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα υψηλά επίπεδα λίπους και πρωτεϊνών στο τρόφιμο προστατεύουν τα βακτήρια από την επίδραση των Α.Ε.. Αν τα Α.Ε. διαλυθούν στη λιπαρή φάση του τροφίμου τότε μειώνεται η ικανότητά τους να δράσουν ενάντια στα βακτήρια της υδατικής φάσης. Μια άλλη άποψη υποστηρίζει ότι η χαμηλότερη περιεκτικότητα υγρασίας, που επικρατεί στα τρόφιμα σε σχέση με τα μοντέλα τροφίμων των μελετών 'in vitro', παρεμποδίζει την αντιβακτηριακή δράση των Α.Ε. επάνω στα κύτταρα των μικροοργανισμών (Burt 2004).

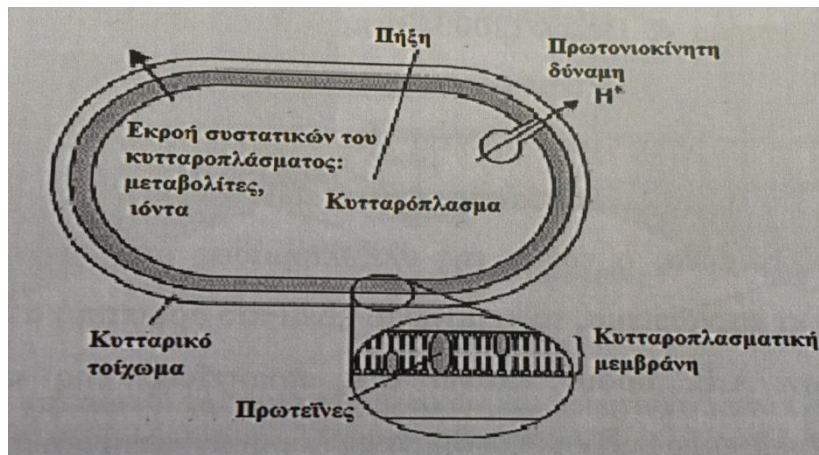
Τα αιθέρια έλαια έχουν αποδειχθεί πολύ αποτελεσματικά στη συντήρηση και ασφάλεια προϊόντων πουλερικών και κόκκινου κρέατος, ιδιαίτερα μετά τον συνδυασμό τους με άλλες μεθόδους επεξεργασίας τροφίμων ή άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες (τεχνολογία εμποδίων). Στον **πίνακα 9** παρουσιάζεται η αντιβακτηριακή δραστηριότητα των αιθέριων ελαίων σε διάφορα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.

Πίνακας 9. Η αντιβακτηριακή δράση των αιθέριων ελαίων σε διάφορα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.

Α.Ε./συστατικό (αναφορά)	Συγκέντρωση	Τρόφιμο	Μικροοργανισμός - Αποτέλεσμα	
Θυμαρέλαιο/Ριγανέλαιο (Chouliara and Kontominas 2006, Chouliara et al 2007 α)	0,5%/0,1-1,0% v/w	Φιλέτο κοτόπουλο (MAP, αερόβια)	Μικροχλωρίδα αλλοίωσης	Μείωση 1-5 log CFU/g
Θυμαρέλαιο (Bagamboula et al 2003)	1% w/v	Λουκάνικα	<i>Shigella</i> spp.	Βακτηριοστατική έως μικρή επίδραση
Θυμαρέλαιο (Hao et al 1998)	2%	Ψητό βοδινό	<i>A. hydrophila</i> <i>L. monocytogenes</i>	Μικρή επίδραση
Θυμαρέλαιο (Aureli et al 1992)	0,05 ml/25 g	Χοιρινό φιλέτο	<i>L. monocytogenes</i>	Μείωση <1.5 log CFU/g
Θυμαρέλαιο/Καρβακρόλη (Mastromatteo et al 2009)	0-300 ppm/ 0-300 ppm	Μπιφτέκια πουλερικών (MAP, αερόβια)	Μικροχλωρίδα αλλοίωσης	Μείωση 1-1.5 log CFU/g
Ριγανέλαιο (Ting and Deibel 1992)	1%	Βοδινό	<i>L. monocytogenes</i>	Μικρή επίδραση
Ριγανέλαιο (Skandamis et al 2002)	0,8% v/w	Βοδινό φιλέτο	<i>S. typhimurium</i>	Βακτηριοκτόνος δράση
Ριγανέλαιο (Ward et al 1998)	20 mg/ml	Ψητό χοιρινό	<i>E. coli</i> <i>S. typhimurium</i> <i>L. monocytogenes</i>	Βακτηριοκτόνος δράση

1.6.2.3 Μηχανισμός αντιβακτηριακής δράσης των Α.Ε.

Δεδομένου ότι τα Α.Ε. περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό διαφορετικών μεταξύ τους χημικών ενώσεων, είναι λογικό ότι η αντιβακτηριακή τους δραστηριότητα δεν αποδίδεται σε έναν συγκεκριμένο μηχανισμό αλλά υπάρχουν διάφοροι στόχοι μέσα στο κύτταρο (Holley and Patel 2005). Τα Α.Ε. φαίνεται να επιδρούν στο βακτηριακό κύτταρο από διάφορες πλευρές, όπως φαίνεται στην **εικόνα 4**. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν αποτελούν όλα τα τμήματα του βακτηριακού κυττάρου πρωταρχικό στόχο των Α.Ε., αλλά προσβάλλονται ορισμένα μέρη ως επακόλουθο της προσβολής ενός άλλου τμήματος που είχε τεθεί ως αρχικός στόχος.



Εικόνα 4. Περιοχές του βακτηριακού κυττάρου πάνω στις οποίες τα αιθέρια έλαια ασκούν την βακτηριακή τους δράση. Τα στάδια του μηχανισμού δράσης περιλαμβάνουν: αποδόμηση κυτταρικού τοιχώματος, ρήξη της κυτταροπλασματικής μεμβράνης/εκροή κυτταρικών συστατικών, αδρανοποίηση ενζυμικών συστημάτων της μεμβράνης, πήξη του κυτταροπλάσματος, εξάντληση της κινητήριας δύναμης των πρωτονίων (Juven et al 1994, Helander et al 1998, Ultee and Smid 2001, Lambert et al 2001, Ultee et al 2002).

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των Α.Ε. και των συστατικών τους είναι η υδροφοβικότητά τους, ως επακόλουθο της ύπαρξης οργανικού δακτυλίου στο μόριό τους (αρωματικού ή μη), η οποία τα καθιστά ικανά να διαλύονται μέσα στη λιπαρή φάση (λιπίδια, λιποπρωτεΐνες) της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των βακτηρίων διαταράσσοντας την δομή της και καθιστώντας την πιο διαπερατή (Sikkema et al 1994). Από τη στιγμή που γίνεται αυτό, διευκολύνεται η εκροή μεταλλικών ιόντων και άλλων ενδοκυτταρικών θρεπτικών συστατικών (ATP, νουκλεϊνικό και γλουταμινικό οξύ, αμινοξέα). Παρόλο που ένας συγκεκριμένος αριθμός συστατικών μπορούν να διαφύγουν από το βακτηριακό κύτταρο χωρίς απώλεια της βιωσιμότητάς του, η εκτεταμένη εκροή των κυτταρικών συστατικών ή η έξοδος κρίσιμων μορίων και ιόντων, μπορεί να οδηγήσει το κύτταρο στο θάνατο (Lambert et al 2001).

Οι χημικές δομές των επιμέρους συστατικών των Α.Ε. επηρεάζουν τον ακριβή μηχανισμό δράσης τους και την αντιβακτηριακή τους δράση. Η σημασία της ύπαρξης υδροξυλομάδων στον φαινολικό δακτύλιο των Α.Ε. έχει τονιστεί με ιδιαίτερο τρόπο. Η σχετική θέση των υδροξυλομάδων επάνω στον φαινολικό δακτύλιο δεν φαίνεται να επηρεάζει καθοριστικά τον βαθμό της αντιβακτηριακής δράσης. Η σπουδαιότητα της ύπαρξης του φαινολικού δακτυλίου επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι η μενθόλη δεν

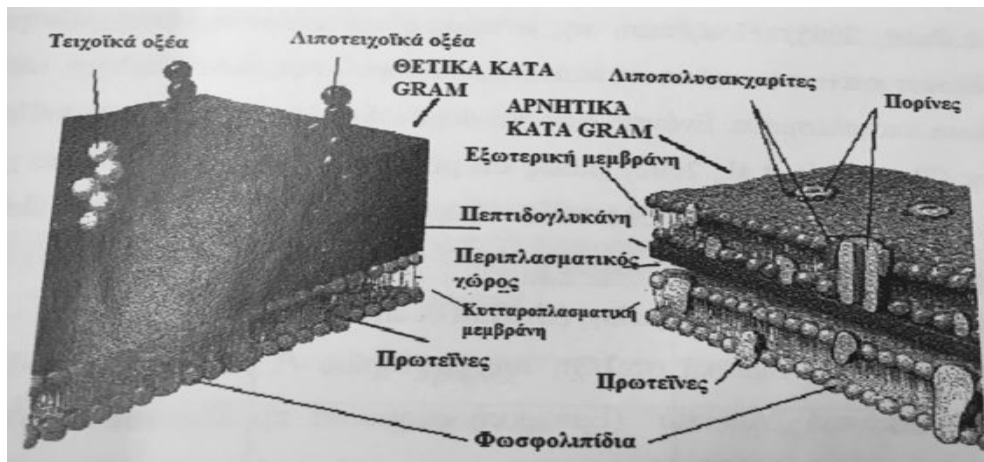
επέδειξε καμία δραστικότητα σε σχέση με την καρβακρόλη (μη αρωματικός χαρακτήρας). Σύμφωνα με τους Dorman and Deans (2000) η προσθήκη οξικού οξέος στην γερανιόλη φάνηκε να αυξάνει τη δραστικότητά της, εφόσον ο γερανυλικός εστέρας που σχηματίστηκε έγινε πιο δραστικός ενάντια στα Gram-θετικά και στα Gram-αρνητικά βακτήρια. Ωστόσο και τα μη φαινολικά συστατικά των Α.Ε. φαίνεται να έχουν ιδιαίτερη σπουδαιότητα. Συγκεκριμένα, ο τύπος της αλκυλομάδας επηρεάζει την δραστικότητα (αλκενυλ>αλκυλ). Για παράδειγμα, το λεμονένιο είναι πιο δραστικό από το p-κυμένιο.

Τα συστατικά των Α.Ε. δρουν επάνω στις πρωτεΐνες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Οι κυκλικοί υδρογονάνθρακες δρουν στα ένζυμα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (ΑΤΡ-άσες) με δύο πιθανούς μηχανισμούς: 1. Τα μόρια των λιπόφιλων υδρογονανθράκων συσσωρεύονται στη λιπαρή φάση και παρεμποδίζουν την αλληλεπίδραση μεταξύ των λιπιδίων και των πρωτεϊνών, 2. Σύμφωνα με τον εναλλακτικό μηχανισμό, είναι πιθανή η απευθείας αντίδραση των λιπόφιλων ενώσεων με τα υδρόφοβα τμήματα των πρωτεϊνών (Juven et al 1994).

1.6.2.4 Ευαισθησία των θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων έναντι της δράσης των Α.Ε.

Οι περισσότερες από τις έρευνες που έγιναν επάνω στη δράση των Α.Ε. σε μικροοργανισμούς αλλοίωσης των τροφίμων και σε παθογόνα βακτήρια, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα Α.Ε. είναι ελαφρώς πιο δραστικά ενάντια στα θετικά κατά Gram από ότι στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια (Deans and Ritchie 1987, Stecchini et al 1993, Hao et al 1998, Wan et al 1998, Rota et al 2004).

Το γεγονός αυτό οφείλεται στη διαφοροποίηση της δομής τους, η οποία αφορά κυρίως στη σύνθεση του κυτταρικού τους τοιχώματος. Το κυτταρικό τοίχωμα των θετικών κατά Gram βακτηρίων αποτελείται από παχιά ομοειδή στρώση πεπτιδογλυκάνης και τειχοϊκά οξέα ενώ το αντίστοιχο των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων αποτελείται από 3 διαφορετικά μέρη: εξωτερική μεμβράνη, 1-2 λεπτά στρώματα πεπτιδογλυκάνης και την κυτταροπλασματική μεμβράνη που αποτελείται από λιπίδια, φωσφολιπίδια και δομικές πρωτεΐνες. Η επιφάνεια της εξωτερικής μεμβράνης αποτελείται κυρίως από λιποπολυσακχαρίτες (LPS) και πρωτεΐνες (εικόνα 5).



Εικόνα 5. Το κυτταρικό τοίχωμα των θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Methods/cellwalls.html)

Η εξωτερική μεμβράνη του κυτταρικού τοιχώματος των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων εμφανίζει υδρόφιλο χαρακτήρα, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η εισχώρηση υδρόφοβων ενώσεων (π.χ. αιθέρια έλαια) στο εσωτερικό του κυττάρου (Vaara 1992, Rota et al 2004). Ωστόσο, η επιφάνεια της εξωτερικής μεμβράνης του κυτταρικού τοιχώματος των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων φέρει επίσης πρωτεΐνες που διατάσσονται σε τριάδες και σχηματίζουν πόρους (πορίνες, **Εικόνα 5**). Οι πόροι αυτοί λειτουργούν ως κανάλια μεταφοράς (transport channels), τα οποία είναι αρκετά μεγάλα, μέσω των οποίων μπορεί να διέλθουν διάφορα μόρια όπως οι υποκατεστημένες φαινολικές ενώσεις των αιθέριων ελαίων. Οι εισερχόμενες μέσω των πορινών φαινολικές ενώσεις διαπερνούν στη συνέχεια τον περιπλασματικό χώρο και μπορούν να καταλήξουν τελικά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη του κυττάρου (Holley and Patel 2005, Lambert et al 2001)

Μαζί με τις δομικές διαφορές του κυτταρικού τοιχώματος των αρνητικών και θετικών κατά Gram βακτηρίων που συμβάλλουν σημαντικά στην εκδήλωση της αντίστασης ή ευαισθησίας απέναντι στη δράση των Α.Ε., πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και οι διαφορές του μεταβολισμού τους. Ανάμεσα στα θετικά κατά Gram βακτήρια, συγκαταλέγονται και τα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία είναι τα περισσότερο ανθεκτικά. Η ανθεκτικότητά τους οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην ικανότητά τους να παράγουν ATP μέσω φωσφορυλίωσης. Επιπλέον, η μεγάλη ανθεκτικότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων οφείλεται στην ικανότητά τους να επιβιώνουν σε συνθήκες υψηλής ωσμωτικής πίεσης καθώς και στην ικανότητά τους να ανταποκρίνονται άμεσα στην εκροή ιόντων K^+ που προέρχονται από τη δράση

αντιμικροβιακών παραγόντων (Holley and Patel 2005). Η διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης διαφόρων μιγμάτων αιθέριων ελαίων και συστατικών τους σε διάφορα μικροβιακά στελέχη, οδήγησε σε αξιοσημείωτα αποτελέσματα. Ενώπιον στις ψευδομονάδες δοκιμάστηκαν τα αιθέρια έλαια της ρίγανης (Skandamis et al 2002) καθώς και μίγμα λιναλοόλης (linalool) και χαβικόλης (chavicol), που είναι φαινολικά συστατικά των αιθέριων ελαίων (Smith-Palmer et al 1998). Στα μικροβιακά στελέχη του *P. aeruginosa* εφαρμόστηκε μίγμα τερπενοϊδών, καρβακρόλης και θυμόλης (Griffim et al 1999) και πιπέρι (Caeraga et al 2003). Τέλος ενώπιον στα βακτηριακά στελέχη του βακτηρίου *P. fluorescens* δοκιμάστηκε η δράση του 'Annatto' (εμπορική ονομασία προέλευσης αιθέριου ελαίου) (Galindo-Cuspinera et al 2003). Η σύγκριση των αποτελεσμάτων των παραπάνω ερευνών οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι ψευδομονάδες ήταν τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια που έδειξαν υψηλή έως μέγιστη ανθεκτικότητα στην δράση των αντιμικροβιακών παραγόντων.

1.6.2.5 Μελέτες της αντιμικροβιακής δράσης των αιθέριων ελαίων σε κρέας και προϊόντα κρέατος

Με βάση δημοσιευμένες εργασίες αναφορικά με τη χρήση των αιθέριων ελαίων στα τρόφιμα, δημιουργήθηκε μια σειρά κατάταξης αυτών με βάση την αποτελεσματικότητά τους. Η σειρά έχει ως εξής από το πιο ισχυρό στο λιγότερο ισχυρό έλαιο: ρίγανης > θυμεριού > μέντας > δενδρολίβανου > κουρκουμά > κόλιανδρου. Μια ανάλογη σειρά με τα συστατικά των αιθέριων ελαίων είναι: ευγενόλη > καρβακρόλη > κινναμωνικό οξύ > κιμαναλδεύδη > κιτράλη > γερανιόλη (Burt 2004).

Τα έλαια ευγενόλης, κόλιανδρου, γαρύφαλλου, ρίγανης και θυμαριού έχουν βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικά σε συγκεντρώσεις 5-20 μl/g ενώπιον στη *L. monocytogenes*, *A. hydrophila* καθώς και στην αυτόχθονη χλωρίδα αλλοίωσης των προϊόντων κρέατος (Aureli et al 1992, Stecchini et al 1993, Hao et al 1998, Tsigarida et al 2000, Skandamis and Nychas 2001), ενώ τα έλαια κουρκουμά κόλιανδρου και μέντας βρέθηκε να μην έχουν την ίδια αποτελεσματικότητα αλλά πολύ μικρότερη (Shelef et al 1984, Tassou et al 1995, Gill et al 2002, Lemay et al 2002). Το υψηλό ποσοστό λίπους φαίνεται να ελαττώνει τη δράση των αιθέριων ελαίων στα προϊόντα κρέατος. Για παράδειγμα, τα έλαια μέντας και κόλιανδρου δεν είναι αποτελεσματικά

σε προϊόντα με υψηλό ποσοστό λίπους όπως το πατέ (30 – 40% λίπος) (Tassou et al 1995, Gill et al 2002).

Η δραστηριότητα του ελαίου ρίγανης έναντι του βακτηρίου *Clostridium botulinum*, έχει μελετηθεί σε παστεριωμένο χοιρινό κιμά, συσκευασμένο σε κενό. Συγκεντρώσεις μέχρι 0,4 μl/g του συγκεκριμένου ελαίου δεν είχαν ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη των σπορίων. Με την προσθήκη όμως νιτρικού νατρίου, που προκαλεί καθυστέρηση της ανάπτυξης αυτών, η ίδια συγκέντρωση του ελαίου της ρίγανης, είχε θετικά αποτελέσματα στην επιβράδυνση της ανάπτυξης των σπορίων. Η καθυστέρηση αυτή εξαρτάται και από τον αριθμό των σπορίων του εμβολίου. Συγκεκριμένα σε 300 σπόρια / g, η ελάττωση ήταν κατά πολύ μεγαλύτερη από ότι σε 3000 σπόρια / g (Ismail and Pierson 1990).

1.6.2.6 Το δενδρολίβανο-*Rosmarinus officinalis*



Εικόνα 6. Φυτό Δενδρολίβανου

Το δενδρολίβανο, γνωστό και ως "αρισμαρί" είναι αρωματικός, αιθαλής θάμνος ο οποίος ανήκει στο γένος Ροσμαρίνος και στην οικογένεια των Χειλανθών (**εικόνα 6**) . Το γένος *Rosmarinus* περιλαμβάνει, εκτός του γνωστού (*R. officinalis*) που αναφέρεται και ως "λιβανωτός" και ως "δενδρολίβανον το φαρμακευτικόν", και μερικά άλλα είδη, μεταξύ των οποίων και τα ακόλουθα: Ροσμαρίνος ο εριοκάλυξ (*R. eriocalyx*) και Ροσμαρίνος ο γναφαλώδης (*R. tomentosus*). Η λατινική ονομασία του φυτού *Rosmarinus* σημαίνει δροσιά της θάλασσας και είναι σύνθετη από τις λέξεις ros (δροσιά) και marinus (θαλάσσιος), γιατί πιστευόταν ότι το φυτό μπορεί να αναπτυχθεί χωρίς πότισμα, επιζώντας μόνο από την υγρασία που έρχεται από τη θάλασσα.

Γνωστό φυτό στην αρχαιότητα όταν οι Αρχαίοι Έλληνες το χρησιμοποιούσαν σε διάφορες θρησκευτικές τελετές και γιορτές, σε στολισμούς κτηρίων, ναών και ως καύσιμο για θυμίαμα. Η καταγωγή του είναι από τις περιοχές της Μεσογείου αλλά σήμερα εκτός από τις περιοχές αυτές, καλλιεργείται ως καλλωπιστικό για τα ωραία κυανά άνθη του σε όλη σχεδόν την Ευρώπη και τις εύκρατες περιοχές της Αμερικής. Περιέχει τανίνη και αιθέριο έλαιο, το οποίο εξάγεται με απόσταξη κυρίως από τις κορυφές των ανθοφόρων βλαστών. Τα άνθη του προτιμώνται από τις μέλισσες και αποτελούν πηγή για την παραγωγή μελιού.

1.6.3 ΧΙΤΙΝΗ ΚΑΙ ΧΙΤΟΖΑΝΗ

1.6.3.1 Γενικά χαρακτηριστικά-Προέλευση

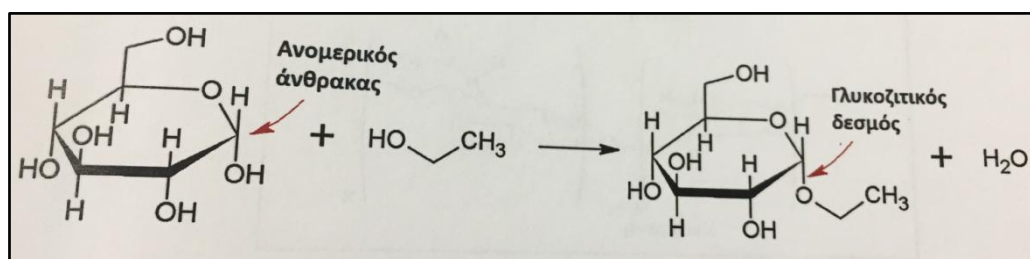
Η χιτίνη και το παράγωγό της, η χιτοζάνη, είναι δύο ‘φυσικά’ πολυμερή που απαντώνται σε μεγάλο βαθμό στη φύση. Η χιτίνη είναι το δεύτερο σε αφθονία βιοπολυμερές στη φύση, με πρώτο την κυτταρίνη. Αποτελεί το κυριότερο συστατικό του κελύφους θαλάσσιων οστρακόδερμων (σταθεροποιείται μέσω διαμοριακών δεσμών με πρωτεΐνες και υδροξυφαινόλες), του κυτταρικού τοιχώματος των μυκήτων (ισχυρά προσδεσμεμένη με γλυκάνες), του εξωσκελετού των εντόμων (συνυπάρχει με καροτενοειδή), των πρωτοζώων, των αλγών (πίνακας 10).

Πίνακας 10. Οι κυριότερες πηγές χιτίνης/χιτοζάνης (Mathur 1990)

Θαλάσσια είδη	Έντομα	Μικροοργανισμοί
Διαιρούμενοι σκώληκες και βδέλλες (<i>Annelida</i>)	Σκορπιοί	Αλγη
Μαλάκια (<i>Mollusca</i>)	Αράχνες	Ζύμες
Μέδουσες (<i>Coelenterate</i>)	Βραχειόποδα	Μύκητες (<i>Chytridiaceae</i> , <i>Ascomydes</i> , <i>Blastocladiaceae</i>)
Οστρακοειδή: Αστακοί, Καβούρια, Γαρίδες, Καραβίδες	Σκαθάρια	Σπόρια μυκήτων

Η χιτίνη, πολυ-(β-(1-4)-N-ακετυλ-D-γλυκοζαμίνη), είναι γραμμικό πολυμερές υψηλού μοριακού βάρους, αποτελούμενο από ολιγομερή N-ακετυλογλυκοζαμίνης, τα οποία είναι συνδεδεμένα με β-1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς (1000-3000 units). Σημειώνεται ότι ως γλυκοζιτικός δεσμός χαρακτηρίζεται ο δεσμός που δημιουργείται μεταξύ του ανομερικού άνθρακα μιας εσωτερικής (ενδομοριακής) ημιακετάλης

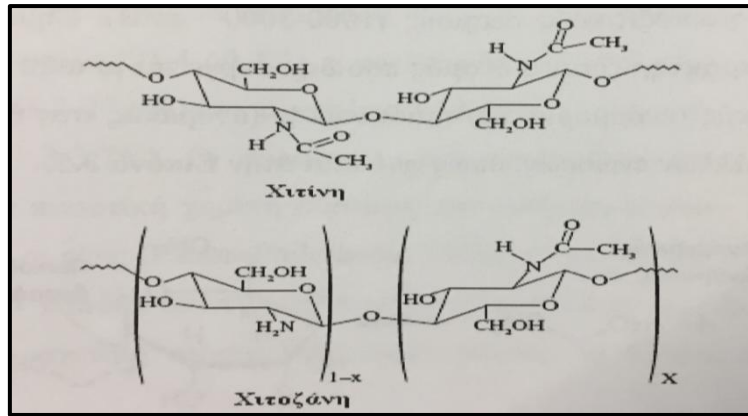
(άνθρακας στη θέση 1) και της υδροξυλομάδας (-OH) άλλων ενώσεων, όπως φαίνεται στην **εικόνα 7**.



Εικόνα 7. Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού (Βουδούρης και Κοντομηνάς 1997).

Η χιτίνη εμφανίζεται με τη μορφή διατεταγμένων κρυσταλλικών μικροϊνιδίων που της προσδίδουν ιδιαίτερα σταθερή δομή. Χαρακτηρίζεται από εξαιρετικές ιδιότητες, καθώς είναι σκληρή και αδιάλυτη, αλλά ταυτόχρονα εύκαμπτη και παρουσιάζει άριστη βιοσυμβατότητα. Ωστόσο, παρά την αφθονία στη φύση, η έλλειψη ικανοποιητικών τεχνικών καθαρισμού μετά την απομόνωσή της από τους φυσικούς οργανισμούς, έτσι ώστε να προκύψει ένα άχρωμο προϊόν που είναι απαλλαγμένο από κάθε είδους επιμολύνσεις και κατά συνέπεια κατάλληλο να χρησιμοποιηθεί ως βιοϋλικό, ήταν ο κύριος ανασταλτικός παράγοντας για τη χρήση της μέχρι σήμερα. Σήμερα έχουν ήδη υιοθετηθεί χημικές τεχνικές για την εξαγωγή της από τα κελύφη των αρθρόποδων και οστρακόδερμων, όπως επίσης και για τον καθαρισμό και τον αποχρωματισμό της.

Η χιτοζάνη είναι το παράγωγο της χιτίνης μετά τη (μερική) αποακετυλίωσή της σε στερεή κατάσταση, κάτω από αλκαλικές συνθήκες (πυκνό διάλυμα NaOH) ή με ενζυματική υδρόλυση. Η χιτοζάνη είναι πολυσακχαρίτης, αποτελούμενος από ολιγομερή των γλυκοζαμινών (αμινοσακχάρων): 2-δέοξυ-2-άμινο-D-γλυκοπυρανόζης και σε μικρότερο βαθμό, 2-δέοξυ-2-ακετάμιδο-γλυκοπυρανόζης (Fernandes et al 2008, Fernandes-Saiz et al 2010). Τα (όμοια) ολιγομερή συνδέονται μεταξύ τους με β-1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς (βιοπολυμερές). Όπως φαίνεται στην **εικόνα 8**, η χιτοζάνη φέρει στη στερεοχημική της δομή τρεις διαφορετικούς τύπους ενεργών ομάδων: μια αμινομάδα -NH₂ στη θέση C-2 και τρεις υδροξυλομάδες στις θέσεις C-3 και C-6 αντίστοιχα.



Εικόνα 8. Στερεοχημικές δομές χιτίνης και χιτοζάνης (Goy et al 2009).

1.6.3.2 Αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης

Η χιτοζάνη παρουσιάζει δραστικότητα έναντι διαφόρων βακτηρίων: *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacter aeromonas*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus sakei*, *Listeria monocytogenes*, *Photobacterium phosphoreum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella enteric*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholera* και σε ζύμες, μύκητες όπως ο *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida lambica*, *Rhodotorula glutensi*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* (Shahidi et al 1999, Helander et al 2001, Devlieghere et al 2004, Inatsu et al 2005, Marques et al 2008, Fernandes et al 2008, Chung and Chen 2008).

Οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MIC) των βακτηρίων που καταγράφηκαν για χιτοζάνη διαφορετικού βαθμού αποακετυλίωσης/ μοριακού βάρους κατά τη διάρκεια δοκιμών 'in vitro' παρουσιάζονται στον **πίνακα 11**.

Πίνακας 11. Ελάχιστες Ανασταλτικές Συγκεντρώσεις (MIC) της χιτοζάνης *in vitro* έναντι ορισμένων βακτηρίων.

Βακτήριο	Είδος/Χαρακτηριστικά Χιτοζάνης	MIC (αναφορά)
<i>Staphylococcus aureus</i>	MB=628 KDa 80-85% αποακετυλιωμένη	0,15% w/v (1)
	MB=591 KDa 80-85% αποακετυλιωμένη	0,20% w/v (1)
	MB=107 KDa 80-85% αποακετυλιωμένη	0,20% w/v (1)
	MB=άγνωστο 69% αποακετυλιωμένη	100 ppm (2)
	MB=35 KDa	0,005% w/v (3)
<i>Listeria monocytogenes</i>	MB= άγνωστο 69% αποακετυλιωμένη	100 ppm (2)
	MB=43 KDa 94% αποακετυλιωμένη	0,006-0.01% w/v (5)
<i>Salmonella typhimurium</i>	MB= άγνωστο 69% αποακετυλιωμένη	>200 ppm (4)
<i>Salmonella enteric</i>	MB=μεσαίο 75-85% αποακετυλιωμένη	0,03% v/v (6)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	MB=43 KDa 94% αποακετυλιωμένη	0,006% w/v (5)
<i>Enterobacter aeromonas</i>	MB=43 KDa 94% αποακετυλιωμένη	0,006% w/v (5)
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	MB=43 KDa 94% αποακετυλιωμένη	0,008% w/v (5)
<i>Bacillus cereus</i>	MB=43 KDa 94% αποακετυλιωμένη	0,006% w/v (5)
	MB=άγνωστο 69% αποακετυλιωμένη	1000 ppm (2)
	MB=1671	0,05% w/v (7)
	MB=470	0,03% w/v (7)
	MB=224	0,05% w/v (7)
	MB=59	>0,1% w/v (7)
<i>Bacillus spp.</i>	MB=8,5-9,5	0,01% w/v (8)
	MB=59-1671	0,005% w/v (7)

(1) Fernandes et al 2008, (2) Chen et al 1998, (3) Chang et al 1989, (4) Simpson et al 1997, (5) Devlieghere et al 2004, (6) Marques et al 2008, (7) No et al 2002, (8) Vishu Kumar et al 2007.

1.6.3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την αντιβακτηριακή δράση της Χιτοζάνης

Όπως φαίνεται στον **πίνακα 11**, η MIC της χιτοζάνης ενάντια στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών δεν είναι πάντοτε η ίδια, αλλά διαφοροποιείται ανάλογα με το Μοριακό Βάρος (MB) και το βαθμό ακετυλίωσης (D.D.). Εκτός όμως από το MB και το D.D., υπάρχουν και άλλοι δύο παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά την αντιβακτηριακή δραστηριότητα της χιτοζάνης, όπως η πηγή προέλευσής της (θαλάσσια οστρακοειδή, μύκητες, κ.τ.λ.), το pH του υποστρώματος, το είδος του οργανικού διαλύτη που χρησιμοποιείται για την παρασκευή των διαλυμάτων χιτοζάνης, καθώς και το είδος/φάση ανάπτυξης του βακτηρίου που εξετάζεται κάθε φορά (Chabra et al 2006). Τέλος, στην περίπτωση που η αντιβακτηριακή δραστηριότητα της χιτοζάνης αξιολογείται σε αληθινά τρόφιμα (*in vivo*) και όχι σε μοντέλα αυτών (*in vitro*), η χημική σύσταση του προϊόντος και η θερμοκρασία συντήρησης, μπορεί να περιορίσει την αποτελεσματικότητά της. Ορισμένοι από τους παραπάνω παράγοντες αναλύονται παρακάτω ως εξής:

α) Μοριακό βάρος (MB) της Χιτοζάνης

Το MB της χιτοζάνης έχει αναφερθεί ότι επηρεάζει σημαντικά την δραστηριότητά της. Ωστόσο, έχει αποδειχτεί ότι ανάλογα με τον μικροοργανισμό-στόχο η χιτοζάνη μικρού (LMW), μεγάλου (HMW) ή μεσαίου (MMW) MB παρουσιάζει διαφορετική δραστηριότητα κάθε φορά. Σε γενικές γραμμές, τα αποτελέσματα των ερευνών σχετικά με την επίδραση του MB στην αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης, ποικίλουν και μπορεί να είναι αντιφατικά. Σε ορισμένες από αυτές τις έρευνες αναφέρονται τα εξής συμπεράσματα:

- Σύμφωνα με τους Dutta et al (2009), χιτοζάνη MB χαμηλότερου από 10 kDa, φάνηκε να παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση σε σχέση με την χιτοζάνη κανονικού MB (native).
- Οι Tsai et al (2006) αναφέρουν ότι η χιτοζάνη LMW παρουσίασε (ελαφρώς) μικρότερη δραστηριότητα από την αντίστοιχη HMW σε pH=6,0 αλλά σε pH=7,0 η χιτοζάνη LMW υπερίσχυσε σημαντικά της HMW.
- Οι Fernandes et al (2009) παρατήρησαν ότι κατά την εφαρμογή χιτοζάνης LMW (100kDa) ενάντια στην ανάπτυξη βλαστικών (vegetative) μορφών του *B. cereus*, η μείωση των κυττάρων κυμάνθηκε από 1 έως 2,5 log CFU/g, ενώ η χρήση χιτοζάνης σε μεγαλύτερο MB (628 kDa) οδήγησε σε καλύτερα αποτελέσματα

(σταθερή μείωση κατά 3,0 log CFU/g). Εντούτοις, η χρήση ολιγομερούς χιτοζάνης οδήγησε σε μείωση κατά 1,0 log CFU/g των σπόρων των βακτηρίων, ενώ οι υπόλοιπες δεν είχαν καμία επίδραση.

- Οι Devlieghere et al (2004) αναφέρουν ότι η χιτοζάνη LMW (43 kDa), ήταν περισσότερο δραστική στην αναχαίτιση της ανάπτυξης αρνητικών κατά Gram βακτηρίων ($MIC \leq 0,006\% \text{ w/v}$) σε σχέση με ορισμένα Gram-θετικά οξυγαλακτικά βακτήρια ($MIC > 0,05\% \text{ w/v}$).
- Οι Lin and Chao (2001) αναφέρουν ότι η χιτοζάνη LMW (150 kDa), ήταν πιο δραστική στην μείωση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας λουκάνικων, σε σχέση με την χιτοζάνη HMW (1250 kDa) ή MMW (600 kDa), κατά την συντήρηση υπό ψύξη.
- Οι Liu et al. (2001) αναφέρουν ότι η αύξηση του MB της χιτοζάνης (>91,6 kDa) οδήγησε σε μείωση της αντιβακτηριακής της δράσης.
- Σύμφωνα με τους Fernandes et al (2008) χιτοζάνη MB 107, 591 ή 628 kDa επέδειξε την ίδια δραστικότητα ενάντια στην ανάπτυξη του *E. coli*, η οποία ωστόσο ήταν ασθενέστερη της αντίστοιχης των ολιγοσακχαριδίων αυτής ($MB \leq 5 \text{ kDa}$), ενώ στη περίπτωση του *S. aureus* παρατηρήθηκε ότι χιτοζάνη LMW, HMW ή MMW, ξεπέρασε κατά πολύ σε δραστικότητα τα ολιγοσακχαρίδια. Οι ερευνητές απέδωσαν τη διαφορά δραστικότητας στο ότι τα ολιγοσακχαρίδια πιθανόν να διεισδύουν ευκολότερα στο κυτταρικό τοίχωμα των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων σε σχέση με την χιτοζάνη LMW, HMW ή MMW. Ωστόσο, η χιτοζάνη LMW, HMW και MMW θεωρήθηκε ότι είναι περισσότερο αποτελεσματική ενάντια στα Gram θετικά, λόγω καλύτερης ικανότητας απορρόφησης συστατικών που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξή τους (Fernandes et al 2008).

β) Επίδραση του pH

Σε γενικές γραμμές, η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης αυξάνεται, όσο το pH του υποστρώματος μειώνεται, λόγω του γεγονότος ότι, όσο αυξάνει η οξύτητα του υποστρώματος, τόσο αυξάνει ο αριθμός των θετικά φορτισμένων (protonated) ελεύθερων αμινομάδων της χιτοζάνης ($-\text{NH}_3^+$). Οι ‘ πρωτονιωμένες’ αμινομάδες της χιτοζάνης αλληλεπιδρούν με την ηλεκτραρνητική επιφάνεια των βακτηρίων (λιποπολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, τειχοϊκά οξέα -πολυμερή της

ρεβιτόλης και γλυκερόλης-, λιπίδια), με αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής τους μεμβράνης και την απώλεια ενδοκυτταρικών συστατικών που οδηγεί τελικά στο θάνατό τους (Devlieghere et al 2004).

Σύμφωνα με τους Helander et al (2001), η αντιβακτηριακή δράση ενάντια στα Gram αρνητικά βακτήρια είναι πιο έντονη σε $pH < 6,3$, λόγω μεγαλύτερου αριθμού θετικά φορτισμένων αμινομάδων στο μοριακό πλέγμα της χιτοζάνης. Ωστόσο, σύμφωνα με τους Tsai et al (2006) η χιτοζάνη χαμηλού MB μπορεί να διατηρήσει σε μεγάλο βαθμό την δραστηριότητά της ακόμα και σε ουδέτερο $pH = 7,0$, σε αντίθεση με την συμβατική (native) χιτοζάνη. Συγκεκριμένα οι Tsai et al (2006) παρατήρησαν ότι η χρήση χιτοζάνης LMW μείωσε τον βακτηριακό πληθυσμό μίγματος στελεχών του *B. cereus* κατά 3-4 log CFU/g σε $pH = 6$ ή $pH = 7$. Η αντίστοιχη μικροβιακή δράση της συμβατικής (native) χιτοζάνης ενώ ήταν σημαντική σε $pH = 6$ (μείωση $> 3,0$ log CFU/g), σε ουδέτερο pH έπαψε να είναι πλέον ορατή. Συνεπώς, η χαμηλού MB χιτοζάνη δεν φαίνεται να επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από το pH του υποστρώματος, λόγω της διαφορετικής τιμής pK_a των αμινομάδων της, σε σχέση με την συμβατική χιτοζάνη, τουλάχιστον σε ότι αφορά την αντιμικροβιακή της δράση ενάντια σε Gram-θετικά βακτήρια.

γ) Βαθμός ακετυλίωσης

Σε γενικές γραμμές, η πλειοψηφία των ερευνών αναφέρει ότι η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης ενισχύεται σημαντικά με την αύξηση του βαθμού ακετυλίωσης, λόγω των περισσότερων διαθέσιμων ελεύθερων δραστικών αμινομάδων και της μεγαλύτερης διαλυτότητάς της (Vishu Kumar et al 2007, Aider et al 2010).

δ) Χημική σύσταση προϊόντος (*in vitro* έρευνες)

Η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά όταν εξετάζεται σε αληθινά τρόφιμα αντί μοντέλα αυτών, λόγω αλληλεπίδρασης με τα θρεπτικά τους συστατικά, όπως προαναφέρθηκε και στην περίπτωση των αιθέριων ελαίων. Οι Ausar et al (2002) αναφέρουν ότι η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης έναντι της ανάπτυξης οξυγαλακτικών βακτηρίων ζύμωσης περιορίστηκε όταν η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε γάλα αντί σε μοντέλο αυτού.

Επίσης, οι Devlieghere et al (2004) αναφέρουν ότι η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης μπορεί να περιοριστεί όσο αυξάνει η περιεκτικότητα των τροφίμων σε χλωριούχο νάτριο και άμυλο, αλλά δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από τη λιποπεριεκτικότητα του τροφίμου. Ωστόσο, οι Chung et al (2003) αναφέρουν ότι η αύξηση της περιεκτικότητας σε άλας αυξάνει την αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης, λόγω φαινομένων ιονισμού. Τέλος, οι Devlieghere et al (2004) αναφέρουν ότι η επίδραση του πρωτεϊνικού περιεχομένου στη αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης εξαρτάται από το pH του υποστρώματος. Συγκεκριμένα, αναφέρουν ότι, όσο το pH του υποστρώματος είναι χαμηλότερο από το ισοηλεκτρικό σημείο (IEP) των πρωτεϊνών, η χιτοζάνη διατηρεί τη δραστηριότητά της σε μεγάλο βαθμό, επειδή λόγω του θετικού φορτίου αμφοτέρων, δεν αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (άπωση). Αν οι πρωτεΐνες αποκτήσουν αρνητικό φορτίο ($\text{pH} > \text{pI}$), τότε οι πρωτονιομένες αμινομάδες ($-\text{NH}_3^+$) χάνουν την κατιονική τους υπόσταση και δεν είναι πια διαθέσιμες να αλληλεπιδράσουν με αρνητικά φορτισμένα μόρια της επιφάνειας των βακτηρίων.

ε) Φάση ανάπτυξης και πληθυσμός των μικροοργανισμών-στόχων

Η βακτηριακή φάση ανάπτυξης των μικροοργανισμών-στόχων, επηρεάζει την αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης ενάντια στην ανάπτυξή τους. Συγκεκριμένα, βακτηριακά κύτταρα τα οποία βρίσκονταν στα τελευταία στάδια της εκθετικής φάσης ανάπτυξης, εμφανίστηκαν να είναι πιο ευαίσθητα στην επίδραση της χιτοζάνης σε σχέση με εκείνα που βρίσκονταν στη στατική φάση (Tsai et al 2006). Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο ότι κύτταρα της εκθετικής φάσης έχουν περισσότερα αρνητικά φορτισμένα μόρια στην επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος από τα αντίστοιχα της στατικής φάσης, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση με τα μόρια της χιτοζάνης (Tsai et al 2006).

Επίσης, η αρχική συγκέντρωση του βακτηριακού πληθυσμού των μικροοργανισμών-στόχων επηρεάζει σημαντικά την αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης ενάντια στην ανάπτυξή τους. Σύμφωνα με τους Fernandes et al (2008), η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης ενάντια στο βακτήριο *E. coli*, μειώθηκε σημαντικά όταν η συγκέντρωση του ενοφθαλμίσματος αυξήθηκε από 10^3 σε 10^5 ή 10^7 CFU/ml (τα ολιγοσακχαρίδια της χιτοζάνης δεν φάνηκε να επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό). Επανάληψη της ίδιας διαδικασίας στο βακτήριο *S. aureus*

έδειξε ότι η χιτοζάνη HMW κατάφερε να διατηρήσει την αντιμικροβιακή της δράση σε υψηλή συγκέντρωση ενοφθαλμίσματος, σε σχέση με την αντίστοιχη LMW.

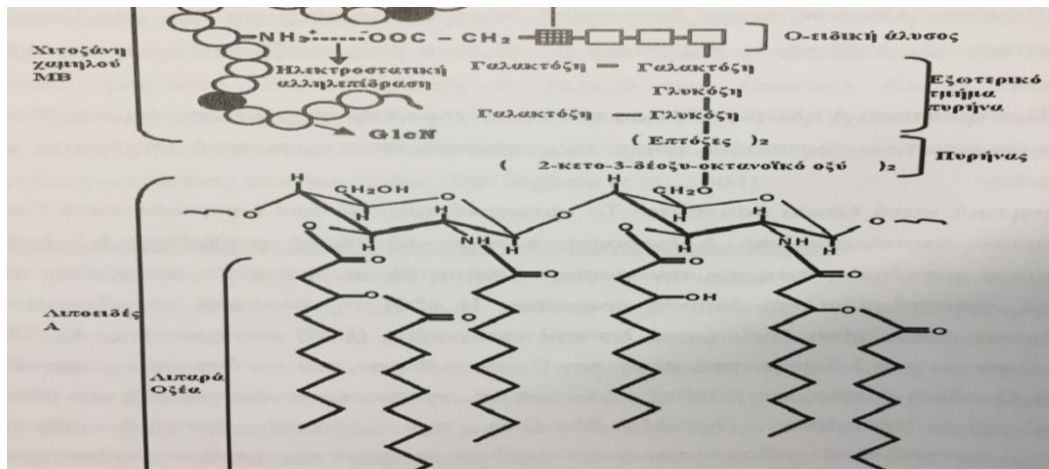
1.6.3.4 Μηχανισμός αντιβακτηριακής δράσης της χιτοζάνης

Ο μηχανισμός της αντιβακτηριακής δράσης της χιτοζάνης, δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένος. Ωστόσο, έχουν διατυπωθεί διάφορες θεωρίες και δεν αποκλείεται ο αντιβακτηριακός μηχανισμός της χιτοζάνης να είναι ένας συνδυασμός των παρακάτω δράσεων:

α) Ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση των ενεργών μορίων της χιτοζάνης (ομάδων- NH_3^+) με αρνητικά φορτισμένα μόρια της επιφάνειας του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων.

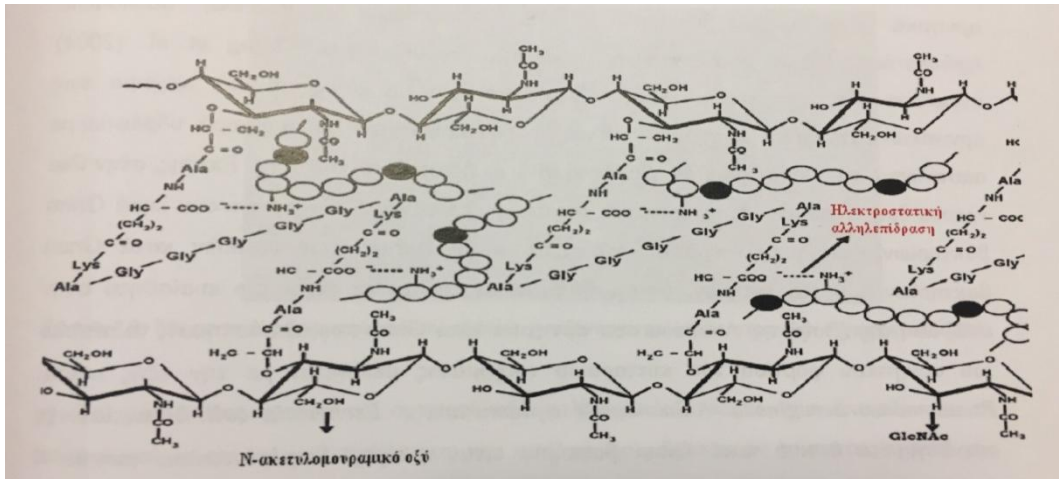
Αρνητικά κατά Gram βακτήρια: Το κυτταρικό τοίχωμα των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων αποτελείται από 3 διαφορετικά μέρη: εξωτερική μεμβράνη, 1-2 λεπτά στρώματα πεπτιδογλυκάνης και την κυτταροπλασματική μεμβράνη που αποτελείται από λιπίδια, φωσφολιπίδια και δομικές πρωτεΐνες. Η εντελώς εξωτερική επιφάνεια της εξωτερικής μεμβράνης αποτελείται κυρίως από λιποπολυσακχαρίτες (LPS) και πρωτεΐνες. Οι LPS αποτελούνται από 3 διαφορετικά μέρη: την Ο-ειδική άλυσσο, τον πυρήνα και το λιποειδές Α. Η Ο-ειδική άλυσσος αποτελείται από γλυκόζη, γαλακτόζη, ουρονικό οξύ και άλλες αλληλουχίες σακχάρων που φέρουν αρνητικό φορτίο. Ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση των συγκεκριμένων αρνητικά φορτισμένων μορίων με τα θετικά φορτισμένα ενεργά μόρια της χιτοζάνης (ομάδες- NH_3^+) οδηγεί σε δέσμευση των δευτέρων στην εξωτερική κυτταρική μεμβράνη. Το γεγονός αυτό δίνει το πρώτο έναυσμα για την απαρχή μιας σειράς μεταβολών της κυτταρικής δομής των βακτηρίων: απελευθέρωση LPS από την εξωτερική μεμβράνη που οδηγεί σε εκτεταμένη εκροή ιόντων (Ca^{+2} , Mg^{+2}) και νερού, με αποτέλεσμα την «αποκόλλησή» της από το κυτταρικό τοίχωμα. Το κυτταρικό τοίχωμα/κυτταροπλασματική μεμβράνη υποβάλλονται σε συνθήκες έντονου οσμωτικού στρες με αποτέλεσμα την εκροή ενδοκυτταρικών συστατικών του και θρόμβωση του κυτταροπλάσματος που οδηγούν το κύτταρο στο θάνατο (Vishu Kumar et al 2007, Chung and Chen 2008, **εικόνα 9**). Επίσης η χιτοζάνη διαταράσσει την φυσιολογική αντλία ροής-εκροής ηλεκτρονίων του κυττάρου, με

αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η σωστή παροχή οξυγόνου και να εξαναγκάζεται σε αναερόβιο μεταβολισμό (Chung and Chen 2008, Rafaat et al 2008).



Εικόνα 9. Αλληλεπίδραση της χιτοζάνης χαμηλού ΜΒ (LMW) με την εξωτερική μεμβράνη του κυτταρικού τοιχώματος των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (Vishu Kumar et al 2007)

Θετικά κατά Gram βακτήρια: το κυτταρικό τοίχωμα των θετικών κατά Gram βακτηρίων δεν περιβάλλεται από εξωτερική μεμβράνη όπως στην περίπτωση των αρνητικών κατά Gram, αλλά από παχιά ομοειδή στρώση πεπτιδογλυκάνης η οποία αποτελείται από: N-ακετυλο-μουραμικό οξύ συνδεδεμένο με β,1-4, γλυκοζιτικό δεσμό, αμινοξέα και τειχοϊκά οξέα. Ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση των συγκεκριμένων αρνητικά φορτισμένων μορίων με τα θετικά φορτισμένα ενεργά μόρια της χιτοζάνης (ομάδες- NH_3^+) οδηγεί σε δέσμευση των δευτέρων στην πεπτιδογλυκάνη (υδρόλυση της πεπτιδογλυκάνης) με αποτέλεσμα την εκροή ιόντων καλίου και ουσιών χαμηλού μοριακού βάρους (π.χ πρωτεΐνες, νουκλεϊκό οξύ, γλυκόζη, αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος) (Goy et al 2009). Η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση χιτοζάνης- πεπτιδογλυκάνης των Gram-θετικών βακτηρίων παρουσιάζεται στην **εικόνα 10**.



Εικόνα 10. Αλληλεπίδραση της χιτοζάνης με το κυτταρικό τοίχωμα των θετικών κατά Gram βακτηρίων (Vishu Kumar et al 2007)

Αξίζει να σημειωθεί ότι η χιτοζάνη φαίνεται να δρα με παρόμοιο τρόπο και στην περίπτωση της θανάτωσης των μυκήτων (Helander et al 2001, Coma et al 2002, Vishu Kumar et al 2007, Chung and Chen 2008, Raafat et al 2008).

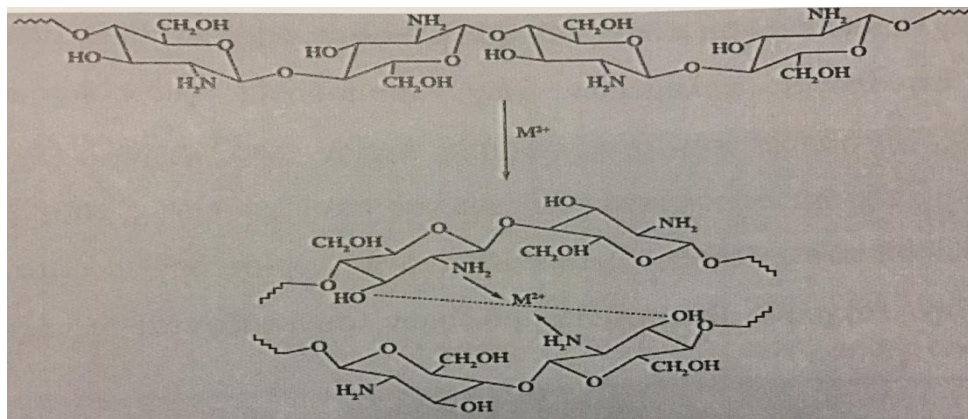
Σύμφωνα με τον μηχανισμό «ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης», όσο περισσότερες είναι οι θετικά φορτισμένες πρωτονιομένες αμινομάδες της χιτοζάνης, τόσο υψηλότερη αναμένεται να είναι και η αντιμικροβιακή δράση της. Σύμφωνα με τους Goy et al (2009), αύξηση της συγκέντρωσης της χιτοζάνης μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των κατιονικών ομάδων που είναι διαθέσιμες για την δέσμευση επί της επιφάνειας των βακτηρίων. Συνεπώς, κατά τη μελέτη της αντιβακτηριακής δράση της χιτοζάνης σε *in vitro* ή *in vivo* έρευνες, είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός της κατάλληλης συγκέντρωσης της χιτοζάνης, έτσι ώστε να διατηρεί τις ιδιότητές της σε ικανοποιητικό βαθμό. Οι έρευνες που έγιναν επάνω στη δράση της χιτοζάνης σε μικροοργανισμούς αλλοίωσης των τροφίμων και σε παθογόνα βακτήρια, δεν έχουν καταλήξει σε ασφαλές συμπέρασμα σχετικά με το αν η χιτοζάνη είναι πιο δραστική ενάντια στα θετικά κατά Gram βακτήρια (Goy et al 2009). Ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν ότι η χιτοζάνη, σε γενικές γραμμές, έχει επιδείξει ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση ενάντια στα θετικά κατά Gram βακτήρια όπως η *L. monocytogenes*, *Bacillus* spp., *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. vulgaris* κ.λ.π, από ότι στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια (*E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus* κ.λ.π.). Αντίθετα οι Chung et al (2004) αναφέρουν ότι η

εξωτερική μεμβράνη που περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων καθιστά την βακτηριακή επιφάνεια ισχυρά υδρόφιλη με αποτέλεσμα να καθίσταται πιο ευάλωτη στην επίδραση της χιτοζάνης. Επίσης, στην ίδια έρευνα διαπιστώθηκε ότι το αρνητικό φορτίο της επιφάνειας των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων ήταν μεγαλύτερο σε σχέση με το αντίστοιχο των θετικών κατά Gram βακτηρίων που εξετάστηκαν, με αποτέλεσμα τα πρώτα, να είναι πιο ευαίσθητα στην επίδραση της χιτοζάνης. Ανάμεσα στα αρνητικά κατά Gram που εξετάστηκαν, το σύνολο του αρνητικού φορτίου του κυτταρικού τοιχώματος μειώνεται με την εξής σειρά: *Pseudomonas aeruginosa* > *Salmonella typhimurium* > *Eschericia coli*. Η αντίστοιχη σειρά για τα θετικά κατά Gram βακτήρια είναι η εξής: *Staphylococcus aureus* > *Streptococcus faecalis* (Chung et al 2004). Το ηλεκτρονιακό φορτίο της επιφάνειας των βακτηρίων αποτελεί και τον καθοριστικό παράγοντα για την ποσότητα της χιτοζάνης που προσροφάται κάθε φορά από την κυτταρική μεμβράνη. Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω είναι προφανές ότι η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης, καθώς και ο μηχανισμός που ακολουθεί κάθε φορά, εξαρτάται κυρίως από το είδος του μικροοργανισμού-στόχου.

β) Η χιτοζάνη στερεί από τα βακτηριακά κύτταρα θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για το μεταβολισμό τους, όπως ιχνοστοιχεία, μέταλλα, κ.α., μέσω σχηματισμού σταθερών χηλικών συμπλόκων με αυτά (**εικόνα 10**). Επίσης με αυτόν τον τρόπο παρεμποδίζεται η παραγωγή τοξινών από τους μικροοργανισμούς. Σε γενικές γραμμές, ο συγκεκριμένος μηχανισμός, λαμβάνει χώρα συνήθως σε υψηλή τιμή pH, όπου οι αμινομάδες της χιτοζάνης είναι μη πρωτονιομένες με αποτέλεσμα το μονήρες ηλεκτρονιακό ζεύγος να μετατοπίζεται προς το μεταλλικό ιόν:

- Σε $pH < 6$ η συμπλοκοποίηση περιλαμβάνει μόνο μία ομάδα $-NH_2$, και τρεις ομάδες $-OH$, ενώ σε υψηλότερη τιμή $pH > 6,7$ είναι πιο πιθανή η συμμετοχή δύο ομάδων $-NH_2$ (Goy et al 2009).
- Σε περιοχή $pH 7-9$ η συμπλοκοποίηση περιλαμβάνει δύο ομάδες $-NH_2$ και δύο υδροξύλια.

- Σύμφωνα με τον μηχανισμό που πρότειναν οι Wang et al (2005), το μεταλλικό κατιόν M^{2+} ενεργεί ως δέκτης ηλεκτρονίων που συνδέονται με την ομάδα $-NH_2$ και σχηματίζει γέφυρες με τα υδροξύλια (εικόνα 11).



Εικόνα 11. Μηχανισμός σχηματισμού συμπλόκων χιτοζάνης-μεταλλικών στοιχείων (Wang et al 2005)

γ) Τα μόρια της χιτοζάνης σχηματίζουν πολυμερικό στρώμα που επικαλύπτει τα βακτηριακό κύτταρα με αποτέλεσμα την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών από την επιφάνειά τους, αλλά και την παρεμπόδιση εισροής θρεπτικών ουσιών στο εσωτερικό του κυττάρου.

δ) Τα ολιγομερή της χιτοζάνης μπορούν να διεισδύσουν στο εσωτερικό του κυττάρου (λόγω μικρότερης μοριακής αλυσίδας, σε σχέση με την 'native' χιτοζάνη) και να παρεμποδίσουν την σύνθεση RNA (Shahidi et al 1999), πιθανόν σύμφωνα με τον εξής μηχανισμό: 1) Σχηματισμός συμπλόκου χιτοζάνης-εξωκυτταρικού DNA, 2) Σύνδεση συμπλόκου χιτοζάνης - DNA σε κατάλληλους υποδοχείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, 3) Παθητική μεταφορά συμπλόκου χιτοζάνης - DNA στο εσωτερικό του κυττάρου, 4) Αλληλεπίδραση με ενζυμικά συστήματα του πυρήνα, αναστολή σύνθεσης m-RNA και πρωτεϊνών.

ε) Τέλος έχει προταθεί ότι η χιτοζάνη μειώνει την πρόσληψη νερού από τα βακτήρια και παρεμποδίζει την λειτουργία των ενζυμικών συστημάτων του κυττάρου (Shahidi et al 1999).

1.6.3.5 Εφαρμογές στη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων

Η χιτίνη και τα παράγωγά της, όπως η χιτοζάνη, είναι ουσίες ελάχιστα τοξικές, βιοδιασπώμενες, αδρανείς στο γαστρεντερικό σύστημα των θηλαστικών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ένα εύρος εφαρμογών σε διάφορους επιστημονικούς τομείς, όπως η βιοϊατρική (π.χ. επούλωση πληγών και εγκαυμάτων), η συντήρηση και τεχνολογία τροφίμων (π.χ. καθυστέρηση μικροβιολογικής αλλοίωσης των τροφίμων, διαύγαση χυμών φρούτων), η τεχνολογία πολυμερών (π.χ. δημιουργία βιοαποικοδομήσεων υλικών συσκευασίας), η αντιρρύπανση (π.χ. επεξεργασία υγρών αποβλήτων, καθαρισμός νερού), η φαρμακευτική (π.χ. σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμακευτικών ουσιών) και άλλα (Shahidi et al 1999). Ορισμένες από τις κυριότερες εφαρμογές της χιτίνης και χιτοζάνης στη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων, συνοψίζονται ως εξής (Shahidi et al 1999):

α) Χρήση ως πρόσθετου τροφίμων: διαύγαση χυμών, φυσικό ενισχυτικό γεύσης, γαλακτωματοποιητής, σταθεροποιητής.

β) Χρήση ως αντιμικροβιακού παράγοντα: αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση.

γ) Χρήση ως υλικού συσκευασίας τροφίμων: ελεγχόμενη μεταφορά υγρασίας από το περιβάλλον στα τρόφιμα, ελεγχόμενη διάχυση αντιμικροβιακών παραγόντων ή και αντιοξειδωτικών ουσιών, θρεπτικών συστατικών, ενισχυτών γεύσης από τη συσκευασία στα τρόφιμα, ελεγχόμενος ρυθμός αναπνοής φρούτων και λαχανικών και περιορισμός ενζυμικής αμαύρωσης.

Επιπρόσθετα, η χιτοζάνη είναι διαιτητική ίνα, που μειώνει την απορρόφηση λίπους από τον οργανισμό, για αυτό και τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο για την παρασκευή συμπληρωμάτων διατροφής (ενηλίκων και νεογνών) και για την εκτροφή ζώων και ψαριών (εμπλουτισμός της διατροφής τους). Επίσης θεωρείται ότι έχει δράση έναντι της γαστρίτιδας. Τέλος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως παράγοντας αντιρρύπανσης σε βιομηχανίες τροφίμων (απομάκρυνση μεταλλικών ιόντων, παρασιτοκτόνων, φαινολών και χρωστικών από τα υγρά απόβλητα) ή για την ακινητοποίηση ενζύμων (Shahidi et al 1999).

Η χιτοζάνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τη βιομηχανία τροφίμων σε δυο διαφορετικές μορφές: α) ως ‘φυσικό’ συντηρητικό που προστίθεται απευθείας στα τρόφιμα (λουκάνικα, κιμάς κ.λ.π.) σε μορφή σκόνης (Lin and Chao 2001, Georgantelis 2007, Georgantelis 2008, Soultos et al 2008), β) ως ‘φυσικό’

συντηρητικό που προστίθεται απευθείας στα τρόφιμα σε μορφή διαλύματος (dipping, spraying κ.λ.π.). Ως διαλύτες, χρησιμοποιούνται διαλύματα οργανικών οξέων (κυρίως οξικό οξύ), (Sagoo et al 2002, Inatsu et al 2005, Yingyuad et al 2006, Nobile et al 2009, Ojagh et al 2010). Στον **πίνακα 12** παρουσιάζονται παραδείγματα εφαρμογών της χιτοζάνης ως αντιμικροβιακού παράγοντα τροφίμων, υπό μορφή σκόνης ή διαλύματος.

Πίνακας 12. Η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης σε διάφορα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.

Είδος Χιτοζάνης	Τρόπος εφαρμογής	Είδος τροφίμου (αναφορά)	Αποτέλεσμα
Chitosan glutamate D.D.=75-85% (Drammen, Norway)	Εμβάπτιση σε διάλυμα 1,0% w/v	Λουκάνικα (Sagoo et al 2002)	Αύξηση μικροβιακού και οργανοληπτικού χρόνου συντήρησης από 7 σε 15 ημέρες
Chitosan glutamate D.D.=75-85% (Drammen, Norway)	Προσθήκη διαλύματος → τελική C=0,3%-0,6% w/w	Χοιρινός κιμάς (Sagoo et al 2002)	Μείωση της O.M.X. γαλακτικών βακτηρίων, ζυμών-μυκήτων έως και 3,0 log CFU/g
Commercial grade chitosan (Seafresh Co., Thailand)	Εμβάπτιση σε διάλυμα 2,0-2,5% w/v	Ψητό χοιρινό (VP) (Yingyuad et al 2006)	Παράταση μικροβιολογικού και οργανοληπτικού χρόνου συντήρησης κατά 14 ημέρες
Food grade chitosan MW=4,5*10 ⁵ (Dalian Co., China)	Προσθήκη σε στερεά μορφή 0,5,1% w/w	Λουκάνικα (Soultois et al 2008)	Αύξηση μικροβιολογικού και οργανοληπτικού χρόνου συντήρησης, μείωση O.M.X., γαλακτικών, ψευδομονάδων, κ.λ.π. (1-2 log CFU/g)
Food grade chitosan MW=4,5*10 ⁵ (Dalian Co., China)	Προσθήκη σε στερεά μορφή 0,5,1% w/w	Λουκάνικα (Georgantelis et al 2007 α)	Διπλασιασμός μικροβιολογικού και οργανοληπτικού χρόνου συντήρησης, μείωση O.M.X., γαλακτικών, ψευδομονάδων, κ.λ.π. (1,5-2,0 log CFU/g)
High Molecular Weight chitosan	Προσθήκη διαλύματος → τελική C=0,012% w/w	Τυρί (Del Nobile et al 2009)	Μείωση ψευδομονάδων κατά 2 log CFU/g

δ) Ως αντιμικροβιακά βιο-φιλμ (bio-based films): για την συσκευασία τροφίμων (Dutta et al 2009, Aider et al 2010).

Τα τελευταία χρόνια, η βιομηχανία τροφίμων έχει αρχίσει να στρέφεται στη χρήση εδώδιμων (edible) ή μη μεμβρανών και επιστρωμάτων (coatings) από χιτοζάνη για την επέκταση του χρόνου συντήρησης τροφίμων ζωικής προέλευσης, φρούτων και λαχανικών, επειδή είναι φιλικά προς το περιβάλλον (οικολογικά) και βιοαποικοδομήσιμα. Οι εξωτερικές επιστρώσεις και οι μεμβράνες από χιτοζάνη παρέχουν στα τρόφιμα προστασία από τη μικροβιολογική, φυσικοχημική και οργανοληπτική αλλοίωση. Η χιτίνη και η χιτοζάνη έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε διάφορες εφαρμογές (food wraps). Οι Η.Π.Α. και ο Καναδάς έχουν εγκρίνει τη χρήση φιλμ από N,O-καρβοξυ-μεθυλ-χιτίνη για τη συσκευασία φρούτων, από το 1989 (Shahidi et al 1999). Η χιτοζάνη διαθέτει την ικανότητα να σχηματίζει ημιδιαπερατές μεμβράνες, οι οποίες περιορίζουν την μικροβιολογική ή ενζυμική αλλοίωση φρούτων, λαχανικών και άλλων τροφίμων (Shahidi et al 1999).

Δύσκαμπτα φιλμ χιτοζάνης μπορούν να σχηματιστούν με την χρήση ενώσεων που μεταβάλουν τις φυσικές ιδιότητες του πολυμερούς (πλαστικοποιητές), έτσι ώστε να διευκολύνουν τη συνένωση των μοριακών αλυσίδων μέσω ιοντικών ή ομοιοπολικών δεσμών. Οι ενώσεις ονομάζονται 'cross-linking agents' και οι κυριότεροι εκπρόσωποί τους είναι η γλουταραλδεΐδη, γλυκερόλη, πολύ-ηλεκτρολύτες, ανιονικοί πολυσακχαρίτες ή και δισθενή μεταλλικά ιόντα (Shahidi et al 1999). Η παρασκευή διαφόρων μεμβρανών από χιτοζάνη για τη συσκευασία-συντήρηση τροφίμων έχει πραγματοποιηθεί από πολλούς ερευνητές. Συγκεκριμένα έχουν παρασκευαστεί :

- Μεμβράνη χιτοζάνης με άμυλο -Chitosan starch films- (Zhai et al 2004, Durango et al 2006, Tripathi et al 2008)
- Μεμβράνη χιτοζάνης εμπλουτισμένη με ριγανέλαιο, θυμαρέλαιο (\pm EDTA), γαρυφαλλέλαιο, έλαιο κανέλλας, έλαιο τσαγιόδεντρου (Zivanovic et al 2005, Hosseini et al 2008, Ojagh et al 2010, Sanchez-Gonzalez et al 2010)
- Μεμβράνη χιτοζάνης εμπλουτισμένη με έλαιο σκόρδου ή σορβικό κάλιο ή νισίνη (Pranoto et al 2005)
- Μεμβράνη χιτοζάνης εμπλουτισμένη με λυσοζύμη (Kim et al 2008)
- Μεμβράνη χιτοζάνης εμπλουτισμένη με νισίνη, σορβικό κάλιο, ή γαλακτικό νάτριο (Ye et al 2008)

- Μεμβράνη από χιτοζάνη εμπλουτισμένη με ολεϊκό οξύ (Vargas et al 2006) ή οξικό/προπιονικό/λαυρικό οξύ, κινναμυλδεϋδη (Ouattara et al 2000).

1.6.3.6 Μελέτες της αντιμικροβιακής δράσης της χιτοζάνης σε κρέας και προϊόντα κρέατος

Η χιτοζάνη παρουσιάζει επιθυμητό αποτέλεσμα στη διατήρηση του κόκκινου χρώματος του βόειου κρέατος κατά την αποθήκευση. Οι Darmadji and Izuminoto (1994 β), διαπίστωσαν επίσης ότι η αποτελεσματικότητα της χιτοζάνης στη σταθερότητα της αποθήκευσης του κιμά βόειου κρέατος ενισχύθηκε όταν συνδυάστηκε με νιτρώδη και *Lactobacillus plantarum*. Η χρήση συνδυασμού τριών επεξεργασιών (0,5 % χιτοζάνη, 1 % *Lactobacillus plantarum* ως καλλιέργεια εκκίνησης και 100 ppm νιτρώδη) ανέστειλε την ανάπτυξη των βακτηρίων περίπου 2 λογαριθμικούς κύκλους, μείωσε την τιμή TBA κατά 36 % και τα κατάλοιπα νιτρωδών κατά 63 % οδήγησαν σε καλύτερο χρώμα του ζυμώμενου κρέατος.

Οι Youn et al (2004), σημείωσαν ότι η διάρκεια ζωής του πικάντικου βοείου κρέατος, στο οποίο είχε προστεθεί 1 % χιτοζάνη διαλυμένης σε 3 % γαλακτικό οξύ, βελτιώθηκε με τη μείωση του συνολικού βακτηριακού κυτταρικού αριθμού και ταυτόχρονη αναστολή της οξειδωσης των λιπιδίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης για 10 ημέρες στους 4 °C.

Οι Sagoo et al (2002), έδειξαν ότι η χιτοζάνη ήταν αποτελεσματικός αναστολέας της μικροβιακής ανάπτυξης σε προϊόντα χοιρινού κρέατος υπό ψύξη και ότι οι επιπτώσεις της χιτοζάνης εξαρτώνται από τη συγκεντρωσή της. Προσθήκη 0,3 % και 0,6 % χιτοζάνης σε άψητο κιμά χοιρινού κρέατος, μείωσε την μικροβιακή χλωρίδα ζυμών και μυκήτων, καθώς και τα γαλακτικά βακτήρια έως και 3 log CFU/g για 18 ημέρες στους 4 °C σε σύγκριση με τον μάρτυρα.

Οι Juneja et al (2006), ανέφεραν ότι η προσθήκη χιτοζάνης 3 % σε βόειο κρέας και κρέας γαλοπούλας, μπορεί να περιορίσει τους δυνητικούς κινδύνους ανάπτυξης του *Clostridium perfringens* και την εκβλάστηση των σπορίων κατά τη διάρκεια της ψύξης από 54,4 °C σε 7,2 °C μέσα σε 12, 15 ή 18 ώρες.

Οι Lee and No (2002), διερεύνησαν την σταθερότητα της αποθήκευσης του χοιρινού κρέατος εμβαπτισμένου σε διάλυμα χιτοζάνης. Χοιρινό κρέας μεβαπτίστηκε για 1 min σε διάφορες συγκεντρώσεις χιτοζάνης (0,1 %, 0,5 %, 1 %) με διαφορετικά μοριακά βάρη (5, 30, 120 kDa) και στη συνέχεια αποθηκεύτηκε για 8 ημέρες στους 10 °C. Τα αποτελέσματα ανέφεραν ότι η διάρκεια ζωής και η προστασία από την

οξειδωση του χοιρινού κρέατος αυξήθηκε, βυθίζοντας σε διάλυμα χιτοζάνης 1 % με MB 30 και 120 kDa. Η χιτοζάνη με MB 5 kDa ανεξάρτητα της συγκέντρωσης, ήταν αποτελεσματική στην παράταση της διάρκειας ζωής και την πρόληψη της οξειδωσης των λιπιδίων του χοιρινού κρέατος. Το χρώμα του χοιρινού κρέατος που επεξεργάστηκε με χιτοζάνη MB 30 και 120 kDa παρέμεινε αμετάβλητο κατά την αποθήκευση. Η επεξεργασία φιλέτων βόειου κρέατος με εμβάπτιση σε διάλυμα 1 % χιτοζάνης ακολουθούμενη από 5% φωσφορικού νατρίου, ανέστειλε αποτελεσματικά την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών αλλοίωσης κατά την αποθήκευση στους 10 °C (Cheong et al 2001).

1.6.4 Συντήρηση σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα - Modified Atmosphere Packaging (MAP)

Η MAP είναι τρόπος συντήρησης ο οποίος περιλαμβάνει την απομάκρυνση του αέρα από την συσκευασία και την αντικατάστασή του με ένα απλό αέριο ή μίγμα αερίων. Το μίγμα αερίων που χρησιμοποιείται εξαρτάται από τον τύπο του προϊόντος. Με τον όρο συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα νοείται η διεργασία εκείνη κατά την οποία ο χώρος μέσα στον οποίο συσκευάζεται το τρόφιμο, έχει αέρια σύσταση διαφορετική από την σύσταση της ατμόσφαιρας. Συχνά αντί για τον όρο τροποποιημένη ατμόσφαιρα χρησιμοποιούνται οι όροι ελεγχόμενη ή προστατευτική ατμόσφαιρα. Συγκεκριμένα η διαφορά των δύο όρων έγκειται στο ότι στις ελεγχόμενες ατμόσφαιρες, η αέρια σύσταση ελέγχεται επακριβώς και συνεχώς, ενώ στις τροποποιημένες ατμόσφαιρες η αέρια σύσταση δεν ελέγχεται μετά την αρχική δημιουργία της. Και στις δύο τεχνικές, η αέρια σύνθεση της ατμόσφαιρας στον περιβάλλοντα χώρο είναι διαφορετική από αυτή του αέρα και περιλαμβάνει συνήθως την χρήση των αερίων CO₂, O₂ και N₂ σε διαφορετικά ποσοστά, με σκοπό την παράταση του χρόνου ζωής. Το CO₂ έχει σημαντική και άμεση αντιμικροβιακή δράση (Ares et al 2007).

Οι δύο αυτές τεχνολογίες είναι προέκταση της συντήρησης με ψύξη, χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με την ψύξη και συνεπώς η χρησιμοποίηση χαμηλών θερμοκρασιών είναι απαραίτητη προϋπόθεση και στις δύο περιπτώσεις. Η δημιουργία και διατήρηση της βέλτιστης ατμόσφαιρας στο εσωτερικό της συσκευασίας με τροποποιημένη ατμόσφαιρα, εξαρτάται από τον βαθμό αναπνοής των προϊόντων και την διαπερατότητα του υλικού συσκευασίας στο O₂ και CO₂, παράγοντες που επηρεάζονται από την θερμοκρασία (Tano et al 1999).

Ο σκοπός και των δύο τεχνολογιών είναι η επιμήκυνση του χρόνου ζωής, η μείωση απωλειών λόγω καταστροφής, η διατήρηση της ποιότητας και εμφάνισης των τροφίμων.

Η μεταβολή της σύστασης της ατμόσφαιρας που περιβάλλει τα νοπά προϊόντα προκαλεί προφανώς μεταβολή στην ταχύτητα αναπνοής τους. Όταν η περιεκτικότητα σε O_2 είναι στα κανονικά επίπεδα γίνεται αερόβια αναπνοή, αλλά απουσία O_2 γίνεται αναερόβια αναπνοή. Χαμηλές συγκεντρώσεις O_2 επιτρέπουν και τις δυο διεργασίες, να υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων O_2 και CO_2 η οποία σε συνδυασμό με την θερμοκρασία αποθήκευσης, επιτυγχάνει ελάττωση της αναπνοής. Σε σφραγισμένο περιέκτη, καθώς συνεχίζεται σε ορισμένο ρυθμό η αναπνοή του προϊόντος, υπάρχει σταθερή μεταβολή στη σύσταση της ατμόσφαιρας, καθώς καταναλώνεται το O_2 . Αρχικά αυξάνεται η συγκέντρωση του CO_2 και μειώνεται η συγκέντρωση του O_2 αλλά επειδή η πλαστική μεμβράνη είναι περισσότερο διαπερατή από το CO_2 , το τελευταίο διαχέεται ταχύτερα προς το εξωτερικό της συσκευασίας από ότι διαχέεται το O_2 προς το εσωτερικό. Η ταχύτητα διαπερατότητας εξαρτάται επίσης από τις μερικές πιέσεις των δυο αερίων στον εσωτερικό και τον εξωτερικό χώρο της συσκευασίας και είναι πιθανόν οι δυο αυτές ταχύτητες να φθάσουν σε μια κατάσταση ισορροπίας και να επιτευχθεί ατμόσφαιρα σταθερής σύστασης. Η διαπερατότητα του O_2 , του CO_2 και ο ρυθμός μεταφοράς υδρατμών είναι οι πιο σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπ'όψιν όταν επιλέγεται ένα υλικό συσκευασίας για δημιουργία συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (Ares et al 2007).

Η χρήση της τροποποιημένης ατμόσφαιρας στην συσκευασία του κρέατος του κοτόπουλου άρχισε στις αρχές του 1950. Βρέθηκε ότι η αύξηση του χρόνου ζωής του κοτόπουλου που συσκευάστηκε σε ατμόσφαιρα CO_2 ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης του CO_2 που χρησιμοποιήθηκε.

1.6.5 Συσκευασία υπό κενό

Η συσκευασία υπό κενό θεωρείται σημαντική εξέλιξη στη μεταχείριση και εμπορία κρέατος (Taylor 1985). Στο παρελθόν, η διακίνηση του κρέατος από το σφαγείο προς το κατάστημα λιανικού εμπορίου γινόταν αποκλειστικά με τη μορφή ημιμορίων και τεταρτημορίων. Το 1967 εισήχθη για πρώτη φορά στις ΗΠΑ η νέα τεχνολογία συσκευασίας υπό κενό στη διακίνηση και εμπορία του βοδινού κρέατος

και το 1970 εφαρμόστηκε με επιτυχία και στο χοιρινό και αρνίσιο κρέας (Μπλούκας 2004).

Ως πλεονεκτήματα της τεχνολογίας αυτής αναφέρονται:

1. Η καλύτερη αξιοποίηση της πρώτης ύλης και η τυποποίηση του κρέατος, με αποτέλεσμα ο λιανοπωλητής να μπορεί με ευχέρεια να ικανοποιήσει τις απαιτήσεις του καταναλωτικού κοινού με την παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας καθώς και με τη δυνατότητα διακίνησης των προϊόντων σε μερίδες.
2. Η καλύτερη αξιοποίηση του λίπους, των οστών και των μικρότερων τεμαχίων κρέατος από τον τεμαχισμό του κάθε σφάγιου.
3. Η σημαντική οικονομία σε ψυκτικούς χώρους και η μείωση του κόστους μεταφοράς.
4. Η ωρίμανση του κρέατος μέσα στη συσκευασία, με αποτέλεσμα να περιορίζονται οι απώλειες βάρους, η επιμόλυνση του κρέατος και η οξείδωση του λίπους.
5. Η καλύτερη αξιοποίηση του ανθρώπινου δυναμικού αφού η συσκευασία προσφέρει εύκολη διανομή του προϊόντος και η χρησιμοποίηση σύγχρονου και αυτοματοποιημένου εξοπλισμού (Μπλούκας 2004).

Τα αποτελέσματα που έχει η χρήση συσκευασίας υπό κενό σχετίζονται με την δημιουργία αναερόβιου περιβάλλοντος, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η ανάπτυξη των αναερόβιων μικροοργανισμών αλλοίωσης. Τα πλαστικά υλικά συσκευασίας που χρησιμοποιούνται στην περίπτωση αυτή έχουν χαμηλή διαπερατότητα σε υγρασία και αέρια (Taylor 1977). Ο τύπος του κρέατος, η μέθοδος της συσκευασίας καθώς και οι συνθήκες συντήρησης, επηρεάζουν τον χρόνο ζωής του προϊόντος και το είδος αλλοίωσης αυτού (Newton 1977).

Μέσα σε 1-2 ημέρες συντήρησης υπό κενό των μεγάλων τεμαχίων, λόγω της αναπνευστικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών, παράγεται διοξείδιο του άνθρακα, η συγκέντρωση του οποίου στο εσωτερικό της συσκευασίας αυξάνεται από 10-40% (Holley et al 1993).

Το CO₂ ασκεί βακτηριοστατική δράση σε ορισμένα βακτήρια, ειδικά όταν απαντά σε υψηλές συγκεντρώσεις (Sorheim et al 1999). Ιδιαίτερα ευαίσθητα στην επίδρασή του είναι τα αυστηρά αερόβια βακτήρια και λιγότερο τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Η δράση του έναντι των αερόβιων βακτηρίων αποδίδεται: α) στην αναστολή που προκαλεί σε διάφορα ένζυμα του μικροοργανισμού και β) στη μείωση του pH. Το CO₂ απορροφάται στην επιφάνεια του κρέατος και στη συνέχεια ιονίζεται

σε ιόντα ανθρακικού οξέος, γεγονός που επιφέρει στο σημείο αυτό μείωση του pH (Μπλούκας 2004).

Η βακτηριοστατική δράση του CO₂ σε συνδυασμό με πολύ χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου (<1%) δημιουργούν ένα εντελώς διαφορετικό περιβάλλον για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Στο νέο περιβάλλον που δημιουργείται περιορίζεται η ανάπτυξη των αυστηρά αερόβιων βακτηρίων, όπως οι ψευδομονάδες, ενώ ευνοείται η ανάπτυξη των μικροαερόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων, των προαιρετικά αναερόβιων Εντεροβακτηρίων και του *Brochothrix thermosphacta*. Ωστόσο, στις περισσότερες περιπτώσεις στη μικροχλωρίδα του συσκευασμένου υπό κενό κρέατος κυριαρχούν τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Σε αντίθεση με τις ψευδομονάδες, τα οξυγαλακτικά βακτήρια δεν παράγουν δυσάρεστες οσμές σήψης (Μπλούκας 2004).

1.7 ΠΛΑΣΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Ο όρος πλαστικά αναφέρεται σε μια μεγάλη ομάδα υλικών τα οποία αποτελούνται από το βασικό μακρομόριο (πολυμερές) και από μια σειρά βιομηχανικά πρόσθετα, τα οποία προστίθενται στο πολυμερές για να βελτιώσουν τις μηχανικές κυρίως, αλλά και φυσικοχημικές ιδιότητές τους. Το μοριακό τους βάρος μπορεί να είναι από μερικές δεκάδες χιλιάδες μέχρι εκατομμύρια και παρασκευάζονται με συνένωση μικρών επαναλαμβανόμενων δομικών μονάδων (μορίων) τα οποία ονομάζονται μονομερή. Επίσης μπορούν να συνδυαστούν διαφορετικά μονομερή στο ίδιο μόριο πολυμερούς, ώστε το υλικό που προκύπτει να συνδυάζει διάφορες ιδιότητες ανάλογα με τις ιδιότητες των μονομερών. Αυτά τα υλικά ονομάζονται συμπολυμερή.

Τα πολυμερή δημιουργούνται είτε με πολυμερισμό προσθήκης είτε με πολυμερισμό συμπύκνωσης. Ο πολυμερισμός προσθήκης πραγματοποιείται με συνένωση διαδοχικών μονομερών, κάτω από κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας, πίεσης και με παρουσία ενός καταλύτη και ενός εκκινητή. Το μήκος των μακρομοριακών αλυσίδων αυξάνεται με την προσθήκη των μορίων του μονομερούς στα άκρα.

Κατά τον πολυμερισμό συμπύκνωσης, δύο ή περισσότερα μόρια αντιδρούν μεταξύ τους για την παραγωγή του πολυμερούς με σύγχρονη απελευθέρωση ενός μικρού συνήθως μορίου. Τα αρχικά μονομερή διαφέρουν από αυτά που αποτελούν την αλυσίδα του πολυμερούς.

Παρακάτω αναλύονται τα χαρακτηριστικά δύο υλικών συσκευασίας (πολυαιθυλένιο και πολυαμίδιο) που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Πολυαιθυλένιο (PE, HDPE, LDPE, LLDPE)

Ανήκει στην ομάδα των πολυολεφινών. Είναι από τα απλά στη δομή πολυμερή και παρασκευάζεται με πολυμερισμό του αιθυλενίου. Ανάλογα με τον τρόπο πολυμερισμού μπορεί να ληφθεί το πολυαιθυλένιο που διακρίνεται σε: υψηλής πυκνότητας (HDPE) με ευθεία αλυσίδα, χαμηλής πυκνότητας (LDPE) με διακλαδισμένη αλυσίδα και το γραμμικό χαμηλής πυκνότητας (LLDPE) το οποίο δεν περιέχει διακλαδώσεις μεγάλης αλυσίδας αλλά πολλές μικρές πλευρικές αλυσίδες.

Το LDPE έχει κρυσταλλικότητα 50-60 % και η πυκνότητά του κυμαίνεται μεταξύ $0,915 \text{ g/cm}^3$ και $0,940 \text{ g/cm}^3$. Είναι σχετικά χημικά αδρανές, ελάχιστα διαπερατό στους υδρατμούς αλλά πολύ διαπερατό σε οξυγόνο, αέρια και οσμές. Μπορεί να λαμιναριστεί, να επιστρωθεί με εξώθηση και να συνεξωθηθεί. Είναι φθινό, ευκατέργαστο, έχει μηχανική αντοχή, είναι εύκαμπτο, περιέχει σχετικά μικρή ποσότητα προσθέτων και στη μορφή λεπτών μεμβρανών είναι διαφανές. Έχει πολύ καλή ικανότητα θερμοσυγκόλλησης και εύκολα επιστρώνεται πάνω σε άλλα υλικά όπως το χαρτί και το αλουμίνιο.

Το HDPE έχει κρυσταλλικότητα 70-80% και η πυκνότητά του κυμαίνεται μεταξύ $0,940 \text{ g/cm}^3$ και $0,970 \text{ g/cm}^3$. Το HDPE συγκρινόμενο με το LDPE είναι πιο άκαμπτο, πιο σκληρό και λιγότερο διαφανές. Είναι ανθεκτικό στα λίπη και έλαια και μαλακώνει σε υψηλότερη θερμοκρασία αλλά έχει μικρότερη αντοχή κρούσης. Έχει πολύ καλό φραγμό στα αέρια σε σχέση με το LLDPE.

Το LLDPE είναι κρυσταλλικό και παρόλο που έχει παρόμοια δομή με το HDPE, η πυκνότητά του είναι σαν και αυτή του LDPE, δηλαδή μεταξύ $0,915 \text{ g/cm}^3$ και $0,926 \text{ g/cm}^3$. Η γραμμικότητα στο μακρομόριο παρέχει αντοχή, ενώ οι διακλαδώσεις σκληρότητα (Κοντομηνάς 1995).

Τα πλεονεκτήματα του LLDPE έναντι του LDPE είναι η βελτιωμένη αντοχή σε χημικά αντιδραστήρια, καλύτερη αντοχή στο όριο θραύσης και μεγαλύτερο εκατοστιαίο ποσοστό επιμήκυνσης στο όριο θραύσης.

Τα προϊόντα συσκευασίας που παρασκευάζονται από PE και τα παράγωγα αυτού είναι μεμβράνες, σακούλες, άκαμπτοι και ημιεύκαμπτοι περιέκτες. Χρησιμοποιείται ευρέως για την συσκευασία διαφόρων τροφίμων.

Πολυαμίδιο (nylon)

Τα nylon δεν παρέχουν καλό φραγμό έναντι της υγρασίας αλλά ικανοποιητικό φραγμό έναντι του οξυγόνου. Ως μεμβράνη το nylon, είναι υγροσκοπικό υλικό που στην ατμόσφαιρα προσλαμβάνει νερό. Όσο περισσότερο νερό προσλαμβάνει τόσο υποβαθμίζεται ο φραγμός που παρέχει έναντι του οξυγόνου. Χρησιμοποιούνται κυρίως τα nylon 6 και nylon 6,6 σε εφαρμογές όπου το ένα τουλάχιστον συστατικό του συνδυασμού θερμομορφοποιείται. Λαμινάρεται συνήθως με LDPE, EVA ή συμπολυμερή του PE ή ιονομερή. Για συσκευασία κατεργασμένων προϊόντων του κρέατος, το nylon συνδυάζεται με φύλλο PVdC για πρόσθετο φραγμό έναντι του οξυγόνου. Ο συνδυασμός γίνεται με λαμινάρισμα ή επίστρωση με εξώθηση (extrusion coating) του nylon στο υλικό/φραγμό έναντι του οξυγόνου. Το προκύπτον υλικό χρησιμοποιείται στη συσκευασία προϊόντων κρέατος, τυριών, φρέσκου κρέατος κ.α.

Διατίθεται μονοαξονικά ή διαξονικά προσανατολισμένο nylon. Με τον προσανατολισμό αυξάνει ο φραγμός στο οξυγόνο, η αντοχή στον εφελκυσμό, η αντοχή στο τσάκισμα, ενώ ελαττώνεται η ικανότητα θερμομορφοποίησης και ο βαθμός επιμήκυνσης της μεμβράνης (Κοντομηνάς και Ρηγανάκος 2007) .

1.8 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην ποιοτική εκτίμηση, την αποδοχή καθώς και την ικανότητα πέψης των τροφίμων από τον καταναλωτή παίζουν τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Στα χαρακτηριστικά αυτά περιλαμβάνονται:

1. η εμφάνιση του τροφίμου (μέγεθος, χρώμα, πιθανός τραυματισμός, στιλπνότητα κ.τ.λ.)
2. η υφή του τροφίμου (ιξώδες, ρεολογικές ιδιότητες, σκληρότητα, χυμώδες κ.τ.λ.)
3. η γεύση και η οσμή (αρωματικό, όξινο, μπαγιάτικο, δύσοσμο κ.τ.λ.).

Στην παρούσα εργασία, πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος της οσμής, της υφής και της εμφάνισης των εξεταζόμενων δειγμάτων.

Εξέταση υφής

Παρόλο που ο όρος υφή αποτελεί έναν από τους σπουδαιότερους παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη για τον καθορισμό της ποιότητας των τροφίμων, δεν έχει δοθεί γι' αυτόν ικανοποιητικός ορισμός. Συνήθως με τον όρο "υφή" χαρακτηρίζονται

εκείνες οι ιδιότητες των τροφίμων, οι οποίες γίνονται αντιληπτές με το μάσημα και με την πίεση με τα δάχτυλα.

Ένας πιο ικανοποιητικός τρόπος ορισμού της υφής των τροφίμων είναι ο εξής: Υφή είναι ο τρόπος με τον οποίο τα διάφορα δομικά στοιχεία και τα άλλα συστατικά του τροφίμου είναι διαταγμένα και συνδυασμένα, ώστε να αποτελέσουν την μικρο- και μακρο- δομή του, καθώς και οι εξωτερικές μαρτυρίες των δομών αυτών που αποδίδονται με όρους ρευστότητας και παραμορφώσεων.

Η υφή των τροφίμων, όπως έδειξαν στατιστικές μελέτες, αποτελεί σημαντικό κριτήριο για την αποδοχή ή όχι του προϊόντος από τον καταναλωτή (Κοντομηνάς και Τασιούλα-Μάργαρη 2003).

Εξέταση γεύσης και οσμής

Η γεύση και η οσμή (flavor) αναφέρονται στις αισθήσεις που προκαλεί η τροφή στο στόμα και τη μύτη, αντίστοιχα. Δηλαδή η γεύση και η οσμή αποτελούν ιδιότητες του τροφίμου αφενός και του δέκτη (καταναλωτή) αφετέρου. Οι ενώσεις που υπάρχουν στο τρόφιμο δίνουν σε αυτό τις χαρακτηριστικές του οργανοληπτικές ιδιότητες και κατόπιν αλληλεπιδράσής τους με τα αισθητήρια όργανα του ανθρώπου, προκαλούν ένα σήμα, το οποίο μεταφέρεται μέσω του νευρικού συστήματος στον εγκέφαλο και έτσι δημιουργείται η συγκεκριμένη εντύπωση της γεύσης και της οσμής.

Γεύση

Τα κύρια γευστικά ερεθίσματα είναι τέσσερα: το γλυκό, το πικρό, το ξινό και το αλμυρό. Η αίσθηση της γεύσης γίνεται αντιληπτή με τη βοήθεια των γευστικών καλύκων που υπάρχουν στη γλώσσα. Αυτοί αποτελούν συσσωματώματα γευστικών κυττάρων τα οποία μοιάζουν με τους κάλυκες των ανθέων. Είναι εξειδικευμένοι σε ομάδες, ώστε να δέχονται ένα ορισμένο είδος γευστικού ερεθίσματος και να μεταβιβάζουν μέσω των κατάλληλων νεύρων που απολήγουν σε αυτούς, τη σχετική πληροφορία στον εγκέφαλο. Οι γευστικοί κάλυκες είναι έτσι κατανεμημένοι στη γλώσσα ώστε το αίσθημα του γλυκού να εντοπίζεται στο οξύ άκρο της γλώσσας (μπροστά), του πικρού στο πίσω άκρο, του αλμυρού και του ξινού στα πλάγια άκρα της γλώσσας.

Εκτός από τα τέσσερα κύρια γευστικά ερεθίσματα υπάρχουν και άλλα δευτερεύοντα που συντελούν στη γεύση. Τα σπουδαιότερα από αυτά είναι:

- Το αλκαλικό ερέθισμα που αποδίδεται στην παρουσία του –OH.
- Το στυφό ερέθισμα που οφείλεται στις τανίνες π.χ. τσάι.
- Το δροσιστικό ερέθισμα που είναι χαρακτηριστικό της μενθόλης.
- Το καυστικό ερέθισμα που είναι χαρακτηριστικό των μπαχαρικών, πιπεριού, πιπεριάς κ.τ.λ. Η γεύση του πιπεριού οφείλεται στην παρουσία της πιπερίνης, ενώ η γεύση της πιπεριάς οφείλεται στην παρουσία της καψαϊκίνης.
- Το μεταλλικό ερέθισμα που αποδίδεται στα άλατα των μετάλλων, όπως του Hg, Ag, Fe, Zn.
- Κατά την ανάμιξη διαφόρων γευστικών ουσιών προκύπτει η σύνθετη γεύση που είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του γλυκού και του ξινού (αναλογία σακχάρων/οξέων) στα φρούτα (Κοντομηνάς και Τασιούλα-Μάργαρη 2003).

Οσμή

Ο μηχανισμός της όσφρησης είναι πολυπλοκότερος από εκείνον της γεύσης. Υπάρχουν χιλιάδες οσμές και η ευαισθησία του οργάνου όσφρησης είναι κατά 100.000 φορές μεγαλύτερη από τη ευαισθησία του οργάνου της γεύσης.

Όταν μια οσμηρή ένωση φτάσει στο όργανο της όσφρησης (μύτη) λαμβάνει χώρα αντίδραση μεταξύ του οσμηρού μορίου και του δέκτη της όσφρησης που οδηγεί στη δημιουργία ηλεκτρικού σήματος. Το ηλεκτρικό αυτό σήμα μέσω του νευρικού συστήματος φτάνει στον εγκέφαλο, όπου γίνεται και η ταυτοποίηση της συγκεκριμένης οσμής. Ο αριθμός των δεκτών της όσφρησης στη μύτη είναι της τάξης των 100 εκατομμυρίων. Σύμφωνα με τη θεωρία του Amoore η διάκριση των διαφορετικών οσμηρών μορίων γίνεται με βάση το μέγεθος και το σχήμα του μορίου. Οι οσμηρές αυτές ενώσεις εισχωρούν και καλύπτουν τους αντίστοιχους δέκτες της όσφρησης

Το άρωμα ενός τροφίμου είναι συνισταμένη μεγάλου αριθμού ενώσεων. Επομένως για να χαρακτηριστεί το τρόφιμο, ως προς το άρωμά, του είναι δυνατόν να απομονωθούν οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες, με μεθόδους που αναφέρονται για την ανάλυση των πτητικών συστατικών των τροφίμων. Αυτός είναι ο αντικειμενικός τρόπος προσδιορισμού του αρώματος ενός τροφίμου. Όμως πρέπει να σημειωθεί ότι για τον σκοπό αυτόν και ιδιαίτερα για το χαρακτηρισμό της γεύσης πρέπει να διεξαχθεί και οργανοληπτικός έλεγχος. Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της χρωματογραφικής ανάλυσης

μπορούν να δώσουν ολοκληρωμένα συμπεράσματα για το άρωμα των τροφίμων (Rothe 1988).

Οργάνωση οργανοληπτικού ελέγχου των τροφίμων

Ο χώρος της εξέτασης πρέπει να είναι απλός, ευχάριστος, κατάλληλα φωτισμένος, χωρίς οσμές, καλή ηχομόνωση, χωρίς φανταχτερά και γυαλιστερά χρώματα, με θερμοκρασία που κυμαίνεται από 20-22 °C. Ο κάθε δοκιμαστής διαθέτει το δικό του ανεξάρτητο χώρο.

Οι ιδιαίτεροι χώροι των δοκιμαστών πρέπει να είναι ομοιόμορφοι μεταξύ τους, ήσυχοι, ανεξάρτητοι, να έχουν ατομικό φωτισμό, άνετα και ρυθμιζόμενα καθίσματα. Η πλέον κατάλληλη ώρα για την δοκιμή των δειγμάτων είναι 10- 12 π.μ., διότι έχει παρατηρηθεί ότι εκείνη την ώρα το αίσθημα της πείνας δημιουργεί μέγιστη ευαισθησία στα αισθητήρια όργανα. Κατά την διάρκεια της οργανοληπτικής εξέτασης οι δοκιμαστές δεν πρέπει να έρχονται σε επικοινωνία μεταξύ τους. Επιπλέον, δεν θα πρέπει να έχουν καταναλώσει πριν την εξέταση αλκοόλ, τρόφιμα με πολλά μπαχαρικά και δεν θα πρέπει να έχουν καπνίσει.

Η παρουσίαση των δειγμάτων πρέπει να είναι ομοιόμορφη και ανώνυμη. Ο κάθε δοκιμαστής πρέπει να εξετάζει τα δείγματα ανεξάρτητα και να σημειώνει σε ειδικές καρτέλες τα εκάστοτε αποτελέσματά του.

Επίσης η διάρκεια της δοκιμής δεν πρέπει να ξεπερνά τα 45-60 min, ενώ ο αριθμός των δειγμάτων δεν πρέπει να ξεπερνά τα 10-15.

Οι μέθοδοι δοκιμής που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι:

- Δοκιμασία κατά ζεύγη: Είναι ο πιο απλός τρόπος σύγκρισης 2 δειγμάτων ενός τροφίμου.
- Δοκιμασία σε σχέση με ένα μάρτυρα: Κατά την μέθοδο αυτή ζητείται να συγκριθούν διάφορα δείγματα σε σχέση με το δείγμα μάρτυρα.
- Ομαδική δοκιμή: Η μέθοδος αυτή απαιτεί την σύσταση ομάδας δοκιμαστών, η οποία πρέπει να είναι ομογενής. Με τον τρόπο αυτό, το αποτέλεσμα της δοκιμασίας του δείγματος δεν εξαρτάται από την γνώμη ενός προσώπου αλλά περισσότερων (Ρηγανάκος 1996).

2. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΕΡΕΥΝΑΣ

Το αντικείμενο της παρούσας διατριβής ήταν η επίδραση του αερίου όζοντος και φυσικών αντιμικροβιακών παραγόντων (χιτοζάνη, αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου), στα φυσικοχημικά, μικροβιολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε φρέσκα μπούτια κοτόπουλου συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, αέρα και υπό κενό και συντηρούμενα υπό ψύξη, με σκοπό την αύξηση του χρόνου ζωής τους.

Πρέπει να σημειωθεί ότι μέχρι σήμερα, η συνδυαστική χρήση όζοντος με συσκευασία αέρα, κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη, δεν έχει αναφερθεί τόσο στην ελληνική όσο και στη διεθνή βιβλιογραφία σε ότι αφορά τη συντήρηση φρέσκου κρέατος από κοτόπουλου.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΥΛΙΚΑ

3.1.1 Δείγματα κοτόπουλου – Υλικά συσκευασίας

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε φρέσκο κρέας από μπούτι κοτόπουλου βάρους $250\text{g} \pm 30\text{g}$. Τα δείγματα προμηθεύτηκαν από την βιομηχανία ΠΙΝΔΟΣ Α.Ε. της περιοχής των Ιωαννίνων και σε διάστημα μίας ώρας από τη διαδικασία τεμαχισμού μεταφέρθηκαν σε ψυγεία πολυστυρολίου με προσθήκη πάγου, στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, όπου και επεξεργάστηκαν.

Τα δείγματα συσκευάστηκαν σε ειδικές σακούλες πολυστρωματικού υλικού πολυαμίδιου/πολυαιθυλενίου (PA/PE), διαστάσεων $29,5 \times 29,5 \text{ cm}$, πάχους $90 \mu\text{m}$ με διαπερατότητα στο οξυγόνο $<15 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, διαπερατότητα στο άζωτο $<15 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, διαπερατότητα στο διοξείδιο του άνθρακα $<200 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ σε συνθήκες σχετικής υγρασίας 75 % στους $23 \text{ }^\circ\text{C}$ και με διαπερατότητα στην υγρασία $<1 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ σε συνθήκες σχετικής υγρασίας 85 % στους $23 \text{ }^\circ\text{C}$.

Οι σακούλες θερμοκολλήθηκαν με τη συσκευή BOSS model N48 vacuum sealer (BOSS, Bad Homburg, Germany). Όλα τα δείγματα διατηρήθηκαν στους $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ για 16 ημέρες.

3.1.1.1 Πειραματική περίπτωση I

Στην περίπτωση αυτή έγινε χρήση αέριου όζοντος συγκέντρωσης 2, 5 και 10 ppm με χρόνο έκθεσης των δειγμάτων για 1 h. Τα δείγματα οζονίστηκαν με το σύστημα οζονισμού C-Lasky L010 (Air Tree Company, Taiwan). Η περίπτωση I περιλαμβάνει τρεις παρτίδες δειγμάτων. Ο διαχωρισμός αυτός έγινε με βάση τη συσκευασία.

Τα δείγματα της πρώτης παρτίδας (Α), συσκευάστηκαν σε αερόβια συσκευασία και διατηρήθηκαν στους $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Τα δείγματα της δεύτερης παρτίδας (Β), συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σύσταση αερίων 20% CO_2 /80% N_2 και στη συνέχεια διατηρήθηκαν στους $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Στην τρίτη παρτίδα (Γ) τα δείγματα συσκευάστηκαν σε συσκευασία υπό κενό και διατηρήθηκαν στους $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Σε όλες τις περιπτώσεις υπήρξαν και δείγματα αναφοράς.

3.1.1.2 Πειραματική περίπτωση II

Στην πειραματική περίπτωση II έγινε χρήση χιτοζάνης χαμηλού μοριακού βάρους σε σκόνη (Low Molecular Weight Chitosan, CAS number 9012-76-4, Aldrich, Athens, Greece) συγκέντρωσης 0,5, 1 και 1,5 % w/v σε διάλυμα οξικού οξέος (O.O.) 1%. Μέρος των δειγμάτων εμβαπτίστηκαν μόνο σε διάλυμα οξικού οξέος 1 % v/v (δείγματα αναφοράς). Για την παρασκευή του διαλύματος οξικού οξέος 1 % (v/v), χρησιμοποιήθηκε οξικό οξύ (glacial acetic acid, CAS number 64-19-7, Sigma-Aldrich, Greece) και απεσταγμένο νερό, το οποίο προηγουμένα είχε αποστειρωθεί προκειμένου να εξασφαλιστεί η στειρότητα του διαλύματος χιτοζάνης που θα προέκυπτε. Ακολούθησε ανάδευση της χιτοζάνης και του διαλύματος οξικού οξέος με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα, για την βέλτιστη διαλυτοποίηση αυτής, με ελαφρά θέρμανση (≤ 50 °C). Η χιτοζάνη εφαρμόστηκε στα δείγματα με εμβάπτιση.

Η περίπτωση II περιελάμβανε τρεις παρτίδες δειγμάτων. Ο διαχωρισμός αυτός έγινε με βάση τη συσκευασία.

Τα δείγματα της πρώτης παρτίδας (A), συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και διατηρήθηκαν στους 4 ± 1 °C. Τα δείγματα της δεύτερης παρτίδας (B), συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με σύσταση αερίων 20% CO₂/80% N₂ και στη συνέχεια διατηρήθηκαν στους 4 ± 1 °C. Στην τρίτη παρτίδα (Γ) τα δείγματα συσκευάστηκαν σε συσκευασία υπό κενό και διατηρήθηκαν στους 4 ± 1 °C.

3.1.1.3 Πειραματική περίπτωση III

Στην πειραματική περίπτωση III έγινε χρήση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (Chemco by Syndesmos, Essential Oil Riviera Rosemary, CAS. No. 8000-25-7, INCI Rosmarinus Officinalis Oil) σε συγκέντρωση 0,1, 0,5 και 1ml / 100g δείγματος. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες στους περιέκτες τους και μετά από ζύγισή τους προστέθηκε με πιπέτα σταθερού όγκου η ανάλογη ποσότητα αιθέριου ελαίου. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μάλαξη αυτών μέσα στη συσκευασία τους, έτσι ώστε να γίνει ομοιόμορφη κάλυψή τους. Η περίπτωση III περιελάμβανε τρεις παρτίδες δειγμάτων. Ο διαχωρισμός αυτός έγινε με βάση τη συσκευασία.

Τα δείγματα της πρώτης παρτίδας (A), συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και διατηρήθηκαν στους 4 ± 1 °C. Τα δείγματα της δεύτερης παρτίδας (B), συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με σύσταση αερίων 20% CO₂/80% N₂ και στη συνέχεια διατηρήθηκαν στους 4 ± 1 °C. Στην τρίτη παρτίδα (Γ) τα δείγματα συσκευάστηκαν σε συσκευασία υπό κενό και διατηρήθηκαν στους 4 ± 1 °C.

3.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1 Φυσικοχημικές αναλύσεις

3.2.1.1 Μέτρηση χρώματος

Η μέτρηση έγινε με χρωματόμετρο Hunter Lab, μοντέλο DP-25L Optical Senson colorimeter (Reston VA, USA). Το χρωματόμετρο βαθμονομήθηκε με το λευκό και μαύρο πλακίδιο πριν από κάθε μέτρηση. Για τον προσδιορισμό του χρώματος χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από φιλέτο μπούτι κοτόπουλου μαζί με το δέρμα τα οποία τοποθετήθηκαν στις ειδικές τετράγωνες πλάκες. Κάθε δείγμα μετρήθηκε πέντε φορές, στρέφοντας κάθε φορά την πλάκα κατά 70°. Για κάθε προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκαν 3 δείγματα της κάθε επεξεργασίας (n=3) και τα αποτελέσματα ήταν ο μέσος όρος των 3 τιμών.

3.2.1.2 pH

Για τη μέτρηση του pH χρησιμοποιήθηκε πεχάμετρο Delta OHM, model HD 3456.2 (Padova, Italy) ως εξής: 10 g δείγματος ομογενοποιήθηκαν με 90 ml απεσταγμένου ύδατος (pH=7,0) και στο διάλυμα έγινε εμβάπτιση του ηλεκτροδίου του οργάνου και μετρήθηκε το pH.

3.2.2 Μικροβιολογικές αναλύσεις

Εξετάστηκαν τα ακόλουθα είδη μικροοργανισμών: Ψευδομονάδες (*Pseudomonas* spp.), Οξυγαλακτικά βακτήρια (*Lactic Acid Bacteria*), Εντεροβακτήρια (*Enterobacteriaceae*), Ζύμες-Μύκητες και η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX).

Πειραματική πορεία

Ποσότητα 10 g από τα συσκευασμένα μπούτια κοτόπουλου, μεταφέρθηκαν ασηπτικά σε σακούλα Stomacher (Seward Medical, Worthing, West Sussex, UK), που περιείχε 90 ml διαλύματος πεπτονόχου νερού (peptone water) 0,1 % και ομογενοποιήθηκαν για 60 sec με τη χρήση του Lab Blender Stomacher (Seward Medical, London, UK).

Για την μικροβιακή απαρίθμηση 0,1 ml από διαδοχικές αραιώσεις ομογενοποιημένου δείγματος, επιστρώθηκαν στην επιφάνεια στερεού θρεπτικού υλικού. Η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας το θρεπτικό

υλικό Plate Count Agar (LabM Lab010), μετά από επώαση για 48 h στους 30°C, οι ψευδομονάδες προσδιορίστηκαν στο Ceftrimide Fusidin Cephaloridine Agar (LabM X108, με αντιβιοτικό Modified CFC, LabM X 1080), όπου επώαστηκαν στους 30°C για 48 h. Για τον προσδιορισμό των ζυμών και μυκήτων χρησιμοποιήθηκε το υλικό Rose Bengal Chloramphenicol Agar (LabM lab036) και η επώαση έγινε στους 30°C για 3 ημέρες. Για τα εντεροβακτήρια και τα γαλακτικά βακτήρια ο προσδιορισμός έγινε με ενσωμάτωση 1 ml δείγματος σε 15 περίπου ml λιωμένου (45 °C) Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA, LabM lab088) και Man Rogosa Sharpe Agar (LabM, lab223) αντίστοιχα. Μετά την στερεοποίηση του πρώτου στρώματος άγαρ ακολούθησε προσθήκη ενός επιπλέον στρώματος περίπου 10 ml του αντίστοιχου άγαρ. Για τα εντεροβακτήρια η επώαση έγινε στους 37°C για 24 h και μετρήθηκαν μόνο οι χαρακτηριστικές αποικίες που περιβάλλονταν από μια ρόδινη άλω. Τα γαλακτικά βακτήρια επώαστηκαν στους 30°C για 3 ημέρες.

Σε όλες τις περιπτώσεις η καταμέτρηση των αποικιών για τον προσδιορισμό των πληθυσμών, έγινε στα τρυβλία εκείνα που ο αριθμός των αποικιών ήταν μεταξύ 20-300. Οι αναλύσεις έγιναν εις τριπλούν. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε δεκαδικό λογάριθμο του αριθμού των αποικιών ανά γραμμάριο τροφίμου (colony forming units cfu/g).

3.2.3 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Μια ομάδα τεσσάρων εκπαιδευμένων δοκιμαστών αξιολόγησε τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (οσμή, υφή, εμφάνιση και γεύση) του κρέατος κοτόπουλου για κάθε ημέρα δειγματοληψίας. Ποσότητα ίση με 100 g μαγειρεύτηκε στο φούρνο μικροκυμάτων για 4 min στα 700W. Τα δείγματα δόθηκαν στους δοκιμαστές (25 g στον καθένα) για οργανοληπτική εξέταση. Η αξιολόγηση των δειγμάτων έγινε σε μεμονωμένους χώρους, ώστε να μην επηρεάζονται οι δοκιμαστές. Για την οργανοληπτική εξέταση χρησιμοποιήθηκε κλίμακα με βαθμονόμηση 0 - 5, όπου το 3 αντιπροσωπεύει το όριο, κάτω από το οποίο τα δείγματα θεωρήθηκαν ακατάλληλα για κατανάλωση. Δείγματα με πληθυσμούς O.M.X. μεγαλύτερους από 7 log cfu/g θεωρήθηκαν ακατάλληλα για κατανάλωση. Επίσης δείγματα που περιείχαν αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1% δεν αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά λόγω της εξαιρετικά έντονης οσμής. Ταυτόχρονα δόθηκαν για σύγκριση δείγματα μάρτυρες, τα οποία είχαν καταψυχθεί στην έναρξη των πειραμάτων στους -28 °C.

3.2.4 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με χρήση του λογισμικού SPSS (Version 20 for Windows, SPSS, Chicago, IL. USA). Η σύγκριση των μέσων όρων των τιμών των παραμέτρων που μελετήθηκαν, έγινε με εφαρμογή της one-way ANOVA. Υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις, με τον συντελεστή p να είναι μικρότερος της τιμής 0,05, στην περίπτωση ύπαρξης στατιστικής διαφοράς μεταξύ των τιμών

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

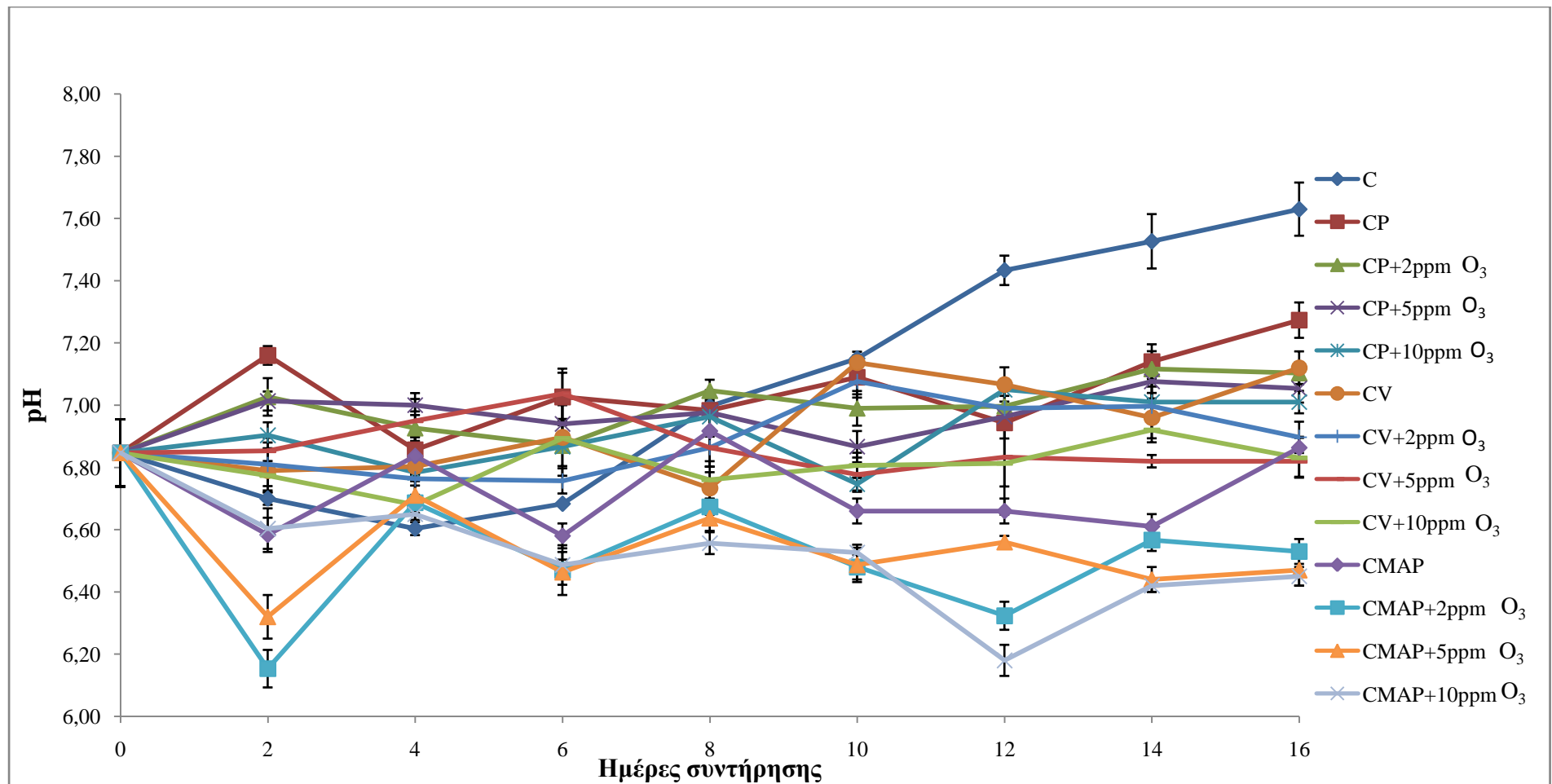
4.1 Πειραματική περίπτωση I

Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένης ατμόσφαιρας στον χρόνο ζωής σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

4.1.1 Χημικές αναλύσεις

4.1.1.1 pH

Στο **γράφημα 1** παρουσιάζεται η μεταβολή του pH κατά την συντήρηση στα νωπά μπούτια κοτόπουλου σε α) αερόβια συσκευασία, β) συσκευασία υπό κενό, γ) συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, με προσθήκη 2, 5 και 10 ppm αέριου όζοντος, καθώς και των δειγμάτων αναφοράς.



Γράφημα 1. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στο pH σε νωπά μούτια κοτόπουλου.

Για την περίπτωση των δειγμάτων που δεν συσκευάστηκαν και δεν επεξεργάστηκαν με αέριο όζον (μάρτυρες), οι τιμές του pH κυμάνθηκαν από αρχική τιμή 6,85 έως 7,63 (16^η ημέρα), ενώ για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβια συσκευασία και δεν οζονίστηκαν η τιμή του pH την 16^η ημέρα ήταν 7,27. Η χρήση της αερόβιας συσκευασίας και του αερίου όζοντος σε συγκεντρώσεις 2, 5 και 10 ppm, έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) τόσο κατά την διάρκεια της αποθήκευσης όσο και μεταξύ των επεμβάσεων. Οι αντίστοιχες τιμές των παραπάνω δειγμάτων την 16^η ημέρα του πειράματος ήταν 7,10, 7,05 και 7,01. Αυτές οι διαφορές μπορεί να οφείλονται στις αυξομειώσεις του γαλακτικού οξέος μέσω του μεταβολισμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Chouliara et al 2007 β).

Στα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και δεν επεξεργάστηκαν με αέριο όζον (μάρτυρες) η τιμή του pH την 16^η ημέρα ήταν 7,12, ενώ οι τιμές του pH για τα συσκευασμένα υπό κενό και επεξεργασμένα με όζον συγκέντρωσης 2, 5 και 10 ppm δείγματα, ήταν αντίστοιχα 6,90, 6,82 και 6,83. Κατά την διάρκεια της αποθήκευσης παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για τα δείγματα μάρτυρες καθώς επίσης και για τα δείγματα που οζονίστηκαν σε συγκεντρώσεις 2 και 5 ppm. Αντίθετα, στα δείγματα που εκτέθηκαν σε αέριο όζον συγκέντρωσης 10 ppm και συσκευάστηκαν υπό κενό δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) καθ'όλη την διάρκεια της μελέτης. Οι Kuscu and Pazir (2004) έδειξαν ότι η μείωση του pH αυξάνει την αποτελεσματικότητα του όζοντος, δεδομένου ότι το pH μειώνει σημαντικά το ρυθμό αποσύνθεσης του όζοντος. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από την κινητική της αδρανοποίησης του *E. coli*, όπου η αδρανοποίηση ήταν ταχύτερη σε όξινο περιβάλλον, σε σχέση με βασικό. Για παράδειγμα, η αδρανοποίηση του *E. coli* σε νερό (10^8 CFU / ml) με ρυθμό ροής 2 L / min, συγκέντρωση όζοντος 0,90 mg / L και θερμοκρασία δωματίου, οδήγησε σε υψηλότερο ρυθμό αδρανοποίησής του σε pH 4,93 σε σχέση με pH 9,16 (Zuma et al 2009). Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε ότι το pH μειώθηκε περισσότερο στα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και εκτέθηκαν σε συγκέντρωση όζοντος 5 και 10 ppm σε σύγκριση με τα δείγματα αναφοράς.

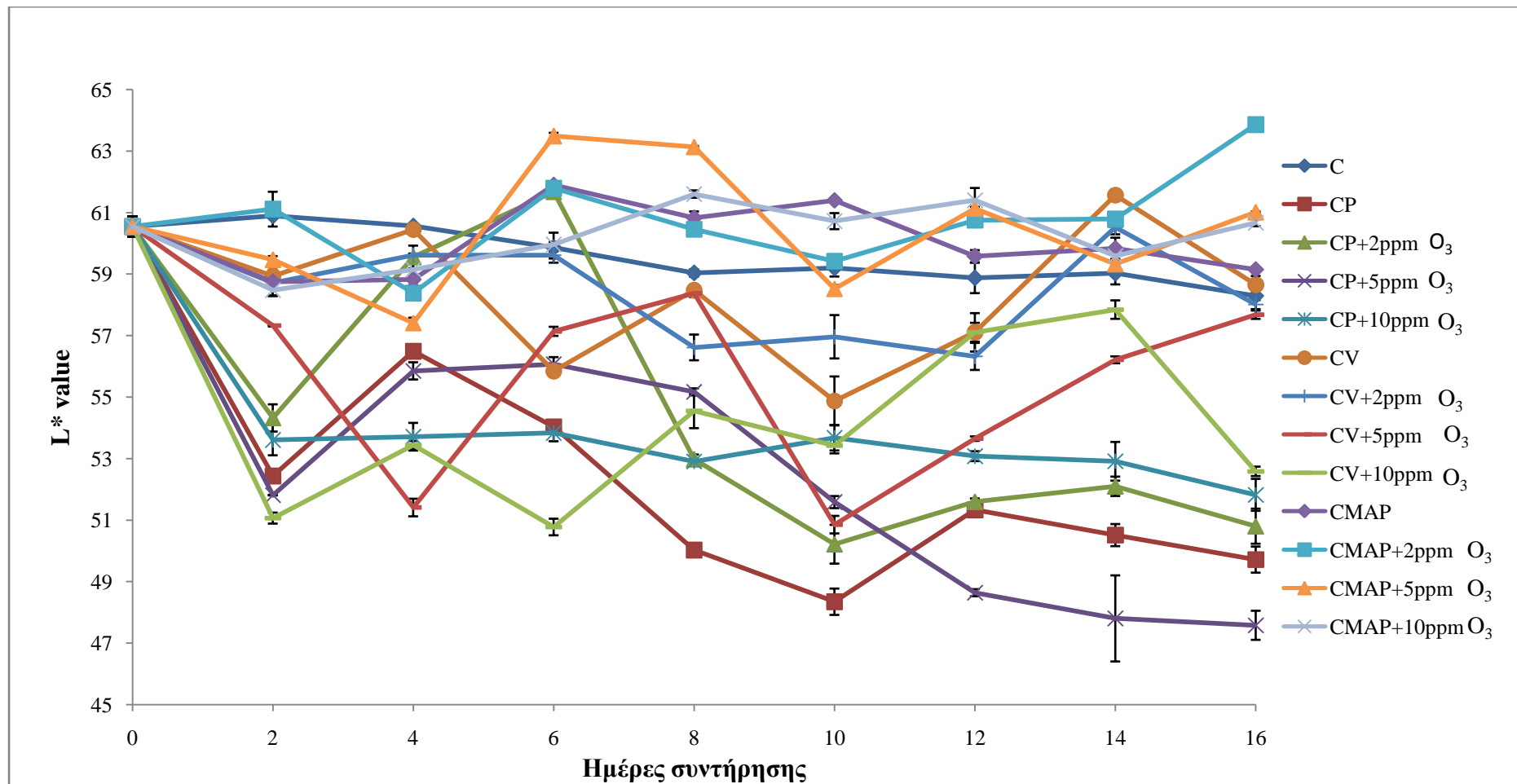
Στα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με αναλογία αερίων 20%CO₂/80%N₂ (μάρτυρες) η τιμή του pH την 16^η ημέρα ήταν 6,86, ενώ οι τιμές του pH για τα συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργασμένα με όζον συγκέντρωσης 2, 5 και 10 ppm δείγματα, οι τιμές ήταν αντίστοιχα 6,53, 6,47, 6,45. Όλες οι μεταχειρίσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε συνάρτηση με τον χρόνο συντήρησης. Η χρήση αερίου

όζοντος δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των διαφορετικών δόσεων οζονισμού. Αντίθετα, παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) μεταξύ των οζονισμένων δειγμάτων, των συσκευασμένων σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα μη οζονισμένων δειγμάτων καθώς επίσης και των δειγμάτων αναφοράς. Σύμφωνα με τους Sorheim et al (2004), η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα 100% CO₂ προκάλεσε ελάττωση στην τιμή του pH κατά 0,12 μονάδες από ότι σε δείγματα κρέατος που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα 100% N₂ και σε κενό. Επίσης η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα 50%CO₂/50%N₂ είχε ως αποτέλεσμα τη μικρή ελάττωση του pH σε σχέση με τα δείγματα που δεν συσκευάστηκαν σε ατμόσφαιρα CO₂. Επιπρόσθετα, η πτώση του pH σε προϊόντα κρέατος εξαρτάται και από την διαθεσιμότητα σε μεταβολίσιμα υποστρώματα σακχάρων. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση σε σάκχαρα, τόσο μεγαλύτερη είναι η αναμενόμενη πτώση του pH (Pexara et al 2002).

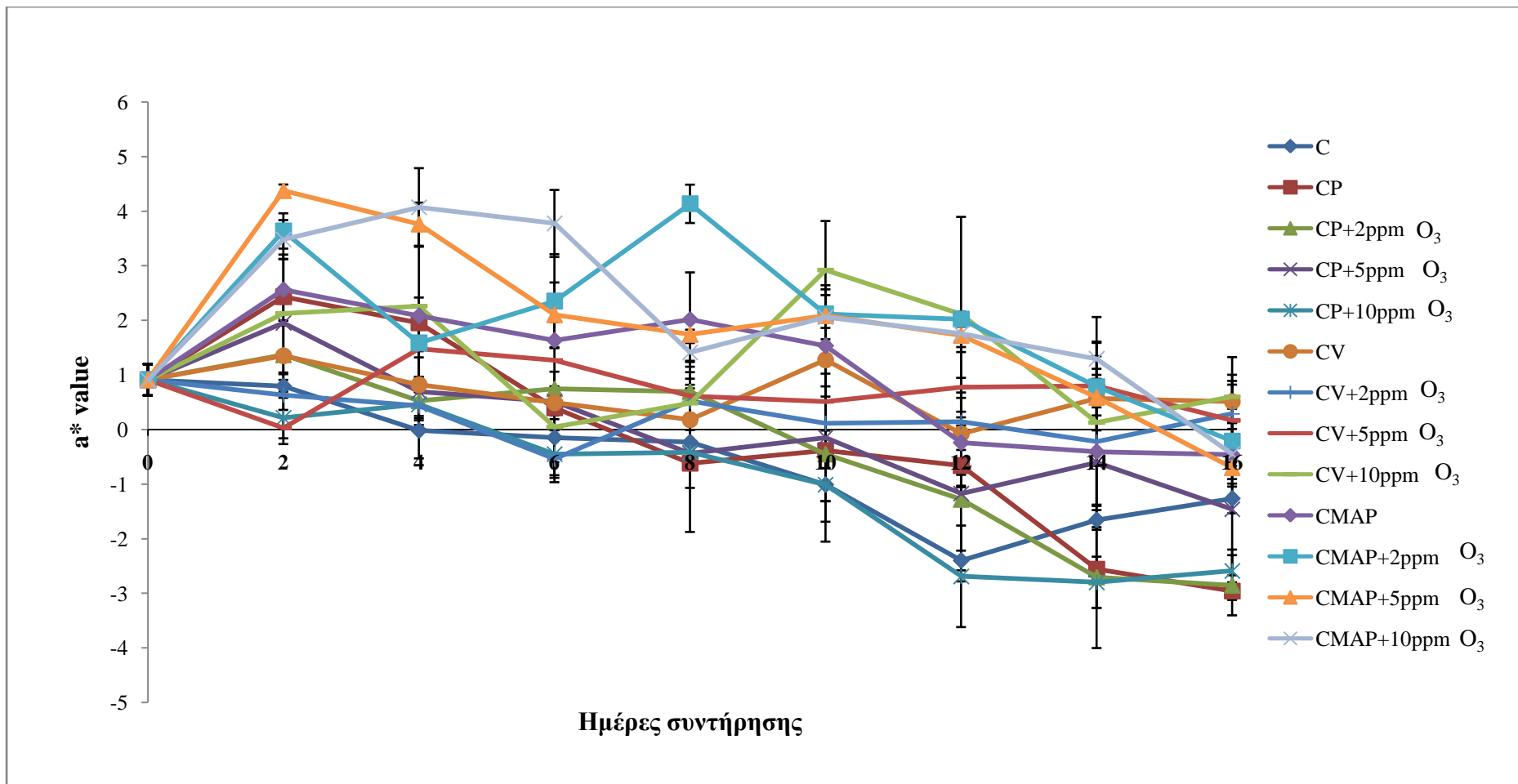
4.1.1.2 Χρώμα

Η μεταβολή του χρώματος κατά την συντήρηση προϊόντων κρέατος αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα για την αποδοχή τους από τους καταναλωτές, εφόσον το κριτήριο του χρώματος χρησιμοποιείται συχνά ως ένδειξη φρεσκότητας ενός προϊόντος (Mancimi and Hunt 2005).

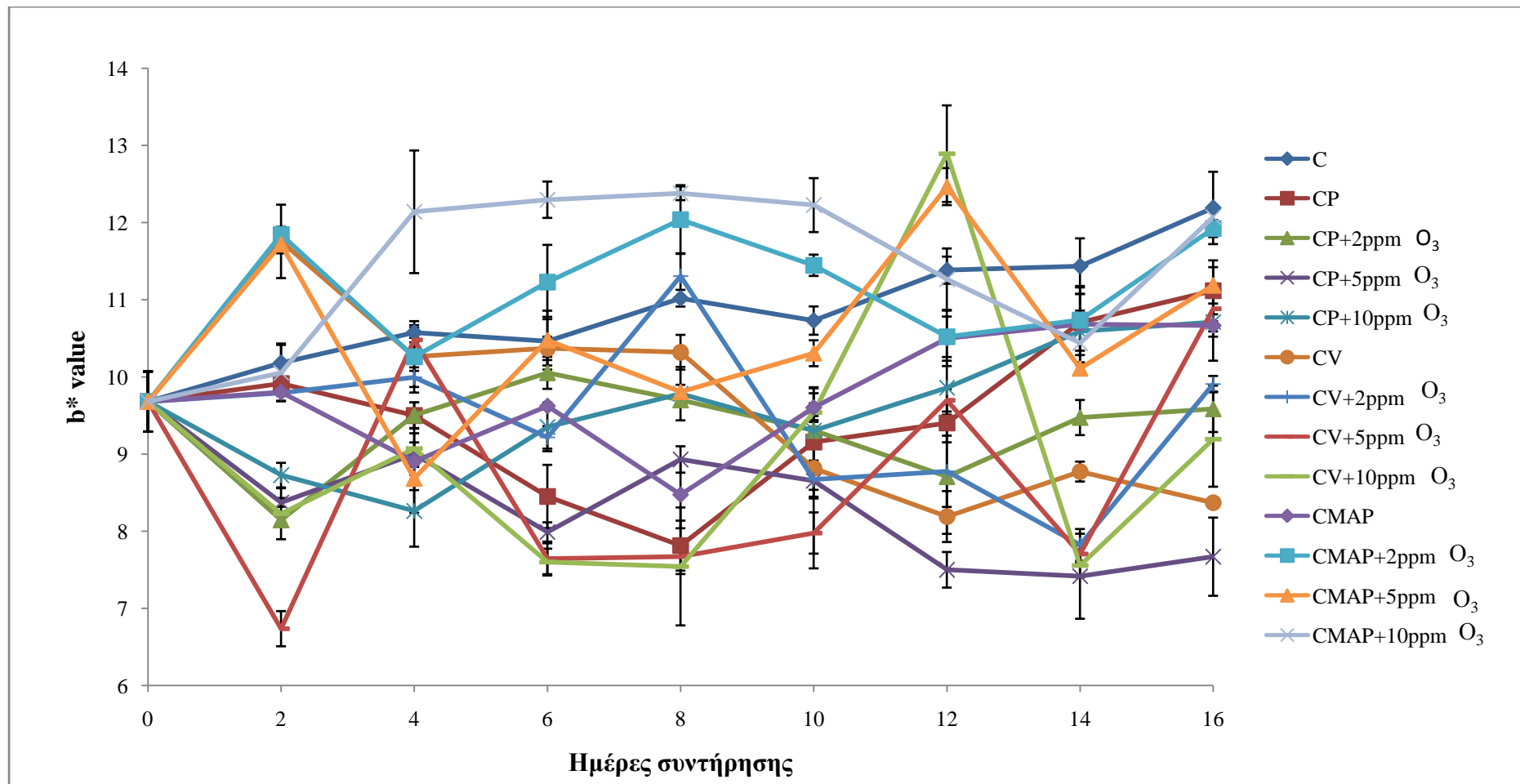
Στα **γραφήματα 2, 3 και 4**, φαίνεται η επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αέριου όζοντος, συγκεντρώσεων 2, 5 και 10 ppm, της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές των παραμέτρων L* (φωτεινότητα), a* (ερυθρότητα) και b* (κίτρινη απόχρωση), του χρώματος στα νωπά μπουτία κοτόπουλου.



Γράφημα 2. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου L* στα νωπά μούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 3. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου a* στα νωπά μούτσια κοτόπουλου.



Γράφημα 4. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου b* στα νωπά μούτσια κοτόπουλου.

Παρατηρήθηκε μία τάση ελάττωσης των τιμών L^* σε όλα τα δείγματα που εκτέθηκαν σε αέριο όζον και συσκευάστηκαν τόσο στον αέρα, όσο και σε συσκευασία υπό κενό κατά τη διάρκεια των 16 ημερών του πειράματος (**γράφημα 2**). Αντίθετα τα δείγματα που εκτέθηκαν σε αέριο όζον και συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (20%CO₂/80%N₂), δεν παρουσίασαν αξιοσημείωτη μεταβολή της τιμής L^* καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος. Για τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες, οι τιμές για την παράμετρο L^* ήταν 60,55 και 58,29, για την έναρξη του χρόνου συντήρησης και την 16^η ημέρα αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα των Chouliara et al (2007 β), οι οποίοι αναφέρουν μείωση των τιμών της φωτεινότητας σε φιλέτο κοτόπουλου που συντηρήθηκε αερόβια στους 4 °C. Οι Sheldon and Brown (1986) ανέφεραν ότι τα σφάγια πουλερικών δεν επηρεάζονται από την επεξεργασία με όζον, δεδομένου ότι δεν παρατηρήθηκε απώλεια των χρωμάτων του δέρματος. Η σταδιακή ελάττωση της παραμέτρου L^* σχετίζεται με την απώλεια της φωτεινότητας στα δείγματα κοτόπουλου με αποτέλεσμα την θολή όψη, κυρίως λόγω της μικροβιακής αλλοίωσης που έλαβε χώρα στην επιφάνεια του κοτόπουλου δημιουργώντας μία γλοιώδη επιφάνεια (Ahn et al 1998). Επιπλέον, σύμφωνα με τους McDougall et al (1982) οι μεταβολές στις τιμές L^* αποδίδονται σε αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στην δομή του κρέατος κατά την συντήρηση και ιδιαίτερα στην μετουσίωση των πρωτεϊνών.

Όπως φαίνεται στο **γράφημα 3**, η αρχική τιμή της ερυθρότητας στα δείγματα του μάρτυρα ήταν 0,91. Στη συνέχεια και έως την 16^η ημέρα συντήρησης, η ερυθρότητα μειώθηκε στην τιμή -1,26. Τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τους Keokammerd et al (2008), που αναφέρουν ότι η ερυθρότητα προϊόντος από μπούτι κοτόπουλου, αυξήθηκε ελαφρώς από την αρχική τιμή, αλλά στην συνέχεια της περιόδου συντήρησης μειώθηκε σημαντικά. Παρόμοια τάση εμφάνισαν και τα δείγματα, στα οποία προστέθηκε αέριο όζον σε συγκεντρώσεις 2, 5 και 10 ppm και συσκευάστηκαν σε αερόβια συσκευασία και υπό κενό.

Οι τιμές για τα δείγματα που οζονίστηκαν σε συγκεντρώσεις όζοντος 2, 5 και 10 ppm και συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα παρουσίασαν μια αυξητική τάση από την αρχική τιμή (0,91) μέχρι και την 8^η ημέρα (4,13, 1,74 και 1,41 αντίστοιχα), ενώ στη συνέχεια και έως και την 16^η ημέρα συντήρησης η ερυθρότητα μειώθηκε. Οι Cayuela et al (2004) βρήκαν υψηλότερες τιμές a^* για χοιρινό κρέας σε

MAP από ότι σε αερόβια συσκευασία. Ανάλογα είναι τα αποτελέσματα των Ahn et al (1998), οι οποίοι ανέφεραν υψηλότερες τιμές a^* για χοιρινό κρέας συσκευασμένο υπό κενό από ότι σε αερόβια συσκευασία.

Παρόμοια μεταβλητότητα βρέθηκε και για την παράμετρο b^* (**γράφημα 4**), όπου οι τιμές ποικίλλουν μεταξύ των ημερών αποθήκευσης και των επεξεργασιών (αρχική τιμή 9,68). Η παράμετρος b^* αντιστοιχεί στο κίτρινο χρώμα (όταν είναι θετικό) και στο μπλε χρώμα (όταν είναι αρνητικό) (Commission Internationale del' Eclairage, CIE).

Για τα οξονισμένα και συσκευασμένα σε αερόβια συσκευασία, σε συσκευασία υπό κενό και σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας δείγματα, οι τιμές b^* δεν επηρεάστηκαν ($p > 0,05$) από τις διάφορες συγκεντρώσεις όζοντος εκτός από τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον συγκέντρωσης 10 ppm και συσκευάστηκαν σε MAP ($p < 0,05$), ενώ οι διακυμάνσεις τους εξαρτώνται στατιστικά σημαντικά ($p < 0,05$) από το χρόνο αποθήκευσης. Αυτές οι διακυμάνσεις είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν από τους Chouliara et al (2007 β). Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας αναλογίας αερίων 20%CO₂/80%N₂ και εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις όζοντος καθώς και τα δείγματα αναφοράς αυτών (συσκευασμένα σε MAP - μη οξονισμένα), παρουσίασαν υψηλότερες τιμές της παραμέτρου b^* σε σχέση με τα υπόλοιπα επεξεργασμένα και συσκευασμένα δείγματα. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με αυτά των Doherty et al (1996), οι οποίοι ανέφεραν μικρή αύξηση στις τιμές της παραμέτρου b^* του χρώματος κρέατος αρνιού, που συσκευάστηκε σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (20% CO₂/80% O₂ και 50% CO₂/50% O₂) και συντηρήθηκε στους 5 °C. Η αύξηση ήταν ανάλογη με το ποσοστό του CO₂ που χρησιμοποιήθηκε.

4.1.2 Μικροβιολογικές αναλύσεις

4.1.2.1 Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (O.M.X.)

Ως ενδεικτικός πληθυσμός της μικροβιολογικής αλλοίωσης τροφίμων θεωρείται το 7 log CFU/g ή 10⁷ CFU/g (ICMSF 1986).

Στο **γράφημα 5** φαίνεται η επίδραση του αέριου όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (O.M.X.) στα νωπά μπούτια κοτόπουλου.

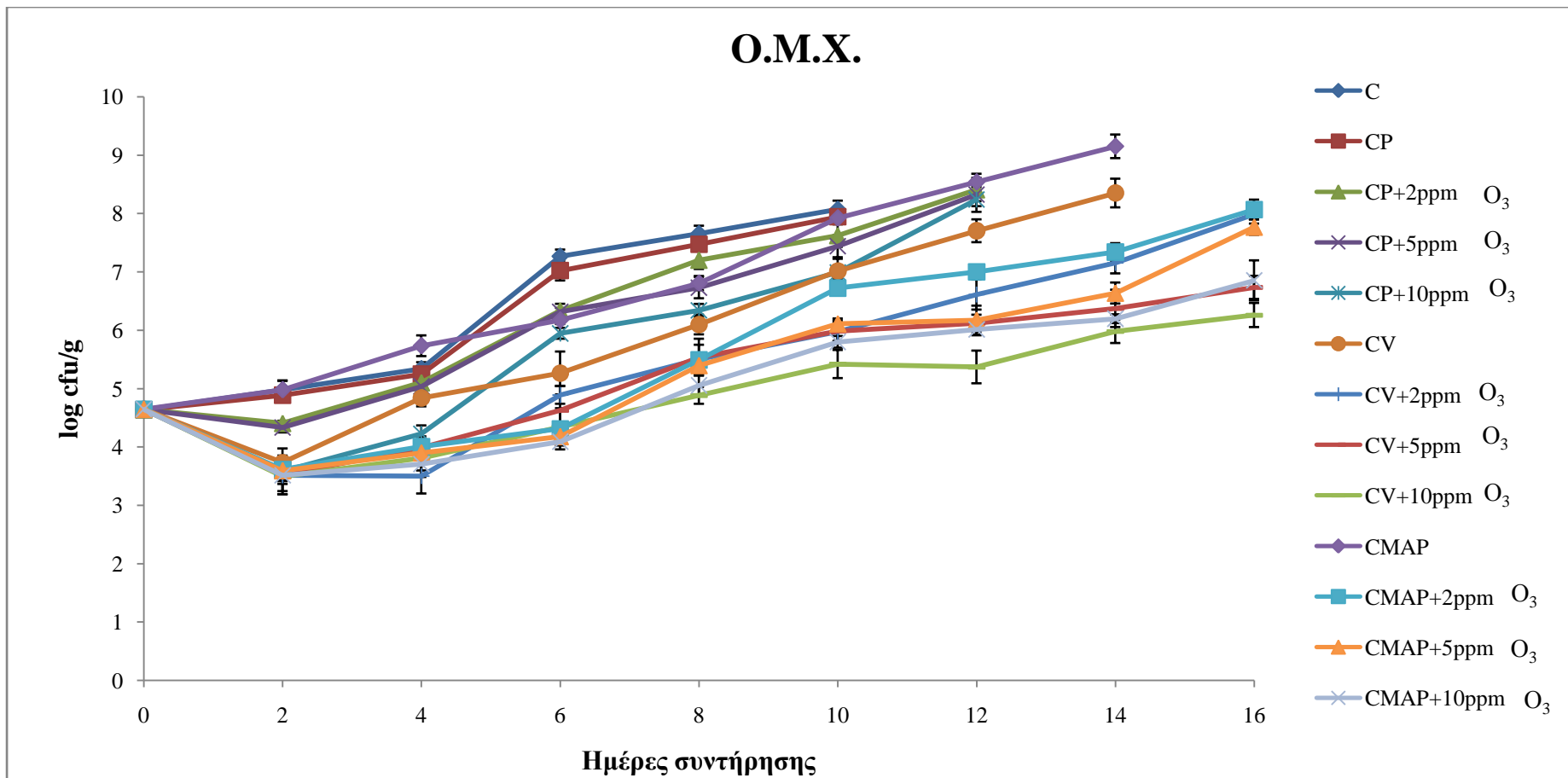
Με βάση το ανώτατο όριο της O.M.X. ($7 \log \text{CFU/g}$) και τα αποτελέσματα του **γραφήματος 5**, οι μάρτυρες (νωπό κρέας κοτόπουλου) είχαν χρόνο ζωής 5 ημέρες περίπου. Το αρχικό μικροβιακό φορτίο των $4,65 \log \text{CFU/g}$ αντιστοιχεί σε καλή ποιότητα κρέατος, απαλλαγμένη από τυχόν επιμολύνσεις (Dawson et al 1995).

Η αερόβια συσκευασία χωρίς προσθήκη όζοντος (μάρτυρας) και με προσθήκη όζοντος 2 ppm, επηρέασε ελάχιστα την επιμήκυνση του χρόνου ζωής (0 - 1 ημέρες), ενώ η συσκευασία σε αέρα και προσθήκη όζοντος 5 και 10 ppm, αύξησαν τον χρόνο ζωής των δειγμάτων κατά 3 και 5 ημέρες αντίστοιχα.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό, αλλά δεν επεξεργάστηκαν με αέριο όζον, ξεπέρασαν το κατώφλι του ορίου αλλοίωσης την 10^η ημέρα συντήρησής τους, ενώ εκείνα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον 2 ppm την 12^η ημέρα. Αντίθετα τα συσκευασμένα υπό κενό και οζονισμένα με συγκεντρώσεις όζοντος 5 και 10 ppm δεν ξεπέρασαν το όριο του $7 \log \text{CFU/g}$ μέχρι το τέλος του πειράματος.

Η κατεργασία με όζον συγκέντρωσης 2, 5 και 10 ppm και η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ζωής στα νωπά μπούτια κοτόπουλου, κατά 4, 6 και 8 ημέρες αντίστοιχα, σε σχέση με τα συσκευασμένα σε MAP μη οζονισμένα δείγματα (8 ημέρες).

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπάρχουν σε όλα τα δείγματα σημαντικά στατιστικές διαφορές ($p < 0,05$), τόσο ως προς τον χρόνο συντήρησης όσο και ως προς τη δόση οζονισμού και τη συσκευασία. Εξαίρεση αποτελούν τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και εκτέθηκαν σε συγκεντρώσεις όζοντος 2 και 5 ppm, όπως επίσης και τα δείγματα αναφοράς CP και CMAP, στα οποία δεν παρατηρήθηκαν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ τους ($p > 0,05$).



Γράφημα 5. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα των Chouliara et al (2007 β), οι οποίοι ανέφεραν ότι η διάρκεια συντήρησης νωπού φιλέτου από στήθος κοτόπουλου σε αερόβια συσκευασία ήταν 6 ημέρες ενώ σε συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με αναλογία αερίων 30%CO₂/70%N₂ ήταν 9 ημέρες.

Οι Kakouri and Nychas (1994) μελέτησαν την επίδραση της συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και σε κενό και παρατήρησαν ελάττωση στους πληθυσμούς της O.M.X. φιλέτων κοτόπουλου, σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες. Επίσης οι Holley et al (1993) παρατήρησαν ότι στη συσκευασία κενού, παράγεται CO₂ λόγω της αναπνευστικής δραστηριότητας μικροοργανισμών (κυρίως μικροαερόφιλων / δυνητικών αναερόβιων) και η συγκέντρωσή του αυξάνεται από 10-40%.

Όσον αφορά μελέτες που έγιναν σε άλλα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, οι Soldatou et al (2009) μελέτησαν τις φυσικοχημικές και μικροβιολογικές μεταβολές, που έλαβαν χώρα σε σουβλάκι από αρνίσιο κρέας, το οποίο συντηρήθηκε υπό συσκευασία κενού στους 4 °C και βρήκαν ότι τα δείγματα του μάρτυρα σε αερόβια συσκευασία είχαν χρόνο ζωής 5 ημέρες, ενώ τα δείγματα σε συσκευασία κενού έφτασαν τις 10 ημέρες.

Όσον αφορά τις δόσεις οζονισμού, από την παρούσα μελέτη φαίνεται ότι αυξάνοντας τις συγκεντρώσεις του όζοντος, αυξάνεται και η αντιμικροβιακή δράση αυτού. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν από τους Manousaridis et al (2005) και Cardenas et al (2011) όπου αυξάνοντας τον χρόνο οζονισμού, αυξήθηκε και η αντιμικροβιακή δράση, μειώνοντας έτσι τον πληθυσμό της O.M.X κατά 1 και 2 log CFU/g σε δείγματα μυδιών και μοσχαρίσιου κρέατος αντίστοιχα.

Από τα παραπάνω, είναι φανερό ότι υπήρξε συνεργιστική δράση του αέριου όζοντος και των συσκευασιών υπό κενό και τροποποιημένης ατμόσφαιρας (20%CO₂/80%N₂) στην επιμήκυνση του χρόνου ζωής του νωπού κρέατος από μπούτι κοτόπουλου. Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν με χρήση των εξής συνδυασμών κατά σειρά:

CV+10ppm, CV+5ppm, CMAP+10ppm, CMAP+5ppm, CV+2ppm, CMAP+2ppm, CV, CP+10ppm, CMAP, CP+5ppm, CP+2ppm, CP, C.

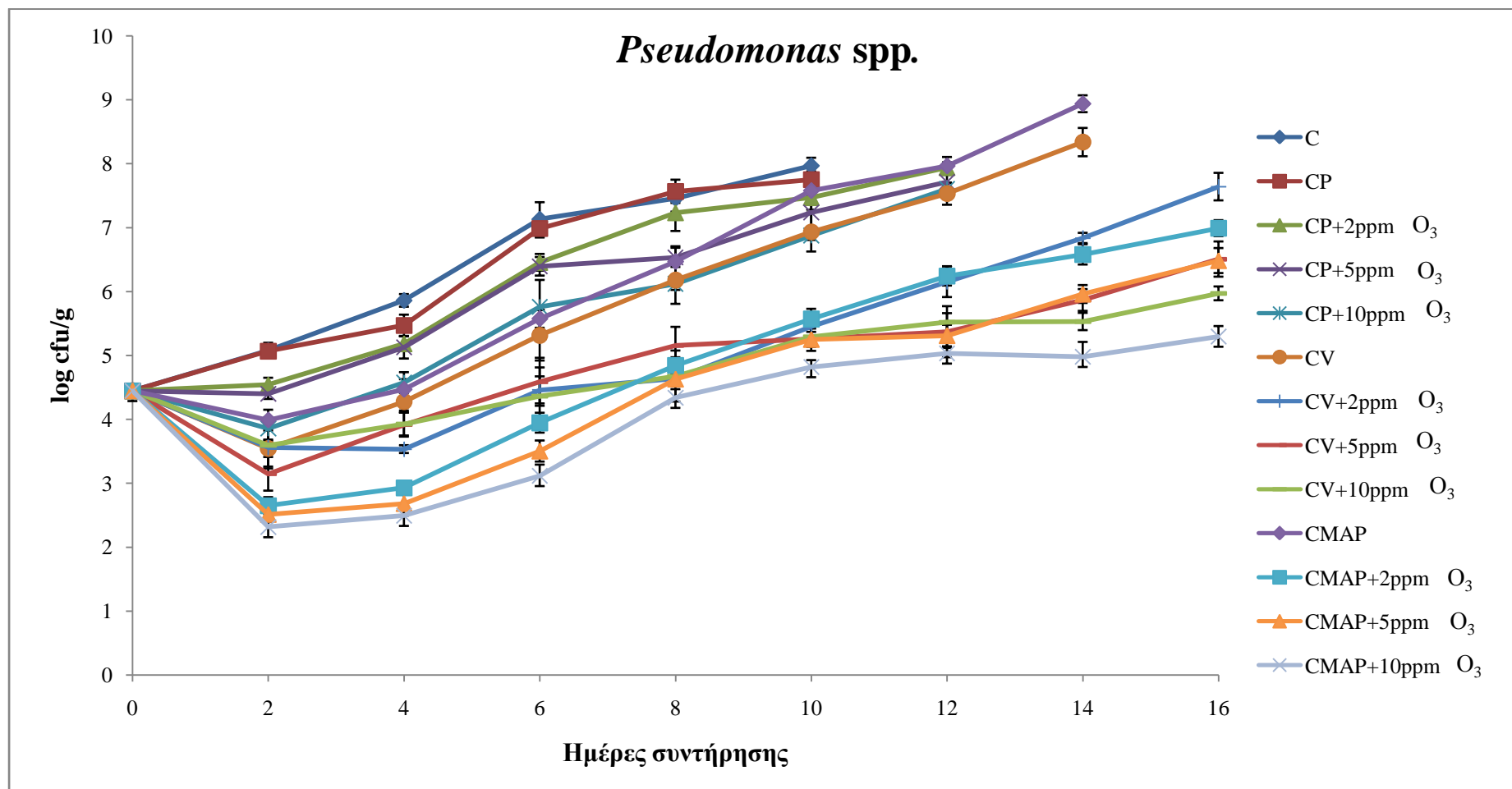
4.1.2.2 Ψευδομονάδες (*Pseudomonas* spp.)

Οι *Pseudomonas* spp. είναι μια κατηγορία αυστηρά αερόβιων μικροοργανισμών, που θεωρούνται αλλοιογόνοι για το κόκκινο κρέας και το κοτόπουλο (Jay 1986). Η ανάπτυξή τους σχετίζεται με την δημιουργία δύσοσμων ενώσεων και την εμφάνιση γλοιώδους στρώματος στην επιφάνεια του κοτόπουλου.

Στο **γράφημα 6** φαίνεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των ψευδομονάδων στα νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των ψευδομονάδων ήταν 4.45 log CFU/g. Σύμφωνα με το **γράφημα 6**, την 6^η ημέρα συντήρησης ο πληθυσμός τους έφτασε τους 7,13 log CFU/g για τα δείγματα αναφοράς (μη συσκευασμένα-μη επεξεργασμένα δείγματα). Για τα δείγματα CP, CP+2ppm, CP+5ppm και CP+10ppm, ο πληθυσμός των ψευδομονάδων έφτασε το όριο του 7 log CFU/g την 6^η, 7^η, 9^η και 11^η ημέρα αντίστοιχα.

Τα δείγματα σε συσκευασία υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα (μάρτυρες), ξεπέρασαν το όριο του 7 log CFU/g την 11^η και την 9^η ημέρα αντίστοιχα. Όσον αφορά τις δόσεις οζονισμού για τα συσκευασμένα σε κενό και MAP δείγματα, παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα που εκτέθηκαν σε αέριο όζον 2ppm έφτασαν το όριο αποδοχής την 15^η και 16^η ημέρα αντίστοιχα, ενώ για τις δόσεις οζονισμού 5 και 10 ppm και για τις δύο παραπάνω συσκευασίες ο πληθυσμός των ψευδομονάδων δεν ανήλθε πάνω από το όριο του 7 log CFU/g μέχρι και το τέλος του πειράματος.



Γράφημα 6. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των βακτηρίων *Pseudomonas* spp. σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Όσον αφορά την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, αυτή έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$), τόσο κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης, όσο και μεταξύ των επεμβάσεων. Εξαίρεση αποτελούν τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και επεξεργάστηκαν με αέριο όζον συγκέντρωσης 5 και 10 ppm, καθώς επίσης και τα δείγματα αναφοράς C και CP ($p > 0,05$).

Το όζον, όπως ήταν αναμενόμενο, παρουσίασε έντονη αντιμικροβιακή δράση έναντι των αρνητικών κατά Gram ψευδομονάδων. Η έντονη αυτή αντιμικροβιακή δράση πιθανόν οφείλεται στην ικανότητα να διαπερνά την εξωτερική μεμβράνη, που περιβάλλει τα κύτταρα των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.

Οι Manousaridis et al (2005) παρατήρησαν ότι με τη χρήση οζονισμένου νερού συγκέντρωσης 1 mg/l για 90 min σε φρέσκα μύδια, μειώθηκε ο πληθυσμός των ψευδομονάδων κατά 0,5-1 log CFU/g. Επίσης οι Koess and Weideman (1968) παρατήρησαν ότι η φάση υστέρησης στην καμπύλη ανάπτυξης σε κάποια είδη ψευδομονάδων ήταν αισθητά παρατεταμένη όταν επεξεργάστηκαν με αέριο όζον μεταξύ 0,15 και 5 mg/m³. Οι Yang and Chen (1979) απέδειξαν ότι το όζον ασκεί σημαντική βακτηριοκτόνο επίδραση καταστρέφοντας μεγάλο μέρος από τα Gram αρνητικά βακτήρια που βρίσκονται σε φρέσκο κρέας πουλερικών.

Οι Haddad-All et al (2005) σε έρευνα που πραγματοποίησαν σε νωπό φιλέτο από στήθος κοτόπουλου, με συγκέντρωση αερίου όζοντος 2000 ppm για 30 min και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε αναλογία αερίων 70%CO₂/30%N₂, παρατήρησαν σημαντική μείωση των ψευδομονάδων της τάξεως του 95% για τα συσκευασμένα και οζονισμένα δείγματα και 58 % για τα δείγματα σε συσκευασία MAP και χωρίς προσθήκη αερίου όζοντος.

Στη βιβλιογραφία μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί πολυάριθμες μελέτες, στις οποίες η χρήση διαφόρων συγκεντρώσεων CO₂ είναι αποτελεσματική έναντι ανάπτυξης των ψευδομονάδων σε φρέσκα προϊόντα κοτόπουλου (Elliot et al 1985, Sawaya et al 1995, Smolader et al 2004, Chouliara et al 2007 β, Patsias et al 2008). Σύμφωνα με ορισμένες από αυτές τις μελέτες, η χρήση τροποποιημένης ατμόσφαιρας 30%CO₂/70%N₂ για την συντήρηση φρέσκου φιλέτου κοτόπουλου, μείωσε τον πληθυσμό των ψευδομονάδων κατά 1,0 log CFU/g την 9^η ημέρα συντήρησης (Chouliara et al 2007 β) ενώ κατά την συντήρηση ολόκληρου κοτόπουλου η μείωση ξεπέρασε τους 2,0 log CFU/g (Sawaya et al 1995).

Η ελάττωση των πληθυσμών λόγω της χρήσης συσκευασίας υπό κενό, ήταν αναμενόμενη αφού οι ψευδομονάδες είναι αερόβιοι μικροοργανισμοί και η ανάπτυξή τους ευνοείται σε αερόβιες συνθήκες.

4.1.2.3 Ζύμες και μύκητες

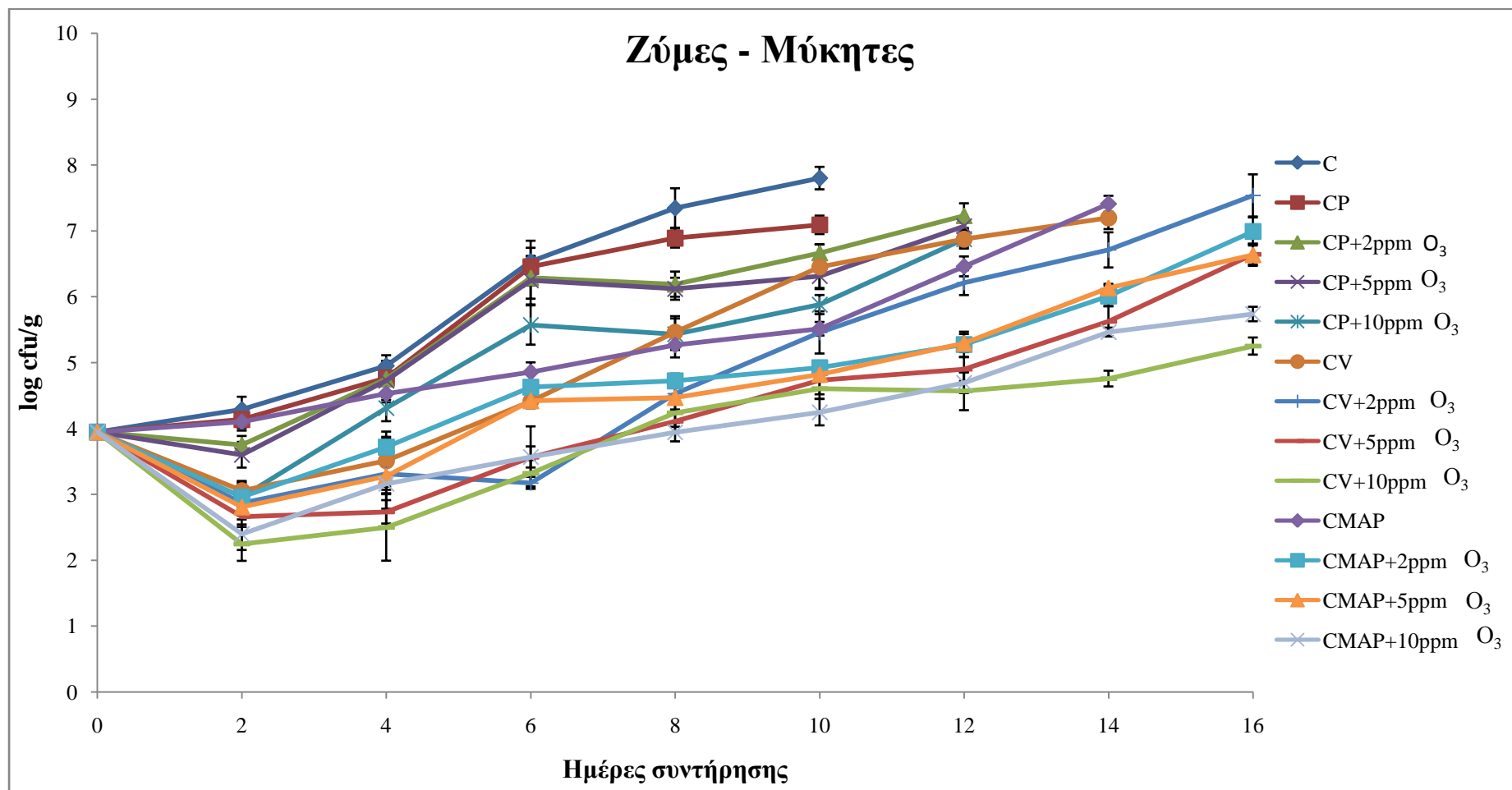
Οι ζύμες ανήκουν σε μία κατηγορία μικροοργανισμών που ενδέχεται να προκαλέσουν αλλοίωση στην επιφάνεια του κοτόπουλου που συντηρείται σε αερόβιες συνθήκες (Dillon 1998). Γενικά, αν και οι ζύμες θεωρείται ότι αποτελούν μέρος της αυτόχθονης μικροχλωρίδας των νωπών προϊόντων κρέατος, υπάρχουν λίγες διαθέσιμες έρευνες στην βιβλιογραφία σχετικά με την ανάπτυξή τους σε αυτά (Nychas and Drosinos 1999).

Στο **γράφημα 7** παρουσιάζεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των ζυμών και μυκήτων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των ζυμών και μυκήτων στο προϊόν ήταν 3,95 log CFU/g και βρίσκεται σε συμφωνία με τον αντίστοιχο που αναφέρεται από τους Sallam and Samejina (2004) και Kim and Song (2004) για φρέσκο φιλέτο κοτόπουλου (3,5 και 4,5 log CFU/g, αντίστοιχα).

Την 8^η ημέρα του πειράματος, οι πληθυσμοί των ζυμών και μυκήτων για τα δείγματα C, CP, CV και CMAP ήταν αντίστοιχα 7,34, 6,89, 5,46 και 5,27 log CFU/g.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβια συσκευασία και εκτέθηκαν σε όζον, παρουσίασαν υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα οζονισμένα και συσκευασμένα σε κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα δείγματα.



Γράφημα 7. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των ζυμών και μυκήτων σε νωπά μπουτία κοτόπουλου.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι όλα τα δείγματα παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, τόσο κατά τη διάρκεια του χρόνου συντήρησης, όσο και σε σχέση με τη συσκευασία και τη δόση του αέριου όζοντος ($p < 0,05$). Εξαίρεση αποτελούν τα δείγματα CV, CMAP και CV+2ppm, CMAP+2ppm τα οποία δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκρινόμενα μεταξύ τους.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο **γράφημα 7**, φαίνεται ότι η δόση του αέριου όζοντος συνέβαλε στην αναχαίτιση της αύξησης των ζυμών και των μυκήτων. Συγκεκριμένα, η δόση όζοντος 5 και 10 ppm μείωσε τον πληθυσμό κατά 1-2 log CFU/g σε σχέση με τα δείγματα που εκτέθηκαν σε αέριο όζον συγκέντρωσης 2 ppm, όπως επίσης και τα αντίστοιχα δείγματα αναφοράς.

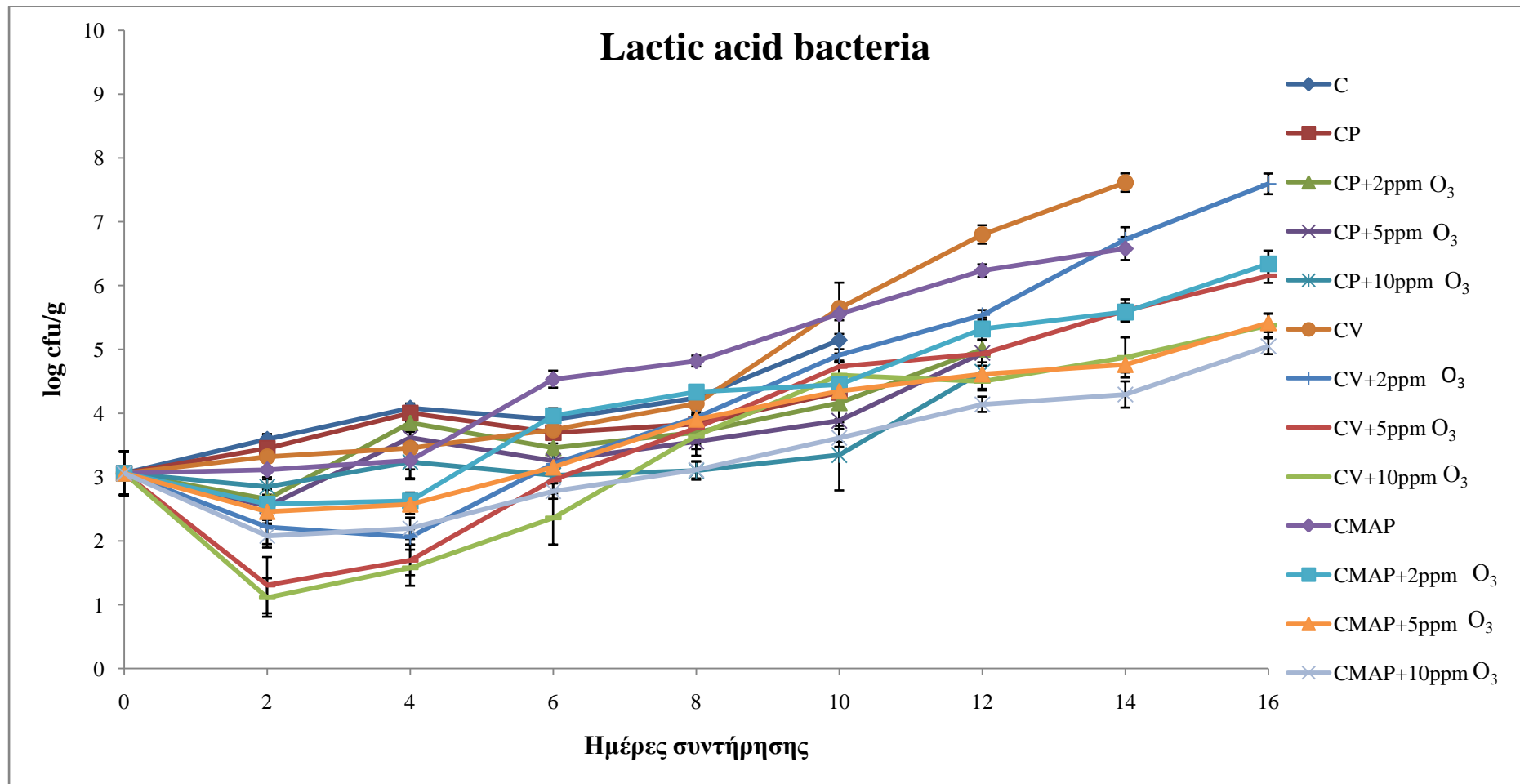
Οι Chouliara et al (2007 β) βρήκαν ότι ο αρχικός πληθυσμός των ζυμών σε κρέας κοτόπουλου ήταν επίσης πολύ μικρός. Επίσης, διαπίστωσαν ότι η συσκευασία MAP 70%CO₂/30%N₂ ήταν πιο αποτελεσματική στη μείωση των ζυμών απ'ότι η MAP 30%CO₂/70%N₂.

Όσον αφορά σε άλλα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, οι Soldatou et al (2009) βρήκαν μικρούς πληθυσμούς ζυμών και μυκήτων σε αρνίσιο σουβλάκι τόσο σε αερόβια συσκευασία όσο και σε συσκευασία υπό κενό.

4.1.2.4 Γαλακτικά βακτήρια

Τα Γαλακτικά βακτήρια είναι κατά Gram-θετικά και προαιρετικά αναερόβια βακτήρια. Αποτελούν μεγάλο μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του κόκκινου κρέατος αλλά και του κοτόπουλου που συσκευάζεται σε ατμόσφαιρα χαμηλής περιεκτικότητας σε οξυγόνο (Jay 1986).

Στο **γράφημα 8** παρουσιάζεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων σε νωπά μπουτία κοτόπουλου.



Γράφημα 8. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων σε νωπά μούτσια κοτόπουλου.

Ο πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων του φρέσκου προϊόντος την 0^η ημέρα συντήρησης ήταν 2,86 log CFU/g και έφτασε τους 5,15, 4,33, 4,16, 3,88, 3,39, 5,64, 4,91, 4,73, 4,60, 5,56, 4,45, 4,35 και 3,61 log CFU/g την 10^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα C, CP, CP+2ppm, CP+5ppm, CP+10ppm, CV, CV+2ppm, CV+5ppm, CV+10ppm, CMAP, CMAP+2ppm, CMAP+5ppm και CMAP+10ppm, αντίστοιχα.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι βρέθηκαν σημαντικά στατιστικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αντίθετα δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τη συσκευασία, τόσο στα δείγματα αφοράς όσο και στα δείγματα που εκτέθηκαν σε αέριο όζον 2, 5 και 10 ppm ($p > 0,05$).

Στα συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και οζονισμένα με συγκέντρωση όζοντος 10 ppm δείγματα, παρατηρήθηκε μείωση της λογαριθμικής τιμής των γαλακτικών βακτηρίων κατά 1,5 log CFU/g σε σχέση με τον μάρτυρα (δείγματα C). Η μείωση αυτή πιθανόν να οφείλεται στη συνεργιστική δράση της υψηλής συγκέντρωσης όζοντος και της συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα.

Οι Zouaghi et al (2016) διαπίστωσαν μείωση των γαλακτικών βακτηρίων κατά 1,1 log CFU/g από τα αρχικά επίπεδα σε φιλέτο από στήθος κοτόπουλου, όταν το επεξεργάστηκαν με αέριο όζον συγκέντρωσης 0,6 ppm για 10 min.

Σε παρόμοια μελέτη οι Cantalego et al (2016) παρατήρησαν ότι σε κρέας από στήθος κοτόπουλου επεξεργασμένο με όζον και έχοντας υποστεί λυοφιλίωση, μετά από 6 μήνες συντήρησης, ο πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων μειώθηκε κατά 4,77 log CFU/g σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς. Από τον 2^ο μήνα συντήρησης, τα γαλακτικά βακτήρια μειώθηκαν αισθητά και έφτασαν σε τιμές μικρότερες από 1 log CFU/g για τα λυοφιλωμένα και με προσθήκη όζοντος 0,6 και 0,72 ppm για 30 min δείγματα.

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση του όζοντος, γεγονός που επίσης παρατήρησαν οι Kim et al (2003). Οι ίδιοι ερευνητές πρότειναν ότι το αέριο ή υγρό όζον, σε μικρή δόση και με μικρό χρόνο επαφής είναι αποτελεσματικό έναντι πολλών βακτηρίων. Παρόλα αυτά η αυξημένη συγκέντρωση όζοντος δείχνει να είναι πιο αποτελεσματική για την αναστολή των γαλακτικών βακτηρίων σε δείγματα κρέατος, σε σχέση με το χρόνο επαφής.

Μείωση κατά 0,3-0,8 log CFU/g παρατήρησαν και οι Manousaridis et al (2005), όταν επεξεργάστηκαν φρέσκα μύδια με υγρό όζον συγκέντρωσης 1 mg/l και

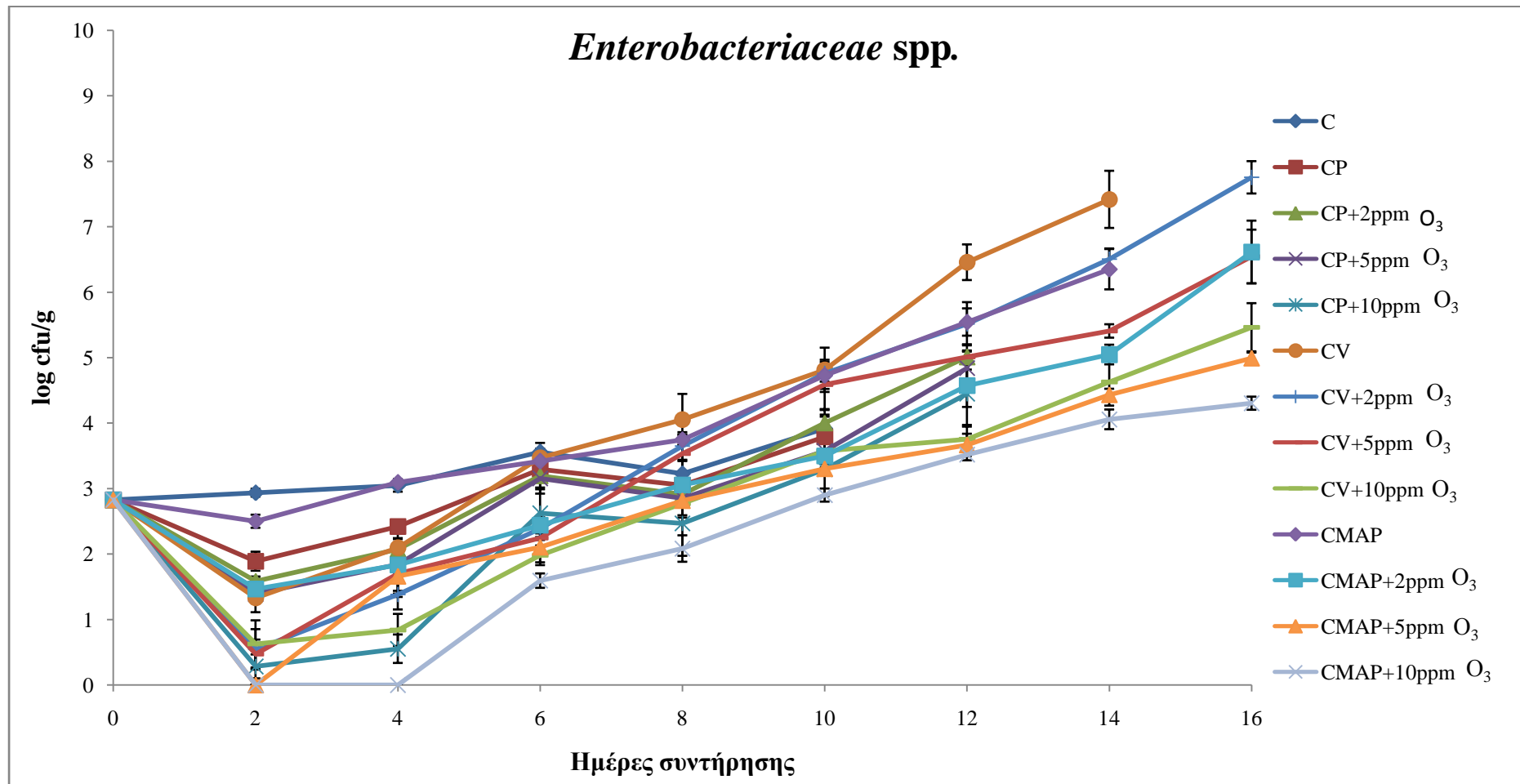
διάρκεια οζονισμού 60 και 90 min. Οι ίδιοι παρατήρησαν επίσης ότι τα οζονισμένα δείγματα δεν ξεπέρασαν το όριο του 7 log CFU/g μετά από 11 ημέρες, όπως συνέβη με τα δείγματα αναφοράς.

Όσον αναφορά άλλα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, οι Soldatou et al. (2009) βρήκαν αρχικό πληθυσμό γαλακτικών βακτηρίων 2,7 log CFU/g σε σουβλάκι από αρνίσιο κρέας, διατηρημένο σε αερόβια συσκευασία στους 4°C.

4.1.2.5 Εντεροβακτήρια

Τα εντεροβακτήρια είναι μία κατηγορία μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως δείκτης υγιεινής στη διαδικασία της παραγωγής των διάφορων προϊόντων κρέατος. Είναι αρνητικά κατά Gram βακτήρια.

Στο **γράφημα 9** παρουσιάζεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των εντεροβακτηρίων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 9. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των εντεροβακτηρίων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Ο πληθυσμός των εντεροβακτηρίων του φρέσκου προϊόντος κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης ήταν 2,83 log CFU/g και έφτασε τους 3,92, 3,79, 4,00, 3,57, 3,30, 4,81, 4,76, 4,59, 3,57, 4,73, 3,50, 3,30 και 2,90 log CFU/g την 10^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα C, CP, CP+2ppm, CP+5ppm, CP+10ppm, CV, CV+2ppm, CV+5ppm, CV+10ppm, CMAP, CMAP+2ppm, CMAP+5ppm και CMAP+10ppm, αντίστοιχα. Ανάλογο αρχικό πληθυσμό (2,3 log CFU/g) βρήκαν οι Chouliara et al (2007 β) σε δείγματα κρέατος κοτόπουλου συσκευασμένου υπό αερόβιες συνθήκες.

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι τα εντεροβακτήρια αναπτύχθηκαν στις συσκευασίες υπό κενό με μεγαλύτερο ρυθμό, σε σχέση με την αερόβια συσκευασία και την συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας.

Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τους Balamatsia et al (2007), οι οποίοι βρήκαν ότι τα δείγματα κρέατος κοτόπουλου συσκευασμένα υπό κενό εμφάνισαν μικρότερους πληθυσμούς εντεροβακτηρίων συγκριτικά με τα δείγματα σε αερόβια συσκευασία.

Στις συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας και με προσθήκη όζοντος 5 και 10 ppm, παρατηρήθηκε σημαντική αναχαίτιση της ανάπτυξης του πληθυσμού. Η σημαντική αυτή μείωση οφείλεται πιθανότατα στις αντιμικροβιακές ιδιότητες του όζοντος σε συνδυασμό με την αντιμικροβιακή δράση του CO₂, των οποίων η συνδυαστική δράση καθυστέρησε την ανάπτυξη των Gram-αρνητικών βακτηρίων (Finne 1982).

Οι Manousaridis et al (2005) παρατήρησαν σημαντική μείωση του αρχικού πληθυσμού εντεροβακτηρίων (0,5-1,5 log CFU/g) όταν εμβάπτισαν φρέσκα μύδια σε νερό εμπλουτισμένο με όζον συγκέντρωσης 1 mg/l για 30 και 60 min αντίστοιχα.

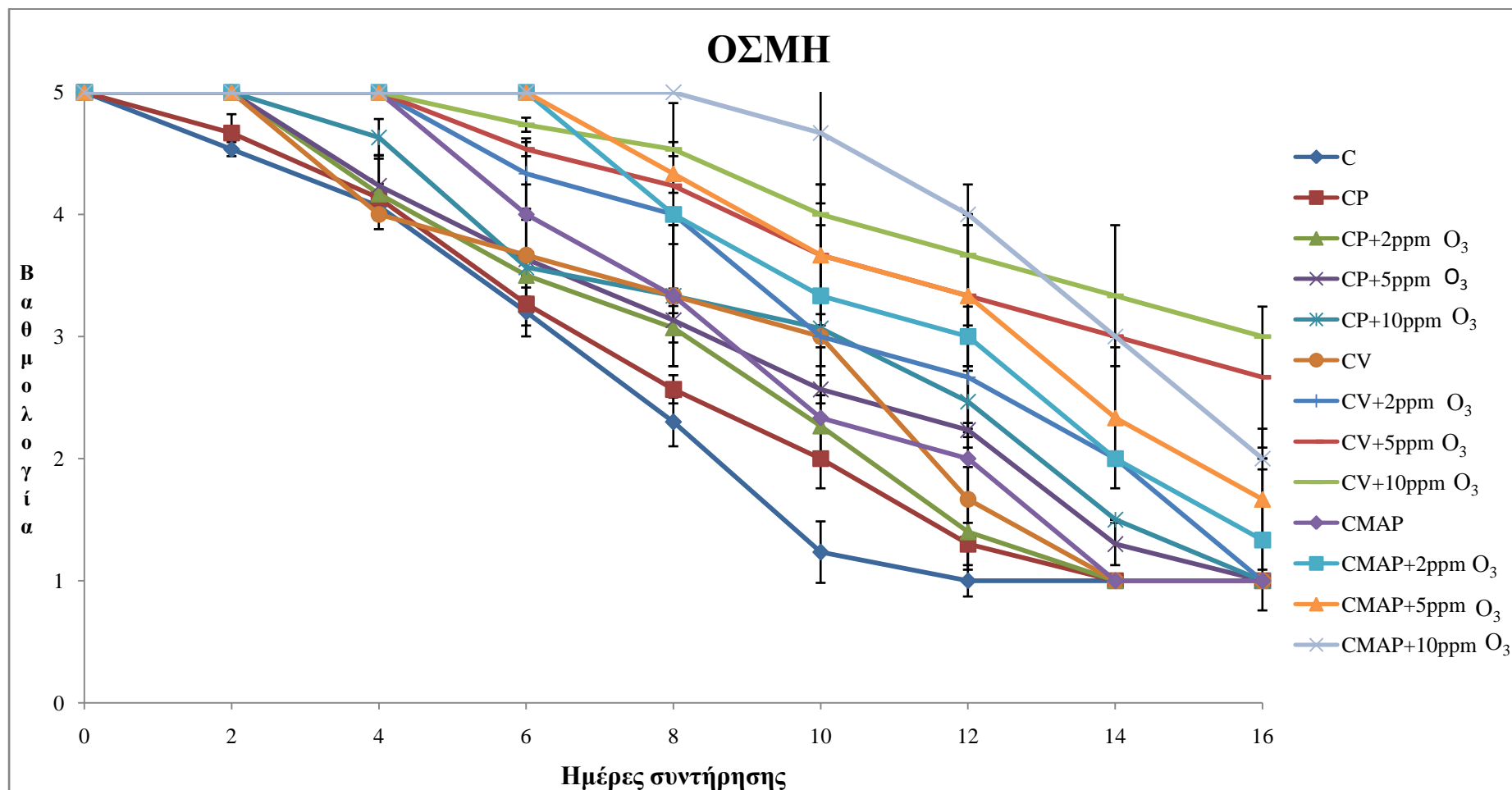
Τέλος η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αντίθετα δεν υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές ($p > 0,05$) σε σχέση με τη συσκευασία στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που εκτέθηκαν σε αέριο όζον 2, 5 και 10 ppm και συσκευάστηκαν αερόβια και σε συσκευασία υπό κενό.

4.1.3 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Παράλληλα με την μικροβιολογική αξιολόγηση των δειγμάτων που συντηρήθηκαν σε αερόβια συσκευασία, συσκευασία υπό κενό ή συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, με ή χωρίς την προσθήκη όζοντος, πραγματοποιήθηκε και αξιολόγηση της μεταβολής των οργανοληπτικών παραγόντων της οσμής, της υφής, της εμφάνισης και της γεύσης του προϊόντος. Η τιμή 3 θεωρήθηκε το κατώτερο όριο αποδοχής.

4.1.3.1 Οσμή

Στο **γράφημα 10** παρουσιάζεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην οσμή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 10. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην οσμή σε νωπά μούτια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 10**, κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης, τα δείγματα από μπούτι κοτόπουλου είχαν ευχάριστη οσμή, η οποία μεταβλήθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 6^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.

Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον και συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα, κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας, CP+2ppm, CP+5ppm, CP+10ppm, CV+2ppm, CV+5ppm, CV+10ppm, CMAP+2ppm, CMAP+5ppm και CMAP+10ppm, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 8^η, 10^η, 10^η, 14^η, 16^η, 10^η, 12^η και 14^η ημέρα αντίστοιχα.

Παρόμοια αποτελέσματα σε κρέας κοτόπουλου αναφέρθηκαν από τους Balamatsia et al (2007), οι οποίοι βρήκαν ότι τα δείγματα κρέατος κοτόπουλου σε συσκευασία κενού έλαβαν καλύτερη βαθμολογία κατά την οργανοληπτική ανάλυση σε σχέση με τα δείγματα σε αερόβια συσκευασία και ότι αυτή ήταν πιο εμφανής την 3^η ημέρα.

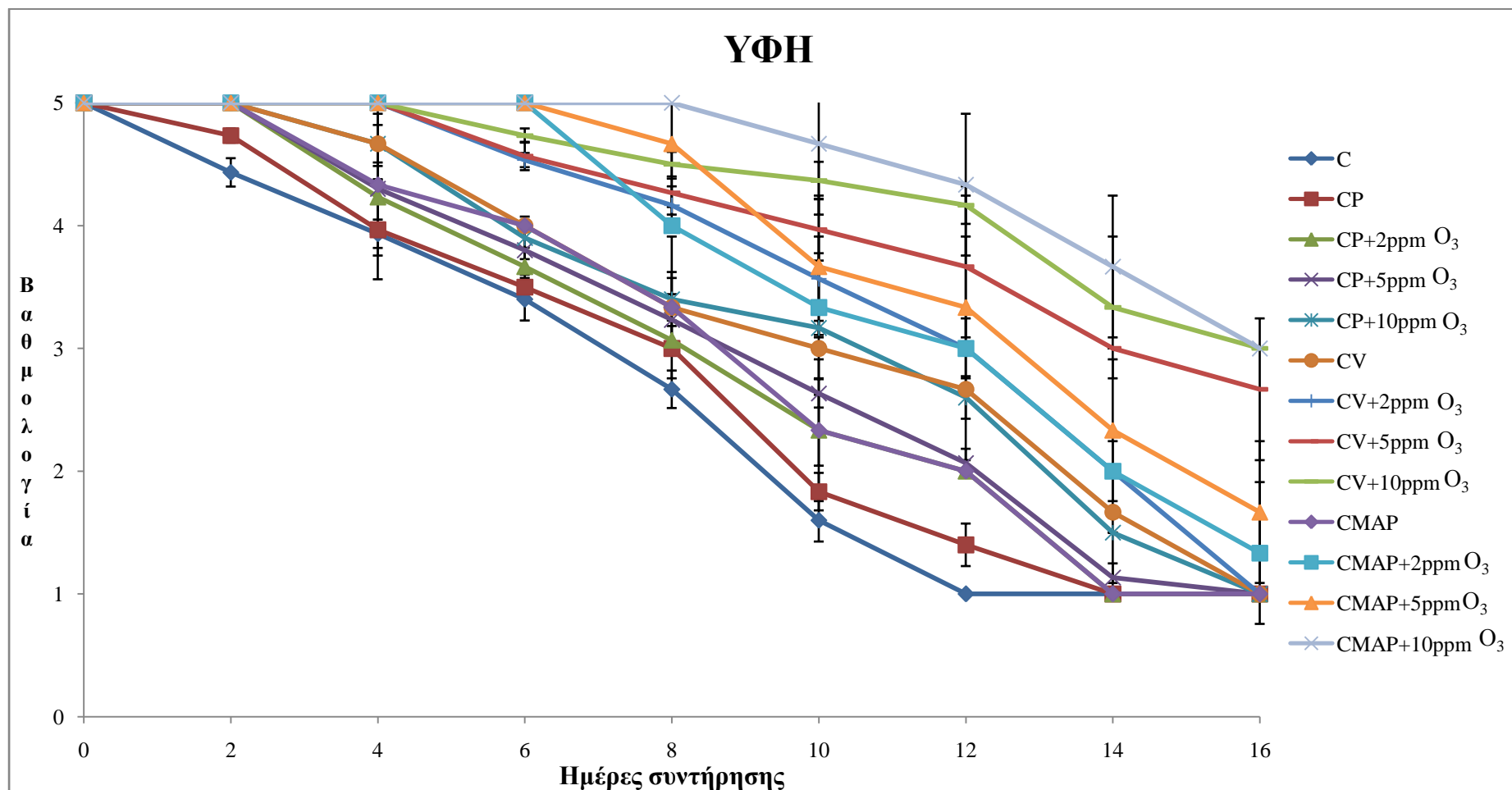
Το όζον δεν προσέδωσε δυσάρεστη οσμή σε καμιά από τις τρεις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκε. Αντίθετα, διαπιστώθηκε ότι αυξανόμενης της συγκέντρωσης, αυξήθηκε και η αίσθηση φρεσκάδας στο προϊόν.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η συσκευασία υπό κενό σε συνδυασμό με επεξεργασία αέριου όζοντος συγκέντρωσης 10 ppm αύξησε το χρόνο ζωής των δειγμάτων όσον αφορά την οσμή κατά 10 ημέρες σε σχέση με τα δείγματα μαρτύρων C και CP και κατά 6 ημέρες για τα δείγματα μάρτυρα CV.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αντίθετα δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) σε σχέση με τη συσκευασία και τη δόση οζονισμού για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση αέριου όζοντος 5 και 10 ppm και συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και υπό κενό.

4.1.3.2 Υφή

Στο **γράφημα 11** παρουσιάζεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην υφή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 11. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην υφή σε νωπά μούτια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 11**, κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης τα δείγματα από μπούτι κοτόπουλου είχαν υφή φρέσκου προϊόντος (σκληρή και συμπαγής υφή), η οποία μεταβλήθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 8^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.

Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον και συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα, κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας, CP+2ppm, CP+5ppm, CP+10ppm, CV+2ppm, CV+5ppm, CV+10ppm, CMAP+2ppm, CMAP+5ppm και CMAP+10ppm, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 8^η, 10^η, 12^η, 14^η, 16^η, 12^η, 12^η και 16^η ημέρα αντίστοιχα.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η συσκευασία υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα σε συνδυασμό με επεξεργασία αερίου όζοντος συγκέντρωσης 10ppm συνέβαλαν στην καλύτερη διατήρηση της υφής του προϊόντος, καθώς αύξησαν το χρόνο συντήρησης κατά 6 έως 10 ημέρες σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς C, CP, CV και CMAP.

Αυτό πιθανόν να οφείλεται στον μικρό πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων και των βακτηρίων του γένους *Pseudomonas* spp., που παρουσίασαν τα συγκεκριμένα δείγματα κατά την συντήρησή τους για 16 ημέρες.

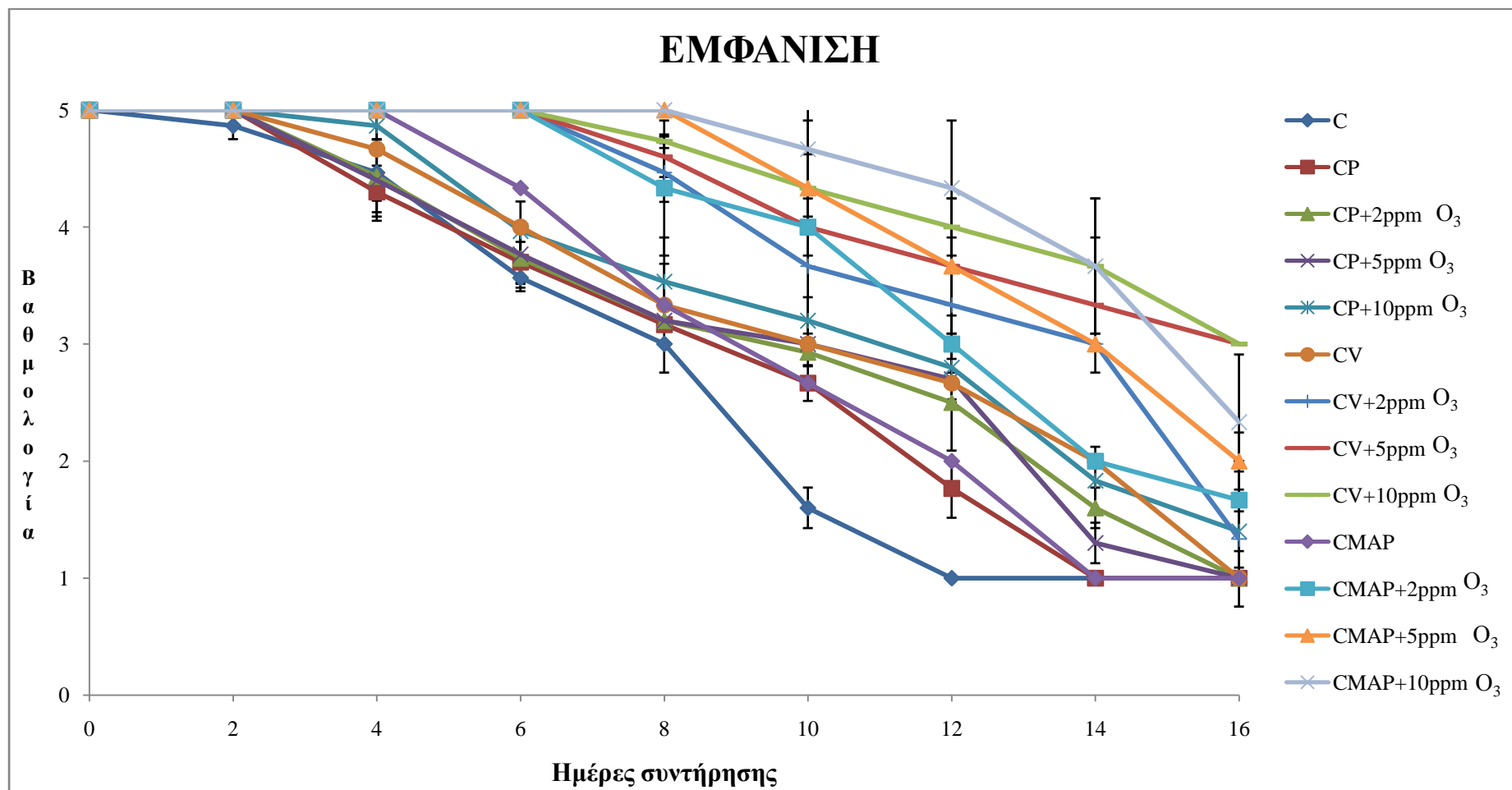
Σύμφωνα με τους Lin et al (2004) κατά τη συντήρηση προϊόντων πουλερικών σε αερόβια συσκευασία, οι κύριοι μικροοργανισμοί αλλοίωσης είναι οι ψευδομονάδες, η ανάπτυξη των οποίων μπορεί να οδηγήσει στην αποδόμηση (π.χ. πρωτεόλυση, ενζυματική υδρόλυση/οξειδωση λιπιδίων) δομικών συστατικών των τροφίμων και στη δημιουργία γλοιώδους επικάλυψης στην επιφάνεια του αλλοιωμένου προϊόντος. Τα παραπάνω συντελούν στην υποβάθμιση της εμφάνισης (υφή, χρώμα) καθώς και στην παραγωγή ανεπιθύμητων οσμηρών ενώσεων.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το είδος των δευτερογενών προϊόντων μεταβολισμού των γαλακτικών βακτηρίων εξαρτάται από τις εκάστοτε περιβαλλοντικές συνθήκες συντήρησης και τα διαθέσιμα θρεπτικά υποστρώματα, επηρεάζοντας θετικά ή αρνητικά την οργανοληπτική ποιότητα των τροφίμων. Έτσι, η συντήρηση σε MAP ή VP όχι μόνο επηρεάζει την επικράτηση ενός συγκεκριμένου πληθυσμού βακτηρίων, αλλά επιδρά και στις μεταβολικές δραστηριότητες του μικροβιακού φορτίου (Nychas et al 1999).

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αντίθετα δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) σε σχέση με τη συσκευασία και τη δόση οζονισμού για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση αέριου όζοντος 2 και 10 ppm και συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και υπό κενό.

4.1.3.3 Εμφάνιση

Στο **γράφημα 12** παρουσιάζεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην εμφάνιση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 12. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην εμφάνιση στα νωπά μούτια κοτόπουλου.

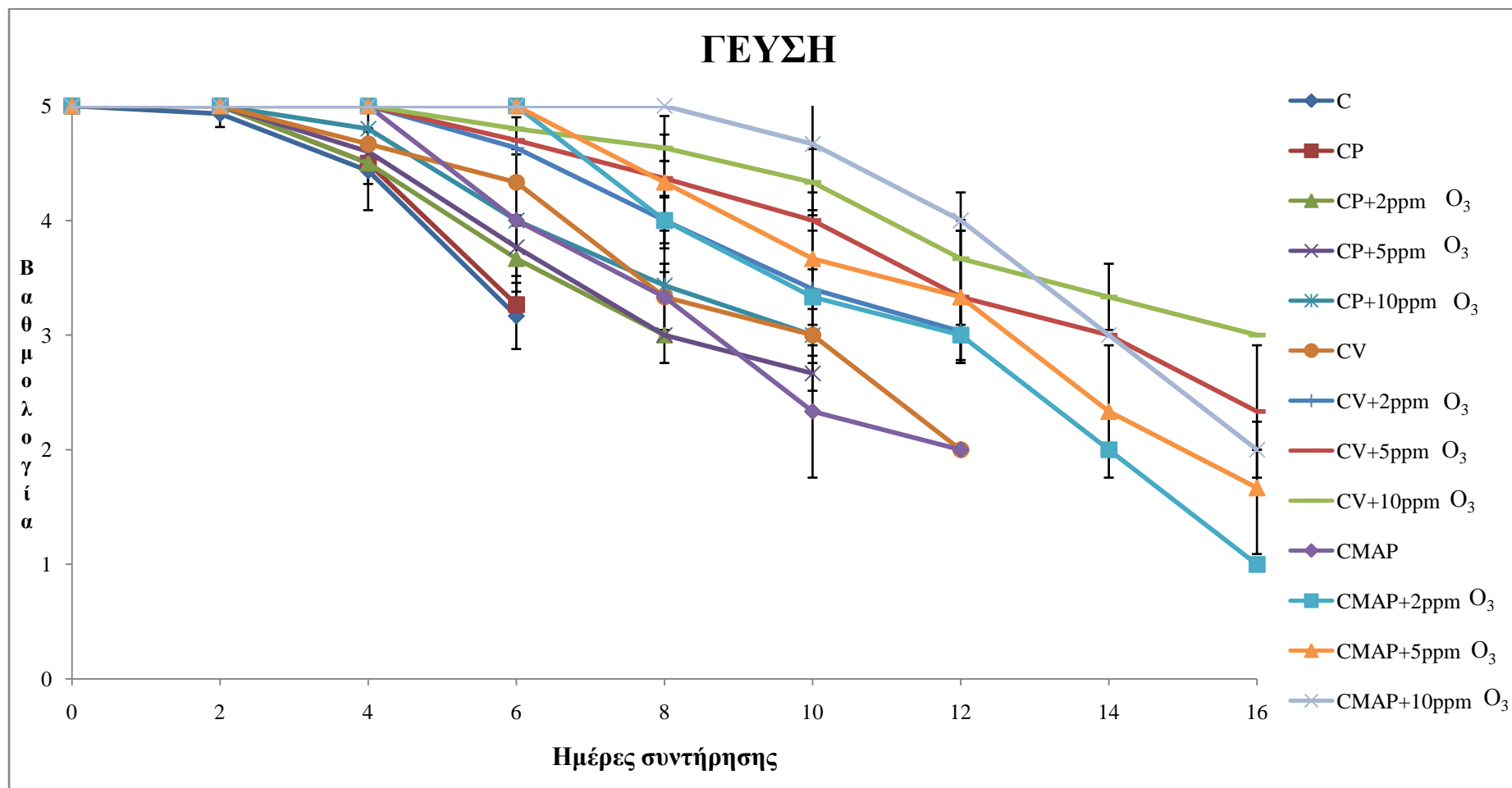
Από το **γράφημα 12**, προκύπτει ότι κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης, η συνολική εμφάνιση των δειγμάτων από μπουτί κοτόπουλου αντιπροσώπευε πλήρως την εμφάνιση φρέσκου προϊόντος, η οποία κατά την πάροδο της συντήρησης μεταβλήθηκε. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 8^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.

Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον και συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα, κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας, CP+2ppm, CP+5ppm, CP+10ppm, CV+2ppm, CV+5ppm, CV+10ppm, CMAP+2ppm, CMAP+5ppm και CMAP+10ppm, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 8^η, 10^η, 12^η, 16^η, 16^η, 12^η, 14^η και 14^η ημέρα αντίστοιχα.

Κατά την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, προέκυψε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Αντίθετα σε σχέση με τη δόση οζονισμού και τη συσκευασία για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα καθώς επίσης και τα αντίστοιχα δείγματα αναφοράς, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$). Το ίδιο παρατηρήθηκε και για τα δείγματα σε αερόβια συσκευασία και δόση όζοντος 2 και 5ppm.

4.1.3.4 Γεύση

Στο **γράφημα 13** παρουσιάζεται η επίδραση του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στη γεύση για τα νωπά μπουτία κοτόπουλου.



Γράφημα 13. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του όζοντος και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στη γεύση για τα νωπά μούτια κοτόπουλου.

Από το **γράφημα 13**, προκύπτει ότι κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης η γεύση των δειγμάτων από μπούτι κοτόπουλου αντιπροσώπευε πλήρως αυτή του φρέσκου προϊόντος, ενώ μεταβλήθηκε αντιστρόφως ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης των δειγμάτων. Συγκεκριμένα τα δείγματα μαρτύρων C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 6^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.

Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον και συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα, κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας, CP+2ppm, CP+5ppm, CP+10ppm, CV+2ppm, CV+5ppm, CV+10ppm, CMAP+2ppm, CMAP+5ppm και CMAP+10ppm, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 8^η, 10^η, 12^η, 14^η, 16^η, 12^η, 12^η και 14^η ημέρα αντίστοιχα.

Κατά την οργανοληπτική εξέταση των δειγμάτων, με βάση το κριτήριο της γεύσης, διαπιστώθηκε ότι τα δείγματα είχαν πικρή γεύση, όταν ο πληθυσμός των ψευδομονάδων προσέγγιζε τους 7 log CFU/g. Σύμφωνα με τον Blakistone (1998), όταν ο πληθυσμός των ψευδομονάδων φτάσει το όριο των 10⁸ CFU/g, η παραγωγή δύσοσμων ενώσεων γίνεται άμεσα αντιληπτή κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο.

Είναι αξιοσημείωτο ότι τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης (γεύση) συμβαδίζουν με τα αντίστοιχα της μικροβιολογικής ανάλυσης, εφόσον η υπέρβαση του μικροβιολογικού ορίου αλλοίωσης (O.M.X.=7,0 log CFU/g) σε όλες τις μεταχειρίσεις (αερόβια, υπό κενό και τροποποιημένης ατμόσφαιρας συσκευασία) συνέπεσε με αυτή της οργανοληπτικής εξέτασης.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συσκευασία κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε σχέση με τη δόση του αερίου όζοντος, αλλά όχι σε σχέση με τη συσκευασία ($p > 0,05$).

Τα συσκευασμένα σε αερόβιες συνθήκες δείγματα δεν έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τον μάρτυρα ($p > 0,05$). Εξαίρεση αποτελούν τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αέρα και εκτέθηκαν σε δόση αερίου όζοντος συγκέντρωσης 10 ppm ($p < 0,05$).

4.1.4 Συμπεράσματα

Με βάση τα αποτελέσματα της πειραματικής περίπτωσης Ι προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Με βάση τις μικροβιολογικές αναλύσεις και την οργανοληπτική αξιολόγηση της οσμής, ο χρόνος ζωής του κρέατος από νωπά μπούτια κοτόπουλου που συντηρήθηκαν υπό ψύξη ($4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1$) ήταν 6 ημέρες για τα δείγματα σε αερόβια ή χωρίς συσκευασία και επεξεργασία με όζον, 8 ημέρες για τα δείγματα σε αερόβια συσκευασία και προσθήκη όζοντος 2 και 5 ppm καθώς επίσης και για τα δείγματα αναφοράς συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, 10 ημέρες για τα δείγματα αναφοράς, οξονισμένα στα 2 ppm σε συσκευασία υπό κενό, καθώς και εκείνα που συσκευάστηκαν σε αέρα και επεξεργάστηκαν με όζον συγκέντρωσης 10 ppm, 12 ημέρες για τα δείγματα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και δόση αερίου όζοντος 2 ppm, 14 ημέρες για τα δείγματα σε συσκευασία κενού και δόση αερίου όζοντος 5 ppm καθώς και για εκείνα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και δόση όζοντος 2 και 5 ppm και τέλος 16 ημέρες για τα συσκευασμένα υπό κενό και οξονισμένα σε συγκέντρωση 10 ppm δείγματα.
- Τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου για τη γεύση έδειξαν ότι συμβαδίζουν με τα αντίστοιχα για την οσμή.
- Τα εντεροβακτήρια ήταν εκείνα που κυμάνθηκαν στα χαμηλότερα επίπεδα σε όλα τα δείγματα.
- Η χρήση της συσκευασίας υπό κενό αποδείχθηκε αποτελεσματική στην καθυστέρηση της ανάπτυξης της O.M.X.
- Η συγκέντρωση όζοντος 2 ppm δεν είχε ουσιαστική επίδραση στα δείγματα από μπούτια κοτόπουλου σε όλες τις συσκευασίες, αφού δεν αύξησε το χρόνο ζωής τους σε σχέση με τους μάρτυρες.

- Το όζον σε συγκεντρώσεις 5 και 10 ppm αποδείχτηκε αποτελεσματικό αντιμικροβιακό μέσο συντήρησης φρέσκου κρέατος από μπούτια κοτόπουλου, καθώς επέδρασε έναντι όλων των βακτηρίων που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη.
- Οι τιμές της παραμέτρου L^* παρουσίασαν αύξηση στα δείγματα σε συσκευασία κενού και επεξεργασμένα με αέριο όζον. Τα δείγματα σε συσκευασία κενού παρουσίασαν μικρότερες τιμές b^* σε σχέση με εκείνα που συσκευάστηκαν σε αέρα και τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Η συνεργιστική δράση του όζοντος συγκέντρωσης 10 ppm και της συσκευασίας υπό κενό διατήρησε τις τιμές της ερυθρότητας a^* σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα.
- Συμπερασματικά, συνεκτιμώντας τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής και κυρίως της οργανοληπτικής εξέτασης, προκύπτει ότι η χρήση όζοντος σε συγκέντρωση 10 ppm σε συνδυασμό με συσκευασία υπό κενό, προσέδωσε ένα ευχάριστο ως προς την οσμή, την υφή, την συνολική εμφάνιση και τη γεύση προϊόν, έως και την 16^η ημέρα συντήρησης.

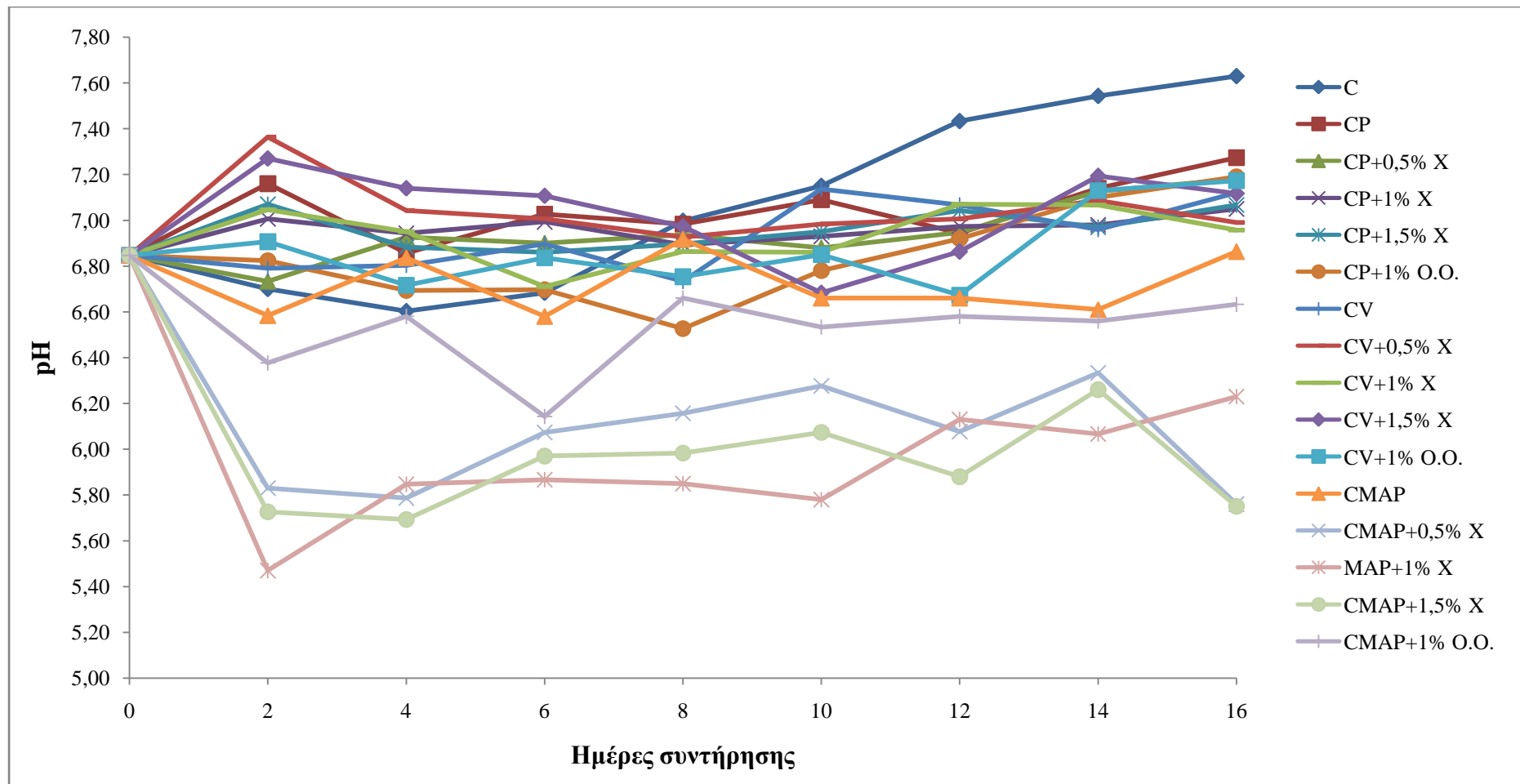
4.2 Πειραματική περίπτωση II

Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στο χρόνο ζωής σε νωπά μούτια κοτόπουλου. Υπολογίστηκε ότι η τελική συγκέντρωση χιτοζάνης στο προϊόν μετά την προσθήκη διαλυμάτων αυτής 0,5, 1,5 και 1 % w/v ήταν 0,010, 0,026 και 0,040 % w/v αντίστοιχα.

4.2.1 Χημικές αναλύσεις

4.2.1.1 pH

Στο **γράφημα 14** παρουσιάζεται η μεταβολή του pH κατά την συντήρηση των δειγμάτων από νωπά μούτια κοτόπουλου σε α) αερόβια συσκευασία, β) συσκευασία υπό κενό, γ) συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, με προσθήκη διαλυμάτων 0,5, 1 και 1,5 % w/v χιτοζάνης καθώς και των δειγμάτων αναφοράς.



Γράφημα 14. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στο pH σε νωπά μούτσια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 14**, τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη είχαν χαμηλότερες τιμές pH σε σχέση με τους μάρτυρες. Ειδικότερα τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη και συσκευάστηκαν σε MAP (20%CO₂/80%N₂) εμφάνισαν τιμές pH πολύ χαμηλότερες σε σχέση με τα επεξεργασμένα με χιτοζάνη και συσκευασμένα σε αέρα και υπό κενό δείγματα. Αυτό είναι πιθανόν να οφείλεται στην παρουσία CO₂ στη συσκευασία όπως επίσης και στον υψηλό πληθυσμό γαλακτικών βακτηρίων στην μικροχλωρίδα του προϊόντος, τα οποία κατά τον μεταβολισμό τους παράγουν οργανικά οξέα όπως π.χ. γαλακτικό, οξικό και μυρμηκικό οξύ (Pexara et al 2002), αν και η παραγωγή τους δεν μελετήθηκε στην παρούσα εργασία.

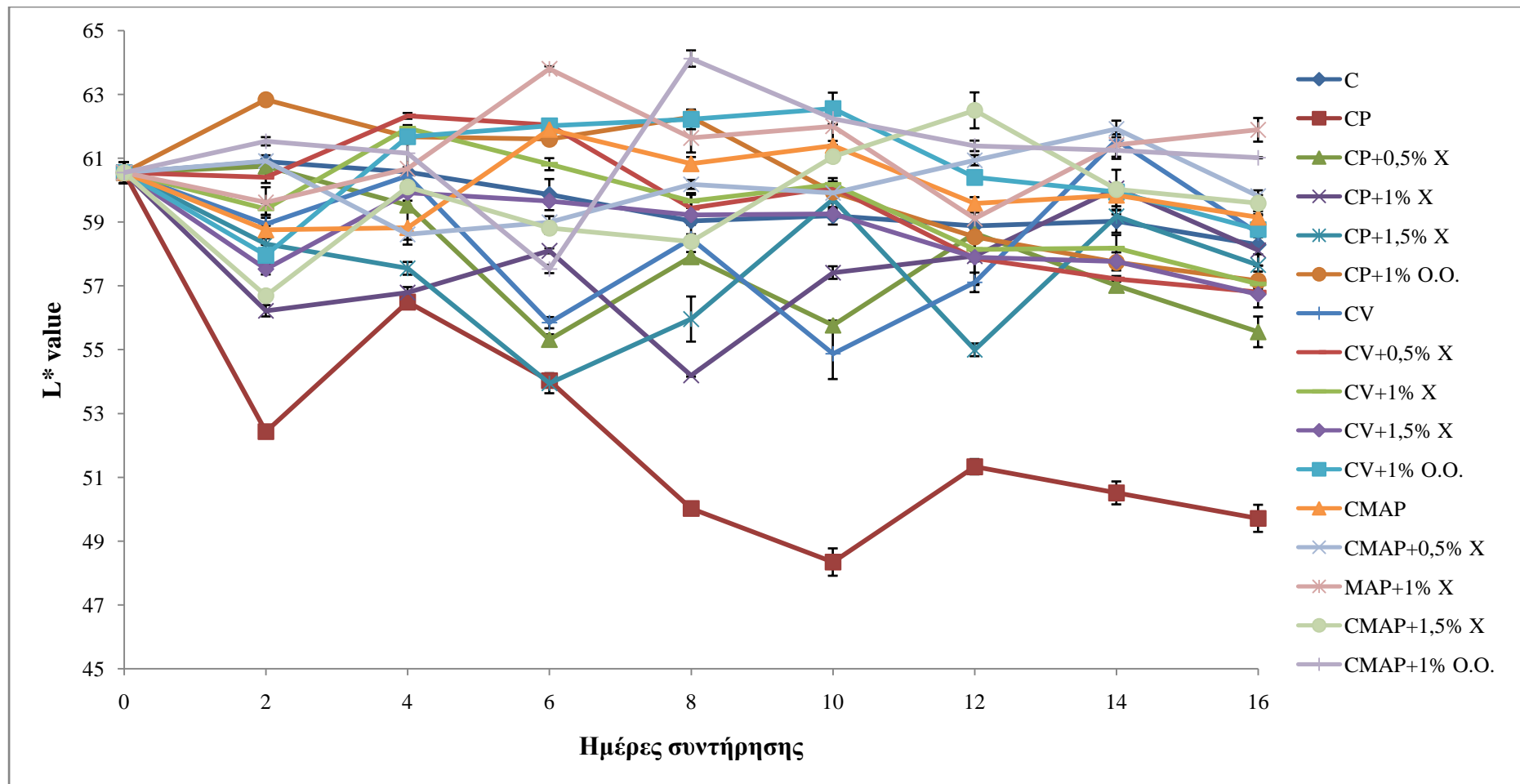
Γενικότερα παρατηρήθηκε αυξομείωση των τιμών του pH καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος. Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με οξικό οξύ 1% και συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα, κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας, εμφάνισαν τιμές pH ελαφρά πιο αυξημένες σε σχέση με τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με χιτοζάνη και είχαν συσκευαστεί αναλόγως, ενώ αντίθετα εμφάνισαν παραπλήσιες τιμές με αυτές των δειγμάτων αναφοράς. Συγκεκριμένα οι τιμές pH των δειγμάτων CP+1% O.O., CV+1% O.O. και CMAP+1% O.O. ήταν αντίστοιχα 7,17, 7,17 και 6,63, την 16^η ημέρα συντήρησης, ενώ εκείνες των δειγμάτων C, CP, CV και CMAP ήταν 7,63, 7,27, 7,12 και 6,86. Οι τιμές για τα συσκευασμένα και επεξεργασμένα με χιτοζάνη δείγματα CP+0,5 % X, CP+1% X, CP+1,5% X, CV+0,5 % X, CV+1 % X, CV+1,5 % X, CMAP +0,5 % X, CMAP +1 % X και CMAP +1,5 % X, ήταν 7,18, 7,05, 7,07, 6,99, 6,96, 7,12, 5,76, 6,23 και 5,75, αντίστοιχα την 16^η ημέρα συντήρησης.

Η μεταβολή στο pH είναι αποτέλεσμα της μικροβιακής δραστηριότητας. Έρευνες σε κιμά έδειξαν ότι οι ψευδομονάδες κυριαρχούν έναντι του *Br. Thermosphacta* σε αερόβιες συνθήκες (Koutsoumanis et al 2008). Έχει βρεθεί ότι τα τρία πιο σημαντικά είδη ψευδομονάδων που κυριαρχούν στο κρέας κάτω από αερόβιες συνθήκες είναι τα *P. Fragi*, *P. Fluorescens* και *P. Ludensis*. Κατά τη διάρκεια της αλλοίωσης παρατηρείται μείωση στη συγκέντρωση των δύο τελευταίων με το *P. Fragi* να γίνεται το κυρίαρχο είδος (Drosinos and Board 1995). Οι ψευδομονάδες εκκρίνουν λιπολυτικά και πρωτεολυτικά ένζυμα και διασπούν τις πρωτεΐνες σχηματίζοντας βασικά προϊόντα τα οποία ανεβάζουν την τιμή του pH.

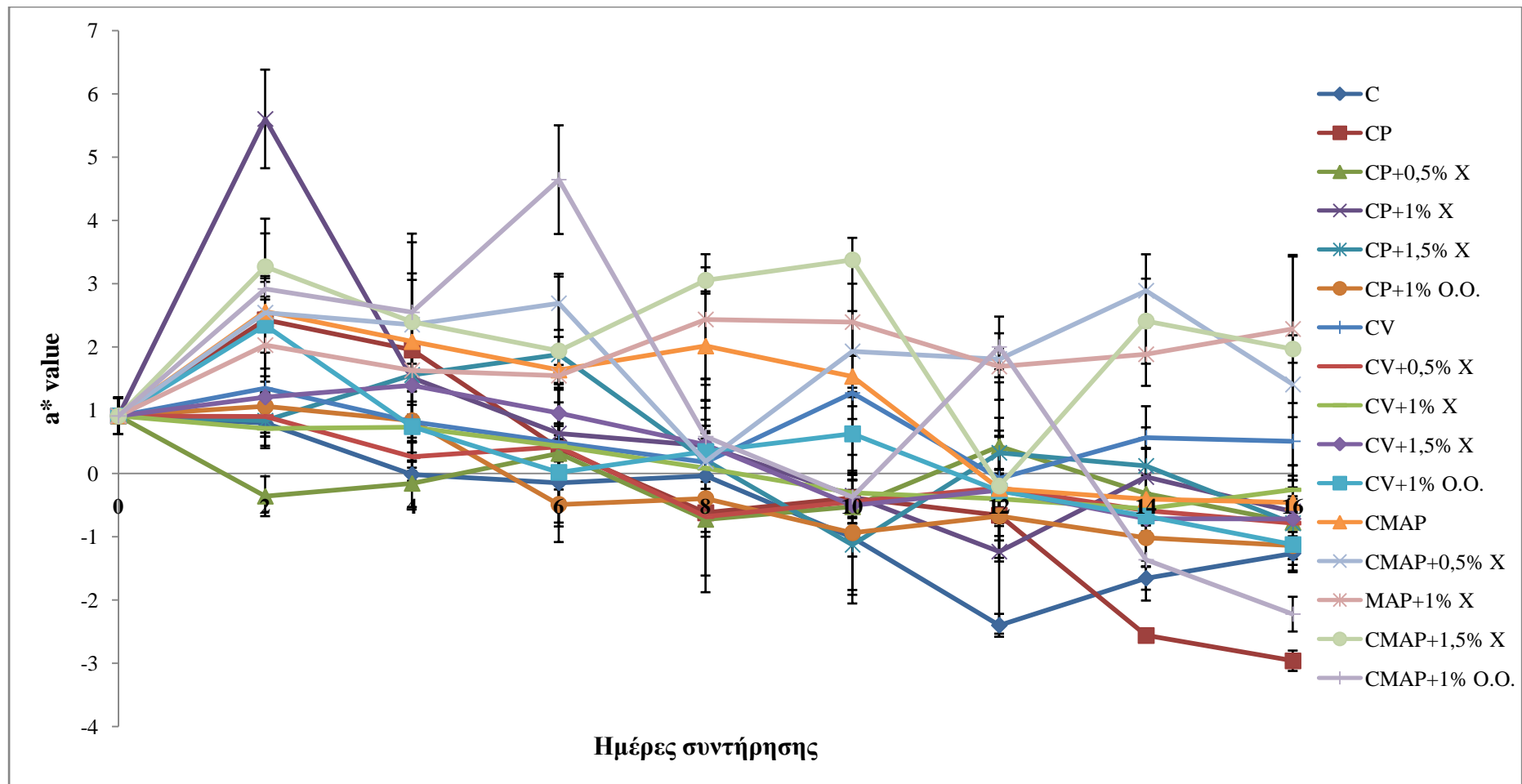
Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$) εκτός του δείγματος που συσκευάστηκε σε αερόβιες συνθήκες και επεξεργάστηκε με προσθήκη 1 % w/v χιτοζάνη. Όσον αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες. Αντίθετα τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό, σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη, έχουν στην πλειοψηφία τους στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συσκευασία, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και αέρα τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα αντίστοιχα δείγματα αναφοράς.

4.2.1.2 Χρώμα

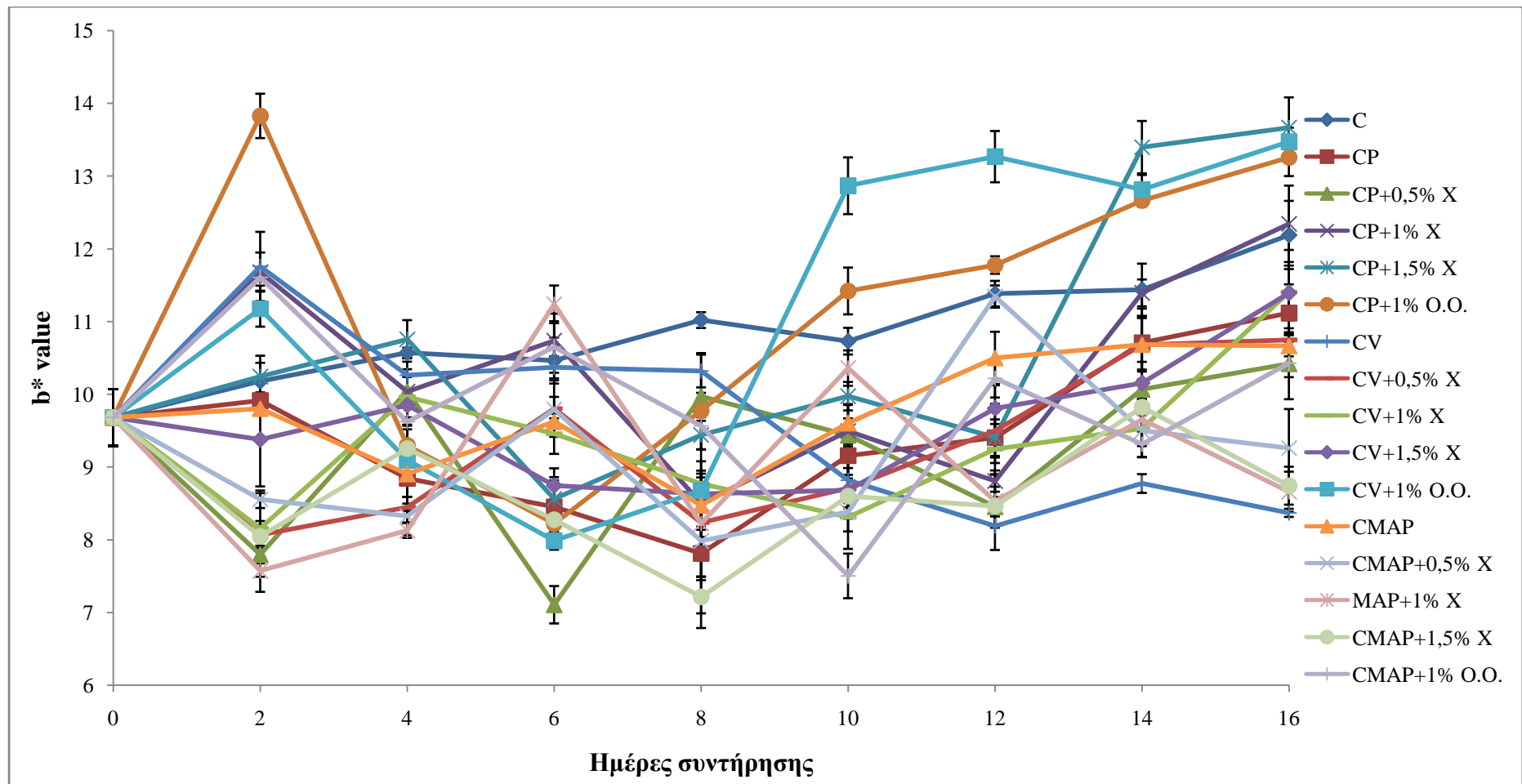
Στα **γραφήματα 15, 16 και 17**, φαίνεται η επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης συγκεντρώσεων 0,5, 1 και 1,5% w/v, της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές των παραμέτρων L^* (φωτεινότητα), a^* (ερυθρότητα) και b^* (κίτρινη απόχρωση), του χρώματος των δειγμάτων από νοπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 15. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου L* σε νωπά μπουτία κοτόπουλου.



Γράφημα 16. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου a^* σε νωπά μπουτία κοτόπουλου.



Γράφημα 17. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου b* σε νωπά μούτια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται στο **γράφημα 15**, οι τιμές της φωτεινότητας L^* στα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη και συσκευάστηκαν σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα μειώθηκαν προοδευτικά κατά την διάρκεια συντήρησής τους. Η τιμή L^* στα δείγματα μάρτυρα (C) από την αρχική τιμή 60,55 μειώθηκε σε 58,29 την 16^η ημέρα του πειράματος. Την ίδια πτωτική πορεία ακολούθησαν και οι τιμές L^* για τα δείγματα CP, CP+0,5 % X, CP+1% X, CP+1,5% X, CP+1% O/O, CV, CV+0,5 % X, CV+1 % X, CV+1,5 % X, CV+1% O/O, CMAP, CMAP +0,5 % X και CMAP +1,5 % X, που εμφάνισαν αντίστοιχα τιμές 49,72, 55,56, 58,11, 57,65, 57,16, 58,65, 56,81, 57,06, 56,73, 58,76, 59,15, 59,81 και 59,59 την 16^η ημέρα συντήρησης. Το γεγονός ότι η τιμή της χρωματικής παραμέτρου δεν μειώθηκε περισσότερο από 5 μονάδες είναι θετικό, καθώς σύμφωνα με τους Seydim et al (2006), αύξηση αυτού του μεγέθους οδηγεί σε χρωματική διαφορά του προϊόντος που γίνεται αντιληπτή από τον καταναλωτή.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα των Chouliara et al (2007 β), οι οποίοι διαπίστωσαν μείωση των τιμών της φωτεινότητας σε φιλέτο κοτόπουλου που συντηρήθηκε αερόβια στους 4 °C (από 49,5 σε 45,9 την 12^η ημέρα συντήρησης).

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων για τις τιμές τη παραμέτρου L^* , έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Αντίθετα τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη, είχαν στην πλειοψηφία τους στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συσκευασία, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και αέρα, τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα αντίστοιχα δείγματα αναφοράς (CP και CV).

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 16**, η αρχική τιμή της ερυθρότητας στα δείγματα του μάρτυρα ήταν 0,91. Στη συνέχεια και έως την 16^η ημέρα συντήρησης η ερυθρότητα μειώθηκε στην τιμή -1,26. Ίδια πορεία εμφάνισαν και τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό με ή χωρίς την προσθήκη οποιασδήποτε συγκέντρωσης χιτοζάνης. Εξαιρέση αποτελούν τα δείγματα

CMAP+0,5 %X, CMAP+1% X και CMAP+1,5%X, τα οποία παρουσίασαν αύξηση της τιμής a^* (1,41, 2,28 και 1,97 αντίστοιχα).

Η χιτοζάνη έχει αναφερθεί ότι έχει σταθεροποιητική επίδραση στο κόκκινο χρώμα από διάφορους ερευνητές (No et al 2007). Σύμφωνα με τους Darmadji and Izuminoto (1994 α), Youn et al (1999) και Jo et al (2001), η προσθήκη χιτοζάνης σε προϊόντα κρέατος αύξησε τις τιμές ερυθρότητας κατά τη συντήρησή τους υπό ψύξη.

Όσον αφορά τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων των τιμών a^* , αυτή έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$) εκτός του δείγματος που συσκευάστηκε σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκε με προσθήκη 1 % w/v χιτοζάνη. Όσον αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για όλα δείγματα, είτε συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες ή υπό κενό ή σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Σε ότι αφορά τη συσκευασία, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αέρα, τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα δείγματα αναφοράς (C και CP)

Η αρχική τιμή της παραμέτρου b^* (**γράφημα 17**) ήταν 9,68 και αυξήθηκε την 16^η ημέρα συντήρησης σε 12,19. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και συγκεντρώσεις χιτοζάνης 0,5, 1 και 1,5 %, όπως επίσης και το δείγμα αναφοράς CV (συσκευασμένο υπό κενό χωρίς προσθήκη χιτοζάνης), παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές την 16^η ημέρα συντήρησης έναντι των υπολοίπων.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με αυτά των Darmadji and Izumimoto (1994 β) οι οποίοι διαπίστωσαν αύξηση των τιμών b^* σε δείγματα βοδινού κρέατος που περιείχαν χιτοζάνη (0,2, 0,5 και 1% v/w) κατά την αποθήκευσή τους σε αερόβια συσκευασία στους 4 °C για 10 ημέρες. Οι Jo et al (2001) παρασκεύασαν χοιρινά λουκάνικα προσθέτοντας χιτοζάνη 0,2 % και τα συσκεύασαν αερόβια και σε συσκευασία κενού. Μετά από συντήρηση στους 4 °C, διαπίστωσαν ότι η τιμή b^* ήταν πάντοτε υψηλότερη στα δείγματα που περιείχαν χιτοζάνη εκτός από την 1^η και την 3^η εβδομάδα αποθήκευσης στις συσκευασίες κενού. Επίσης η τιμή b^* στα αερόβια συσκευασμένα δείγματα, ήταν ελαφρώς υψηλότερη σε σχέση με τις συσκευασίες κενού. Τέλος οι Youn et al (1999) και Jo et al (2001) ανέφεραν ότι η

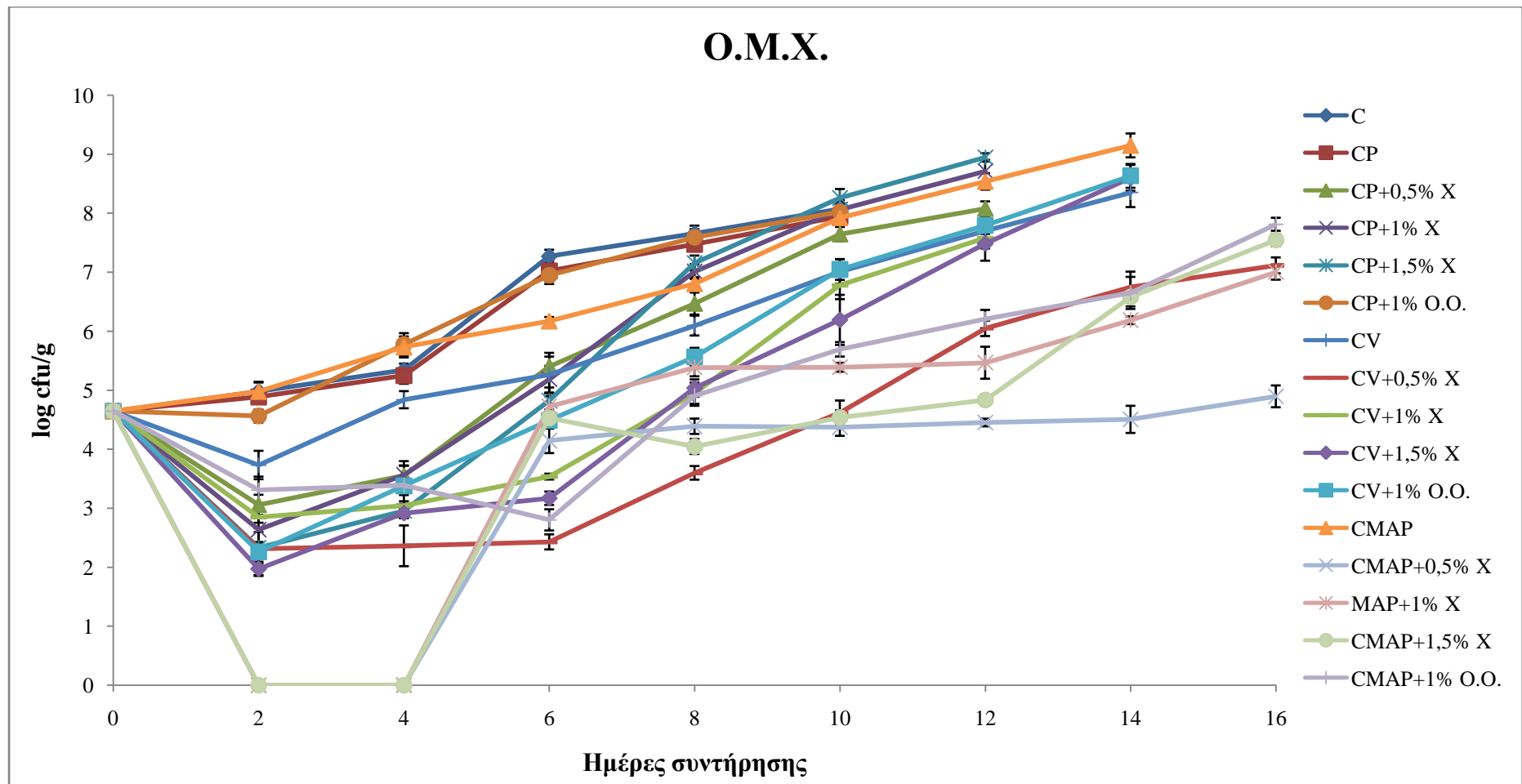
προσθήκη 0,5 % χιτοζάνης σε χοιρινά λουκάνικα αύξησε την τιμή b^* συμπεραίνοντας ότι το φυσικό χρώμα της χιτοζάνης επιδρά στο επιφανειακό χρώμα των κρεατοπαρασκευασμάτων.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης των τιμών της παραμέτρου b^* , έδειξαν ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Όσον αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Σε ότι αφορά τη συσκευασία, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και αέρα, τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα δείγματα αναφοράς.

4.2.2 Μικροβιολογικές αναλύσεις

4.2.2.1 Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (O.M.X.)

Στο **γράφημα 18** φαίνεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (O.M.X.) σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 18. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα σε νοπά μπούτια κοτόπουλου.

Σύμφωνα με το **γράφημα 18**, η αρχική τιμή O.M.X. στο δείγμα του μάρτυρα (C) ήταν 4,64 log CFU/g. Η αρχική O.M.X. των δειγμάτων συμφωνεί με την αντίστοιχη τιμή 4,3 log CFU/g που αναφέρεται από τους Chouliara et al (2007 β), Patsias et al (2008), Senter et al 2000 (3,5-4,1 log CFU/g), Sallam and Samejima 2004 (3,6 log CFU/g) για φρέσκο στήθος κοτόπουλου, καθώς και από τους Kim and Marshall (1999), Elliot et al (1985) για κρέας από μπούτι κοτόπουλου (3-4 log CFU/g). Οι Sarantopoulos et al (1998) αναφέρουν αρχική τιμή O.M.X. 5,5 log CFU/g για κομμάτια κρέατος από μπούτι κοτόπουλου. Επίσης η αρχική χλωρίδα λουκάνικου από κρέας κοτόπουλου ήταν υψηλότερη από 4,7 log CFU/g (Lee et al 1997). Οι υψηλότερες αυτές τιμές πιθανόν να οφείλονται στον τρόπο επεξεργασίας του προϊόντος, ο οποίος περιλαμβάνει τον τεμαχισμό κρέατος κοτόπουλου.

Το δείγμα του μάρτυρα (C), εμφάνισε γρήγορο ρυθμό μικροβιολογικής αλλοίωσης, καθώς η O.M.X. ξεπέρασε τους 7 log CFU/g την 5^η ημέρα συντήρησης υπό ψύξη. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε και η έρευνα των Senter et al (2004), Balamatsia et al (2006), Sarantopoulos et al (1998), σύμφωνα με τους οποίους η O.M.X. αποστεωμένου στήθους κοτόπουλου και τεμαχισμένου κρέατος από μπούτι κοτόπουλου, ξεπέρασε τους 7 log CFU/g μετά από 4-5 ημέρες συντήρησης στους 4 °C.

Στην παρούσα μελέτη, τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβια συσκευασία με ή χωρίς προσθήκη χιτοζάνης CP, CP+0,5 % X, CP+1 % X, CP+1,5 % X, CP+1 % O.O., ξεπέρασαν την τιμή 7 log CFU/g την 6^η, 9^η, 8^η και 6^η ημέρα αντίστοιχα. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι το οξικό οξύ (O.O.) δεν έδειξε να έχει αντιμικροβιακή δράση καθώς η ημέρα, που το δείγμα που επεξεργάστηκε μόνο με οξικό οξύ ξεπέρασε το όριο αλλοίωσης, συμπίπτει με εκείνη των δειγμάτων αναφοράς. Επίσης η συγκέντρωση χιτοζάνης 0,5 % w/v φαίνεται να έχει μεγαλύτερη αντιμικροβιακή επίδραση σε σχέση με τις συγκεντρώσεις χιτοζάνης 1 και 1,5 % w/v, καθώς η συγκέντρωση χιτοζάνης 0,5 % w/v αύξησε τον χρόνο ζωής των δειγμάτων κατά 4 - 5 ημέρες σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, σε αντίθεση με τις άλλες (2-3 ημέρες). Πιστεύεται ότι αυτό πιθανόν να οφείλεται στην καλύτερη κάλυψη των δειγμάτων λόγω μεγαλύτερης ρευστότητας στη συγκέντρωση αυτή.

Στα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συσκευασία κενού με ή χωρίς την προσθήκη αντιμικροβιακού παράγοντα CV, CV+0,5 % X, CV+1 % X, CV+1,5 % X και CV+1 % O.O., ο χρόνος συντήρησης αυξήθηκε κατά 5, 10, 6, 6 και 6 ημέρες

αντίστοιχα σε σχέση με τον μάρτυρα. Το ίδιο συμπέρασμα ως προς τη δράση της χιτοζάνης προκύπτει και για τα συσκευασμένα σε αέρα δείγματα.

Όσον αφορά τη συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με συγκέντρωση αερίων 20% CO₂/80% N₂ και χρήση χιτοζάνης CMAP, CMAP+1 % X, CMAP+1,5 % X, καθώς επίσης και η χρήση οξικού οξέος 1 % (CMAP+1 % O.O.) η μικροβιολογική αλλοίωση επήλθε την 8^η, 16^η, 15^η και 15^η ημέρα αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε MAP και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη συγκέντρωσης 0,5 % w/v, δεν ξεπέρασαν το μικροβιολογικό όριο του 7 log CFU/g καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος. Επίσης για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη, παρατηρήθηκε αναστολή της ανάπτυξης της O.M.X. έως και την 4^η ημέρα. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη συνδυαστική αντιμικροβιακή δράση τόσο της χιτοζάνης όσο και του CO₂ που περιείχε η συσκευασία. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα των Campaniello et al (2008), οι οποίοι σε έρευνα που πραγματοποίησαν με εμφάνιση λάχανου σε διάλυμα χιτοζάνης και συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, παρατήρησαν σημαντική μείωση του πληθυσμού της O.M.X. κατά τις 2-3 πρώτες ημέρες συντήρησης στους 7 °C, αλλά μετά από 4 ημέρες η αντιμικροβιακή επίδραση δεν ήταν πλέον εμφανής.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι επίσης σε συμφωνία με τα αντίστοιχα των Darmadji and Izumimoto (1994 α), Georgantelis et al (2007 β), Soutos et al (2008) οι οποίοι ανέφεραν ότι η συσκευασία σε αέρα και η προσθήκη χιτοζάνης 1% w/v υπό μορφή σκόνης, αύξησε το χρόνο ζωής σε προϊόντα από χοιρινό κρέας καθώς μείωσαν την τιμή της O.M.X. κατά 1-2 log CFU/g τις πρώτες 5-10 ημέρες συντήρησης στους 4 °C. Οι Sagoo et al (2002) διαπίστωσαν ότι προσθήκη χιτοζάνης σε συγκεντρώσεις 0,3 και 0,6 % σε χοιρινό κιμά, μείωσε την O.M.X. έως και 3 log CFU/g τις 3 πρώτες ημέρες της αποθήκευσης στους 4 °C. Στη συνέχεια, η ανάπτυξη της O.M.X. είχε παρόμοιες τιμές για τα μείγματα σε αμφοτέρως τις συγκεντρώσεις χιτοζάνης και οι τελικοί τους πληθυσμοί μετά από 18 ημέρες ήταν μικρότεροι σε σχέση με το μάρτυρα.

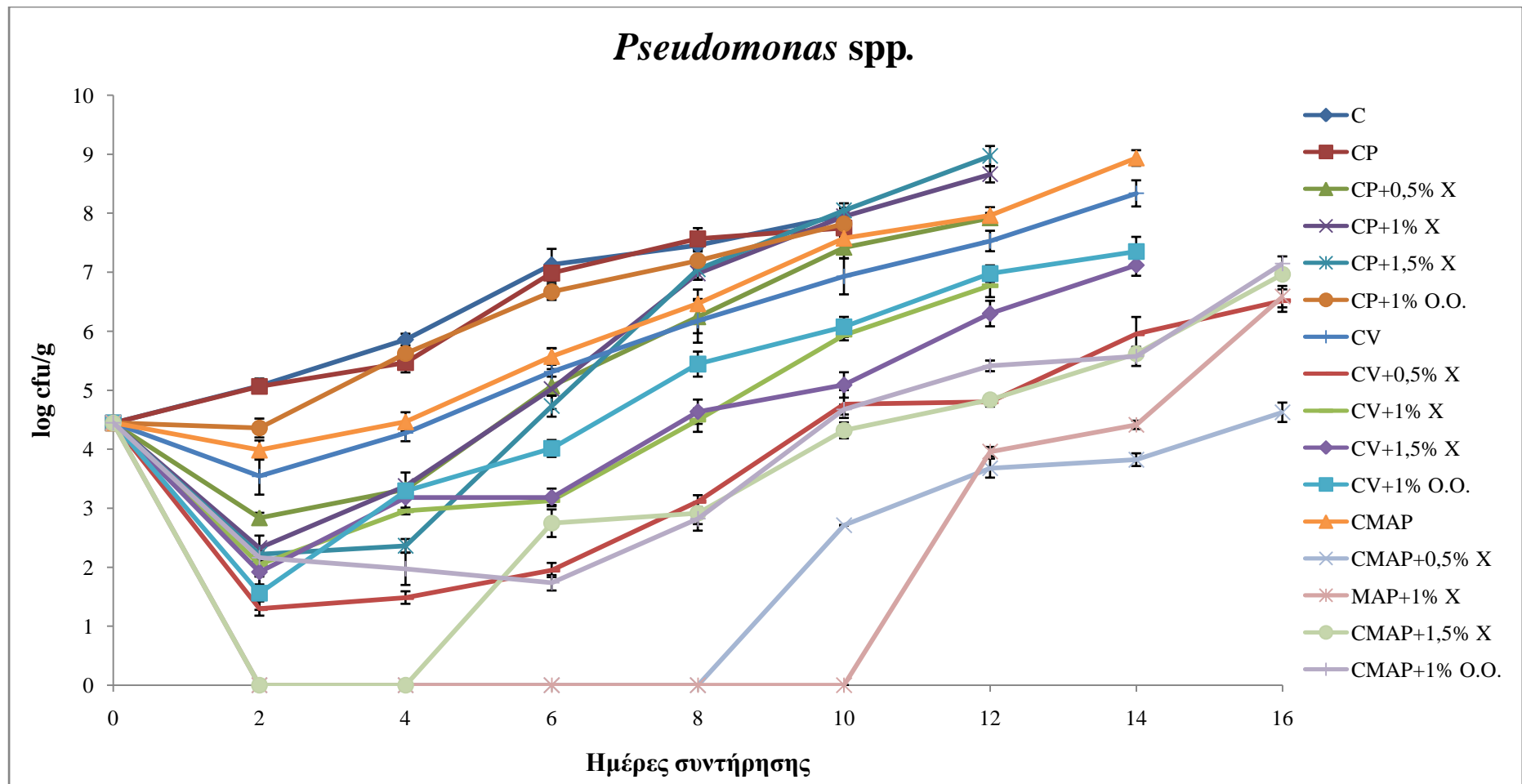
Η επιμήκυνση του χρόνου συντήρησης στην περίπτωση των δειγμάτων που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη μπορεί να αποδοθεί στην αντιμικροβιακή δράση της ενάντια στους μικροοργανισμούς αλλοίωσης. Για τον τρόπο της αντιμικροβιακής δράσης της χιτοζάνης έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί, οι οποίοι συνοψίζονται ως εξής: αλληλεπίδραση των θετικά φορτισμένων αμινομάδων της χιτοζάνης με

αρνητικά φορτισμένες ομάδες της επιφάνειας της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών με αποτέλεσμα την απώλεια ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών και άλλων συστατικών, εκλεκτική δέσμευση ιχνοστοιχείων με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών και παραγωγής τοξινών από αυτούς, την αδρανοποίηση ενζυμικών συστημάτων που δρουν ως αμυντικοί μηχανισμοί στα μικροβιακά κύτταρα καθώς και την αναστολή της σύνθεσης RNA από τους μικροοργανισμούς (Shahidi et al 1999).

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης των τιμών της O.M.X., έδειξαν ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Όσον αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για όλα τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 1 και 1,5%. Σε σχέση με τη συσκευασία, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα δείγματα αναφοράς αυτών.

4.2.2.2 Ψευδομονάδες (*Pseudomonas* spp.)

Στο **γράφημα 19** φαίνεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των ψευδομονάδων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 19. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των βακτηρίων του γένους *Pseudomonas* spp. σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των ψευδομονάδων ήταν 4,45 log CFU/g. Σύμφωνα με το **γράφημα 19**, την 6^η ημέρα συντήρησης ο πληθυσμός τους έφτασε τους 7,13 log CFU/g για τα δείγματα αναφοράς (μη συσκευασμένα-μη επεξεργασμένα δείγματα). Για τα δείγματα CP, CP+0,5% X, CP+1% X, CP+1,5%X και CP+1% O.O., ο πληθυσμός των ψευδομονάδων έφτασε το όριο του 7 log CFU/g την 6^η, 9^η, 9^η, 8^η και 7^η ημέρα αντίστοιχα. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, οι Patsias et al (2008), Kim and Song (2004) και Chouliara et al (2007 β) αναφέρουν ότι οι ψευδομονάδες στο τέλος της περιόδου συντήρησης φιλέτου από κοτόπουλο, κατέληξαν σε πληθυσμούς ίσους με 8,0 (6^η ημέρα συντήρησης), 8,0 (10^η ημέρα) και 7,2 log CFU/g (9^η ημέρα) αντίστοιχα.

Την 6^η ημέρα συντήρησης ο πληθυσμός των ψευδομονάδων έφτασε τους 7,0, 1,95, 3,12, 3,7 και 4,4 log CFU/g στα δείγματα CV, CV+0,5% X, CV+1,0% X, CV+1,5% X και CV+1% O.O. αντίστοιχα. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της χιτοζάνης για τα συσκευασμένα σε κενό δείγματα, παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 1,5% και 1% O.O. έφτασαν στο όριο αποδοχής την 14^η και 13^η ημέρα αντίστοιχα, ενώ τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5% δεν ξεπέρασαν το όριο του 7 log CFU/g μέχρι και το τέλος του πειράματος.

Την 10^η ημέρα συντήρησης ο πληθυσμός των ψευδομονάδων έφτασε τους 7,51, 2,7, 0,0, 4,32 και 4,67 log CFU/g στα δείγματα CMAP, CMAP+1 % X, CMAP+1,5 % X, και CMAP+1 % O.O. αντίστοιχα. Όλα τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα δεν ξεπέρασαν το όριο αποδοχής μέχρι και το τέλος του πειράματος πλην του δείγματος που επεξεργάστηκε με οξικό οξύ 1% που ξεπέρασε το ανεκτό όριο την 16^η ημέρα.

Η αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης έναντι των Gram αρνητικών βακτηρίων, όπως τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* spp. έχει αναφερθεί ότι οφείλεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ των πολυκατιοντικών μορίων της και των ανιοντικών ενώσεων (LPS) των μεμβρανών των Gram αρνητικών μικροοργανισμών που έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της διαπερατότητάς τους (Chung et al 2003). Η αναστολή της σύνθεσης mRNA και των πρωτεϊνών έχει επίσης προταθεί για την αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης (Sudharshan et al 1992).

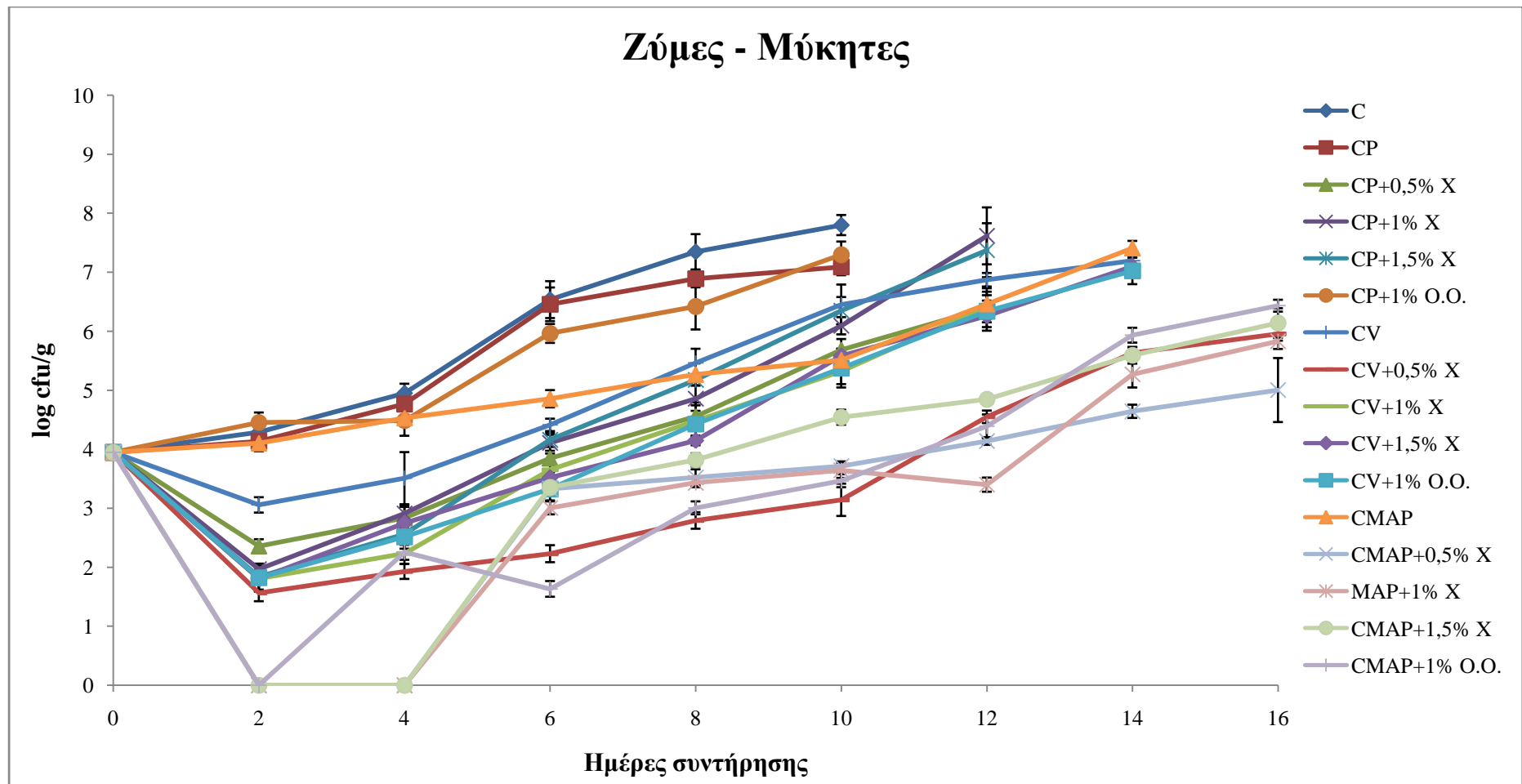
Οι Sheridan et al (1997) διαπίστωσαν επίσης ότι τα κρέατα που συσκευάστηκαν σε κενό παρουσίασαν πιο αργή αερόβια ανάπτυξη των βακτηρίων από το συσκευασμένο κρέας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα που περιείχε οξυγόνο.

Είναι πλέον τεκμηριωμένο ότι η συσκευασία υπό κενό επιβραδύνει σημαντικά την ανάπτυξη των αερόβιων μικροβίων και συνεπώς την προκαλούμενη αλλοίωση λόγω της αμελητέας ανάπτυξης αυτών (Martinez et al 2006).

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Σε ότι αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για όλα τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5 και 1,0% w/v. Αντίθετα τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη, εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συσκευασία, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό, αέρα και τροποποιημένη ατμόσφαιρα τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα δείγματα αναφοράς αυτών.

4.2.2.3 Ζύμες και Μύκητες

Στο **γράφημα 20** παρουσιάζεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των ζυμών και μυκήτων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 20. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των ζυμών και μυκήτων σε νωπά μπουτία κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των ζυμών και μυκήτων στο προϊόν ήταν 3,95 log CFU/g, ενώ για την 8^η ημέρα του πειράματος, οι πληθυσμοί των ζυμών και μυκήτων για τα δείγματα C, CP, CV και CMAP ήταν αντίστοιχα 7,34, 6,89, 5,46 και 5,27 log CFU/g.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβια συσκευασία και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0 και 1,5% w/v, παρουσίασαν υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα επεξεργασμένα και συσκευασμένα σε κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα δείγματα.

Όπως φαίνεται και από το **γράφημα 20** τα δείγματα που συσκευάστηκαν στον αέρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ, είχαν κατά την 8^η ημέρα πληθυσμούς ζυμών και μυκήτων 4,55, 4,89, 5,17 και 6,42 log CFU/g αντίστοιχα, περίπου από 0,5 έως 2,34 log CFU/g μικρότερους σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς (CP). Τη μικρότερη μείωση είχαν τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με 1% οξικό οξύ σε συσκευασία αέρα. Αντίστοιχα, τα παραπάνω δείγματα έφτασαν στο ανώτατο αποδεκτό όριο την 12^η, 11^η, 11^η και 9^η ημέρα σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς που αλλοιώθηκαν την 8^η ημέρα. Οι Kim and Song (2004) και Soldatou et al (2009) αναφέρουν ότι ο πληθυσμός των ζυμών-μυκήτων σε φιλέτο κοτόπουλο και σουβλάκι από πρόβειο κρέας που συντηρήθηκαν αερόβια υπό ψύξη (4 °C) έφτασε τους 5,5 log CFU/g την 6^η-7^η ημέρα συντήρησης.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% και 1% οξικό οξύ είχαν κατά την 12^η ημέρα πληθυσμούς 4,55, 6,42, 6,26 και 6,34 log CFU/g αντίστοιχα σε σχέση με τον μάρτυρα που είχε 6,87 log CFU/g την ίδια ημέρα. Η μεγαλύτερη μείωση των ζυμών και μυκήτων επιτεύχθηκε με επεξεργασία με 0,5% w/v χιτοζάνη που μείωσε τον πληθυσμό κατά 2,32 λογαριθμικές μονάδες και παρέμεινε μέχρι το τέλος του πειράματος κάτω του ανώτατου αποδεκτού ορίου (5,95 την 16^η ημέρα).

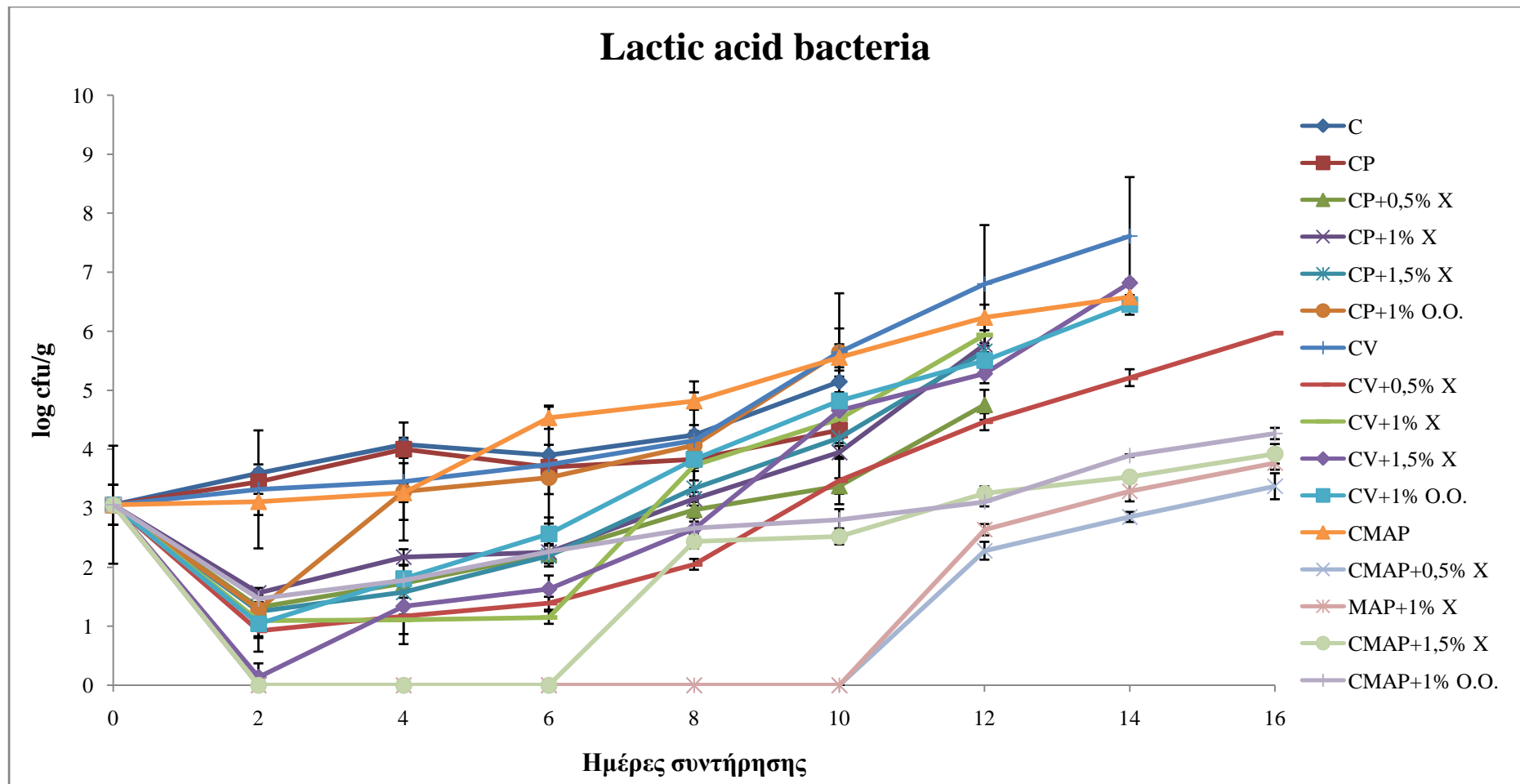
Από το **γράφημα 20** φαίνεται επίσης, ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ είχαν κατά την 14^η ημέρα πληθυσμούς ζυμών και μυκήτων 4,64, 5,27, 5,59 και 5,93 log CFU/g αντίστοιχα ενώ ο μάρτυρας χωρίς την προσθήκη χιτοζάνης 7,41 log CFU/g. Αξιοσημείωτο είναι ότι όλα τα δείγματα παρέμειναν κάτω από το όριο μέχρι και το τέλος του πειράματος φτάνοντας τα 5,0, 5,83, 6,24, και 6,43 log CFU/g την 16^η ημέρα.

Από τα παραπάνω γίνεται εύκολα αντιληπτό, ότι τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5 % w/v ανεξάρτητα από τη συσκευασία, εμφάνισαν καλύτερα αποτελέσματα στην διατήρηση χαμηλού πληθυσμού ζυμών και μυκήτων σε σχέση με τα αντίστοιχα δείγματα αναφοράς. Επιπλέον, η χιτοζάνη, έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την ανάπτυξη των ζυμών-μυκήτων σε προϊόντα ζωικής ή φυτικής προέλευσης (Shahidi and Abuzaytoun 2005). Για παράδειγμα, οι Sago et al (2002), αναφέρουν ότι η προσθήκη χιτοζάνης για τη συντήρηση χοιρινού κιμά, μείωσε τον πληθυσμό των ζυμών-μυκήτων κατά 2,0 log CFU/g σε σχέση με τον μάρτυρα, ενώ οι Cheah and Page (1997) αναφέρουν ότι η εμφύσηση καρότων σε διάλυμα χιτοζάνης 2% και 4% w/v, μείωσε την ανάπτυξη των μυκήτων κατά 28-88%. Τέλος, οι Devlieghere et al (2004) αναφέρουν ότι η παρουσία χιτοζάνης 0,005% w/v (διάλυμα χιτοζάνης-οξικού οξέος) επέφερε μείωση του πληθυσμού της ζύμης *Candida lambicans* κατά περίπου 3 log CFU/g, μετά από επώαση στους 7 °C για 8 ημέρες.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης των τιμών, έδειξαν ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Όσον αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για όλα τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 1 και 1,5%, όπως επίσης και για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5 και 1,0%. Ως προς τη συσκευασία, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα δείγματα αναφοράς.

4.2.2.4 Γαλακτικά βακτήρια

Στο **γράφημα 21** παρουσιάζεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 21. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων σε νωπά μπουτΙΑ κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων του νοπού προϊόντος ήταν 2,86 log CFU/g και έφτασε τους 5,15, 4,33, 3,94, 4,19, 5,64 log CFU/g την 10^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα C, CP, CP+0,5% X, CP+1,0% X, CP+1,5% X αντίστοιχα. Ανάλογες έρευνες έχουν αποδείξει την επιτυχημένη χρήση χιτοζάνης ενάντια στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων σε διάφορα προϊόντα ζωικής προέλευσης. Σε ορισμένες από αυτές, αναφέρεται ότι η προσθήκη χιτοζάνης 1% w/w σε χοιρινά λουκάνικα μείωσε τον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων κατά 1,65 Log CFU/g την 7^η ημέρα συντήρησης υπό ψύξη (Soultos et al 2008). Για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό την 10^η ημέρα συντήρησης, ο πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων έφτασε τους 5,64, 3,47, 4,51, 4,65 και 4,82 για τα δείγματα του μάρτυρα και τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% και 1,0% οξικό οξύ αντίστοιχα. Στον αντίποδα, από το **γράφημα 21** φαίνεται καθαρά ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη, είχαν τους μικρότερους πληθυσμούς γαλακτικών βακτηρίων από όλα τα δείγματα, καθώς μέχρι και το τέλος του πειράματος είχαν κατά 2 log CFU/g χαμηλότερες τιμές μικροβιακών πληθυσμών σε σχέση με τα υπόλοιπα. Την 10^η ημέρα δειγματοληψίας τα δείγματα μάρτυρες, τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με συγκεντρώσεις χιτοζάνης 1,5% και τα δείγματα με 1% οξικό οξύ είχαν πληθυσμούς γαλακτικών βακτηρίων 4,45, 2,52 και 2,80 log CFU/g αντίστοιχα, σε σχέση με τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με συγκεντρώσεις χιτοζάνης 0,5 και 1,0 % w/v που μέχρι εκείνη την ημέρα δεν είχε διαπιστωθεί ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων.

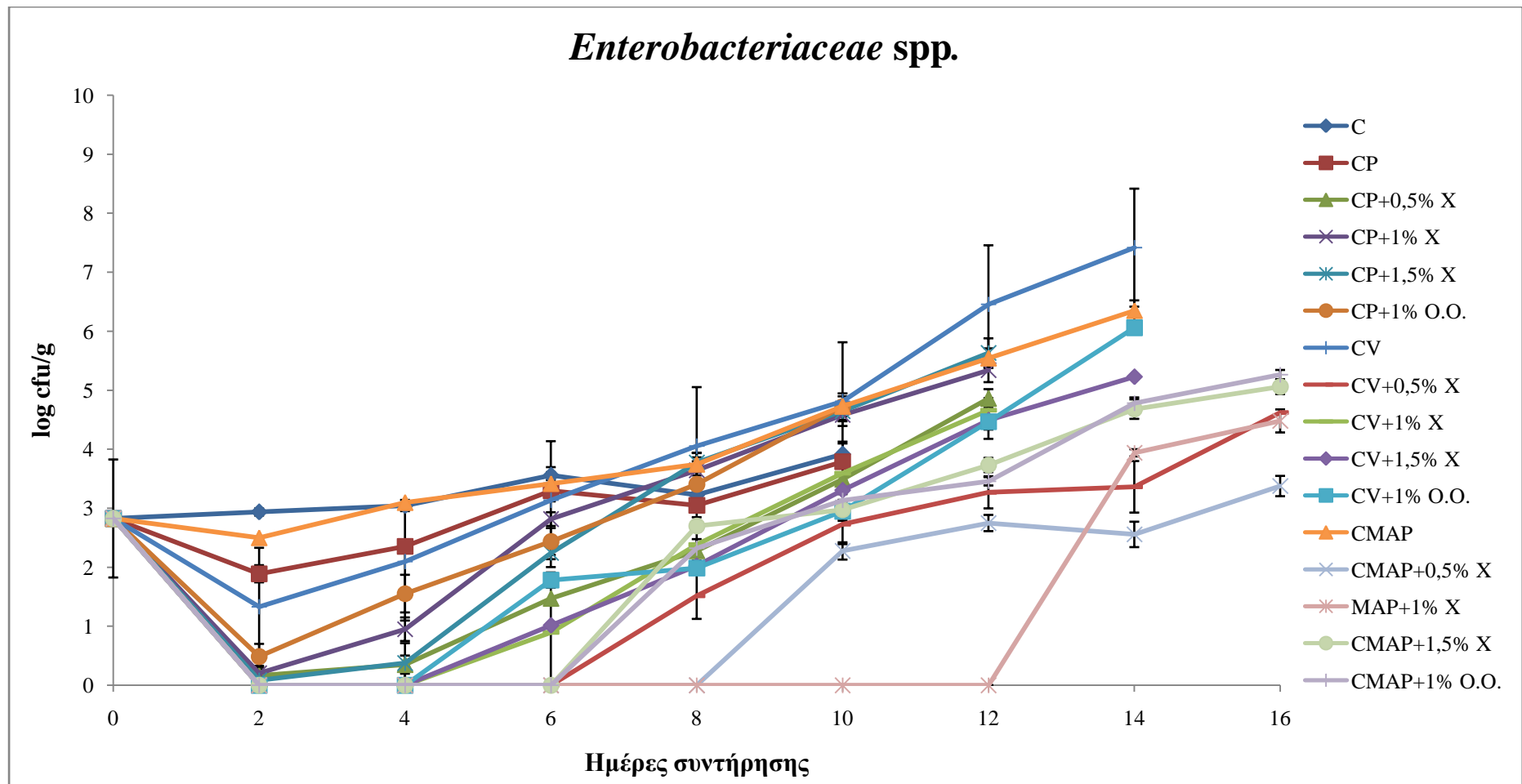
Στα συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργασμένα με χιτοζάνη 1,0 % w/v δείγματα παρατηρήθηκε μείωση της λογαριθμικής τιμής των γαλακτικών βακτηρίων κατά 2,86 log CFU/g σε σχέση με τον μάρτυρα (δείγματα C), καθώς μετά την επεξεργασία με χιτοζάνη, δεν αναπτύχθηκαν βακτήρια για 6 ημέρες για τα δείγματα CMAP+1,5% X και για 10 ημέρες για τα δείγματα CMAP+0,5% X και CMAP+1,0% X.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Σε ότι αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για όλα τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 1,0 και 1,5%. Αντίθετα τα δείγματα που συσκευάστηκαν

σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη, εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συσκευασία, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό, αέρα και τροποποιημένη ατμόσφαιρα τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα δείγματα αναφοράς, με εξαίρεση τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 1,0%, που ανεξάρτητα της συσκευασίας δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$).

4.2.2.5 Εντεροβακτήρια

Στο **γράφημα 22** παρουσιάζεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των εντεροβακτηρίων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 22. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των εντεροβακτηρίων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των εντεροβακτηρίων του νωπού προϊόντος ήταν 2,83 log CFU/g και έφτασε τους 3,92, 3,79, 3,49, 4,58, 4,65, 4,72, 4,81, 2,73, 3,59, 3,31, 2,95, 4,73, 2,28, 0 και 2,97 log CFU/g την 10^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα C, CP, CP+0,5% X, CP+1% X, CP+1,5% X, CP+ 1% O.O., CV, CV+0,5% X, CV+1% X, CV+1,5% X, CV+1% O.O., CMAP, CMAP+0,5% X, CMAP+1% X, CMAP+1,5% X και CMAP+ 1% O.O., αντίστοιχα.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η χιτοζάνη μείωσε κατά 0,5 έως 3 log CFU/g τον αρχικό πληθυσμό σε σχέση με τον μάρτυρα την 10^η ημέρα συντήρησης. Για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη συγκέντρωσης 0,5 και 1% w/v και συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, παρατηρήθηκε πλήρης αναστολή της ανάπτυξης των εντεροβακτηρίων έως την 8^η και 10^η ημέρα αντίστοιχα. Πιστεύεται ότι και στην προκειμένη περίπτωση η χιτοζάνη έδρασε συνεργιστικά με το CO₂ της συσκευασίας με αποτέλεσμα την αύξηση της αντιμικροβιακής δράσης.

Ο συνδυασμός συσκευασίας υπό κενό, τροποποιημένης ατμόσφαιρας και χιτοζάνης αποδείχθηκε ο πιο αποτελεσματικός για την αναχαίτιση της ανάπτυξης των εντεροβακτηρίων στο εξεταζόμενο προϊόν, καθώς μείωσε τον πληθυσμό τους μόλις από την δεύτερη ημέρα συντήρησης.

Οι Quattara et al (2000) ανέφεραν ότι τα εντεροβακτήρια που βρέθηκαν σε προϊόντα κρέατος (bologna, βόειο παστοურμά και μαγειρεμένο ζαμπόν) αναχαίτιστηκαν από την παρουσία αντιμικροβιακών ταινιών που περιείχαν χιτοζάνη 1% w/v και οξικό οξύ. Οι Soultos et al (2008) ανέφεραν μείωση του πληθυσμού των εντεροβακτηρίων κατά 1,1 log CFU/g, μετά την προσθήκη χιτοζάνης (1% w/v) σε χοιρινά λουκάνικα μετά από 7 ημέρες διατήρησης στους 4 °C.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Σε ότι αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για όλα τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 1,0 και 1,5% καθώς επίσης και για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη συγκέντρωσης 0,5 και 1,0%. Σε σχέση με τη συσκευασία, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλα τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό,

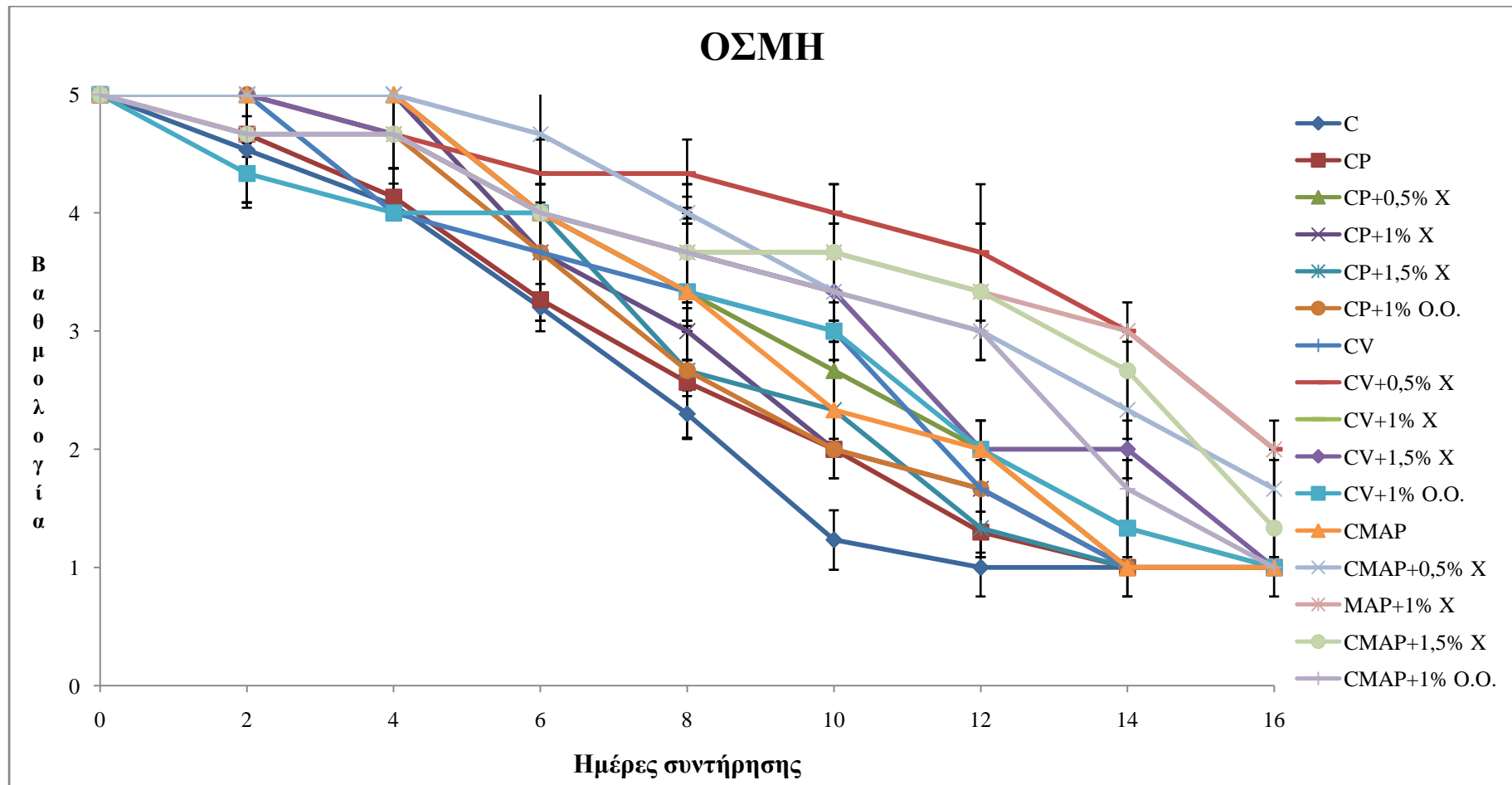
αέρα και τροποποιημένη ατμόσφαιρα τόσο σε σύγκριση μεταξύ τους, όσο και με τα δείγματα αναφοράς.

4.2.3 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Παράλληλα με την μικροβιολογική αξιολόγηση των δειγμάτων που συντηρήθηκαν σε αερόβια συσκευασία, συσκευασία υπό κενό ή συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, με ή χωρίς την προσθήκη χιτοζάνης, πραγματοποιήθηκε και αξιολόγηση της μεταβολής των οργανοληπτικών παραγόντων της οσμής, της υφής, της εμφάνισης και της γεύσης του προϊόντος. Η τιμή 3 θεωρήθηκε ως το κατώτερο όριο αποδοχής.

4.2.3.1 Οσμή

Στο **γράφημα 23** παρουσιάζεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην οσμή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου. Όπως φαίνεται από το **γράφημα 23**, κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης τα δείγματα από μπούτι κοτόπουλου είχαν ευχάριστη οσμή, η οποία μεταβλήθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 6^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.



Γράφημα 23. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην οσμή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 8^η, 6^η και 6^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ διατήρησαν για περισσότερο χρόνο μια ευχάριστη οσμή και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 14^η, 10^η, 10^η και 10^η ημέρα υπό κενό και 12^η, 14^η, 12^η και 12^η ημέρα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα αντίστοιχα. Από τα παραπάνω γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα διατήρησαν την οσμή πάνω από το αποδεκτό όριο για 4 έως 8 ημέρες περισσότερο σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση χιτοζάνης 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ, παρουσίασαν έντονη οσμή του τελευταίου με αποτέλεσμα να γίνεται εύκολα αντιληπτό από τους δοκιμαστές. Πιστεύεται ότι, για την πρώτη περίπτωση το πρόβλημα στην παχύρρευστη υφή του μίγματος χιτοζάνης-οξικού οξέος, με αποτέλεσμα τον εγκλωβισμό της οσμής του τελευταίου στην τελική σύνθεση. Αντίθετα από άλλες έρευνες (Mexis et al 2009) έχει παρατηρηθεί ότι η παρουσία αντιμικροβιακών παραγόντων με έντονο άρωμα και γεύση όπως η χιτοζάνη και τα διάφορα αιθέρια έλαια, μπορούν να υπερκαλύψουν την παραγωγή ανεπιθύμητων οσμηρών ενώσεων και κατά συνέπεια να επικαλύπτουν την οργανοληπτική αλλοίωση.

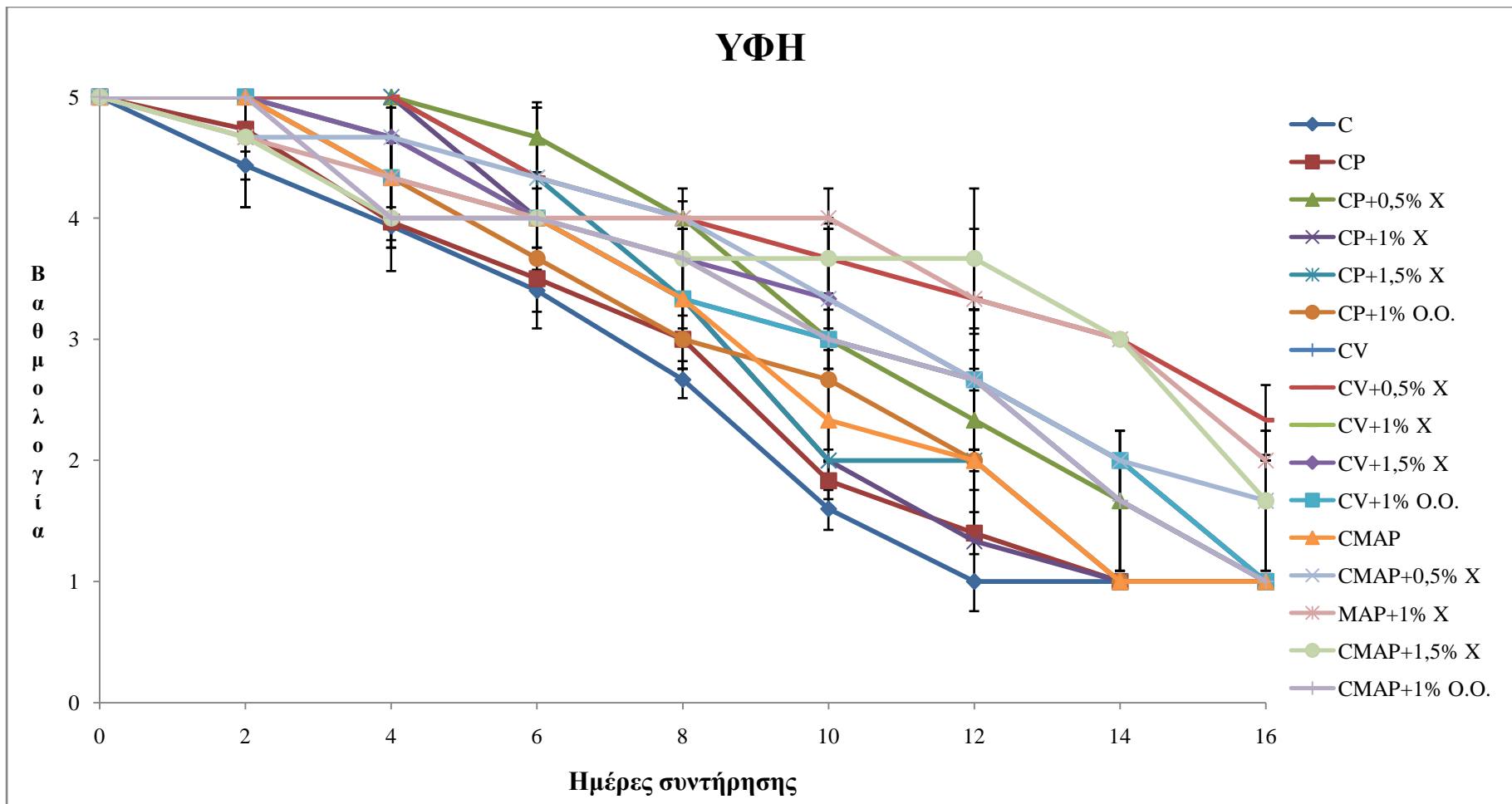
Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε ότι αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 0,5, 1,0 και 1,5% w/v και συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, όπως επίσης και για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 1,0 και 1,5% w/v και συσκευάστηκαν υπό κενό. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, βρέθηκαν όμως στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες.

4.2.3.2 Υφή

Στο **γράφημα 24** παρουσιάζεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην υφή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 24**, κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης τα δείγματα από μπούτια κοτόπουλου είχαν υφή φρέσκου προϊόντος (σκληρή και συμπαγής υφή), η οποία μεταβλήθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 8^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ πλησίασαν το όριο αποδοχής την 10^η, 9^η, 9^η και 9^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ διατήρησαν για περισσότερο χρόνο μια φρέσκια υφή και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 14^η, 11^η, 11^η και 11^η ημέρα (υπό κενό) και 11^η, 14^η, 14^η και 11^η ημέρα (σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) αντίστοιχα.



Γράφημα 24. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην υφή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

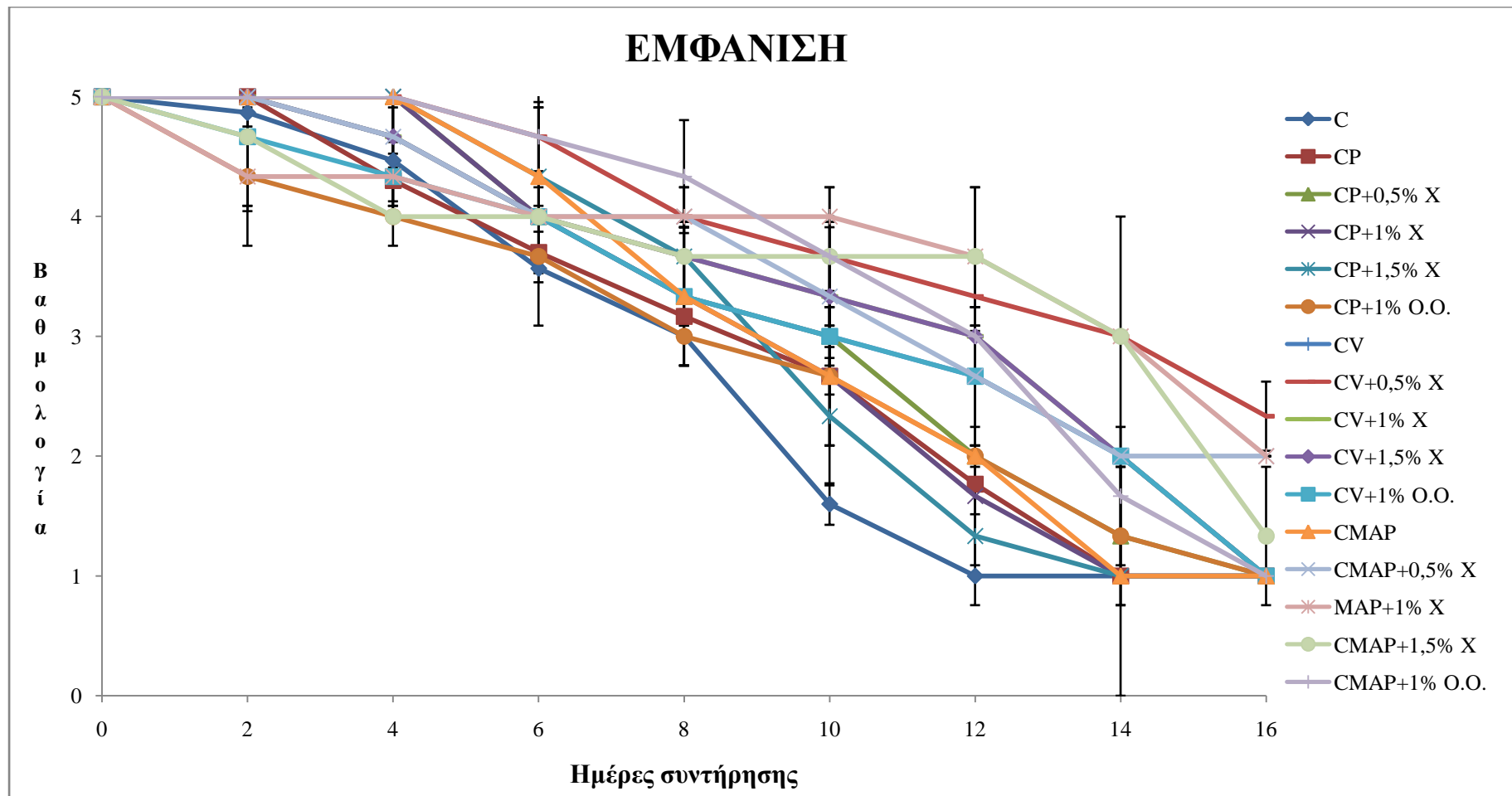
Για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και κενού και επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση χιτοζάνης 1,5% w/v παρατηρήθηκε εμφάνιση γλοιώδους υφής, η οποία πιθανόν να οφείλεται στην μεγάλη συγκέντρωση της χιτοζάνης σε συνδυασμό με την ύπαρξη πλήθους ψευδομονάδων. Το γεγονός αυτό γίνεται εύκολα αντιληπτό από τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ανάλυση του χρώματος και ειδικότερα της παραμέτρου L^* . Ειδικότερα παρατηρήθηκε μείωση της φωτεινότητας των συγκεκριμένων δειγμάτων καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος.

Από τα παραπάνω γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, διατήρησαν την υφή φρέσκου προϊόντος πάνω από το αποδεκτό όριο για 5 έως 8 ημέρες περισσότερο, σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αναφορικά με τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 0,5, 1,0 και 1,5% w/v και συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, όπως επίσης και για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 1,0 και 1,5% και συσκευάστηκαν υπό κενό και αερόβιες συνθήκες. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, σε συγκέντρωση χιτοζάνης 0,5% w/v καθώς και μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, σε συγκέντρωση χιτοζάνης 1,5% w/v. Αντίθετα βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες.

4.2.3.3 Εμφάνιση

Στο **γράφημα 25** παρουσιάζεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην εμφάνιση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 25. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην εμφάνιση σε νωπά μούτσια κοτόπουλου.

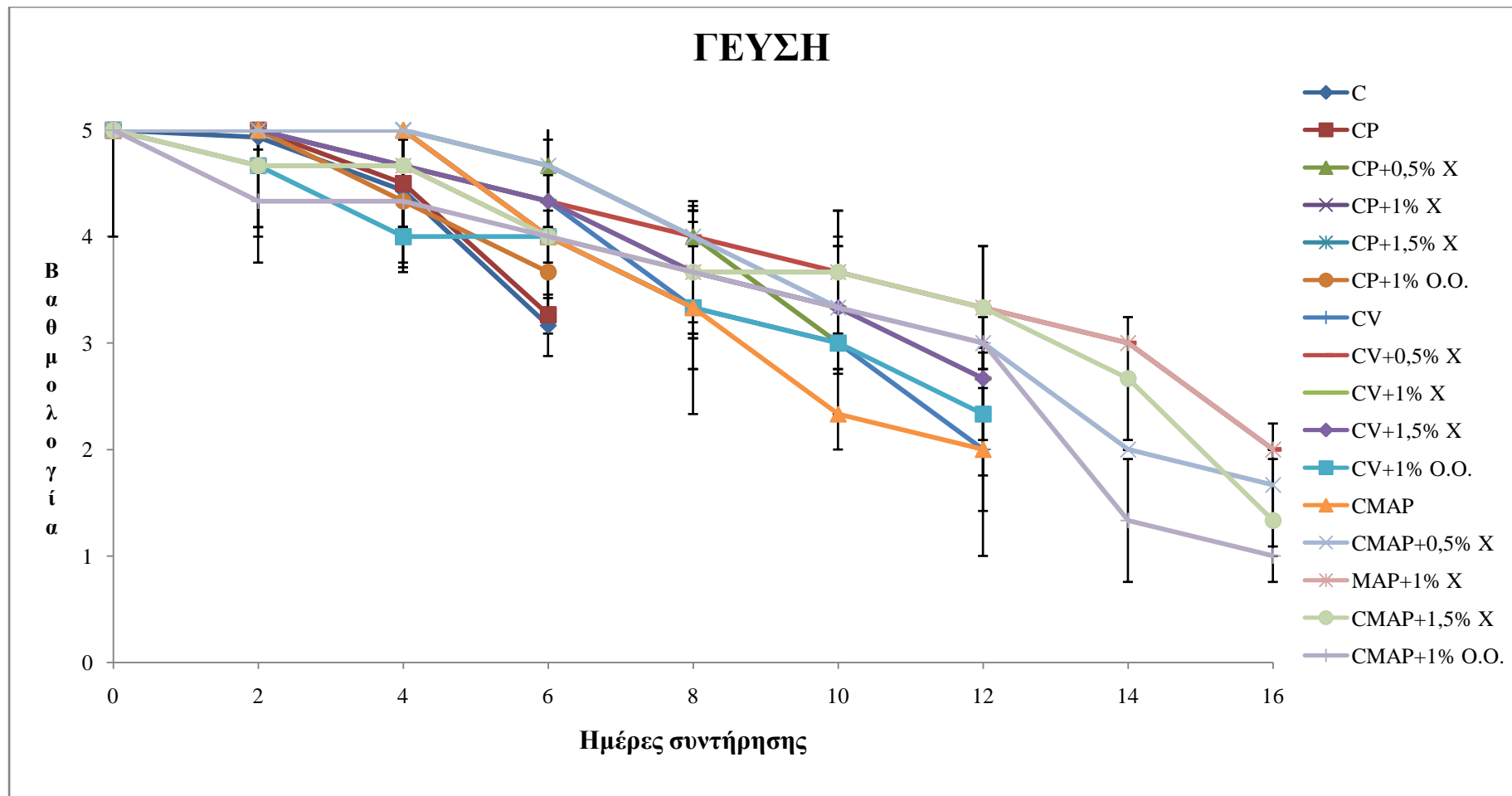
Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 10^η, 9^η, 9^η και 9^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ, διατήρησαν για περισσότερο χρόνο την εμφάνιση φρέσκου προϊόντος και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 14^η, 12^η, 12^η και 11^η ημέρα (υπό κενό) και 11^η, 14^η, 14^η και 12^η ημέρα (σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) αντίστοιχα.

Είναι προφανές ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, διατήρησαν την εμφάνιση φρέσκου προϊόντος πάνω από το αποδεκτό όριο για 3 έως 6 ημέρες περισσότερο, σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Κατά την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, προέκυψε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε ότι αφορά τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ και συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και αερόβιες συνθήκες, όπως επίσης και για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 1,0 και 1,5% w/v και συσκευάστηκαν υπό κενό. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, σε συγκέντρωση χιτοζάνης 1,5% w/v. Αντίθετα για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ και συσκευάστηκαν υπό κενό και αερόβιες συνθήκες, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες.

4.2.3.4 Γεύση

Στο **γράφημα 26** παρουσιάζεται η επίδραση της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στη γεύση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 26. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης της χιτοζάνης και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στη γεύση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Από το **γράφημα 26**, προκύπτει ότι κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης η γεύση των δειγμάτων από μπούτια κοτόπουλου, αντιπροσώπευε πλήρως τη γεύση του φρέσκου προϊόντος και μεταβλήθηκε αντιστρόφως ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης των δειγμάτων. Συγκεκριμένα τα δείγματα μαρτύρων C, CP, CV και CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 6^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 10^η, 8^η, 8^η και 6^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ, διατήρησαν για περισσότερο χρόνο τη γεύση φρέσκου προϊόντος και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 14^η, 11^η, 11^η και 10^η ημέρα (υπό κενό) και 12^η, 14^η, 13^η και 12^η ημέρα (σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) αντίστοιχα.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα διατήρησαν την γεύση φρέσκου προϊόντος, πάνω από το αποδεκτό όριο για 4 έως 8 ημέρες περισσότερο, σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Κατά την οργανοληπτική εξέταση της γεύσης, τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση χιτοζάνης 1,5% w/v δεν φάνηκαν να δυσαρεστούν τους δοκιμαστές.

Αξιοσημείωτο είναι, ότι τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης (γεύση) συμβαδίζουν με τα αντίστοιχα της μικροβιολογικής ανάλυσης, εφόσον η υπέρβαση του μικροβιολογικού ορίου αλλοίωσης (O.M.X.=7,0 log CFU/g) σε όλες τις μεταχειρίσεις (αερόβια, υπό κενό και τροποποιημένης ατμόσφαιρας συσκευασία) συνέπεσε με αυτή της οργανοληπτικής εξέτασης.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, προέκυψε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα, σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αναφορικά με τη συγκέντρωση της χιτοζάνης, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 0,5, 1,0, 1,5% w/v και συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, όπως επίσης και για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 1,0 και 1,5% w/v και συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες.

Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, σε συγκέντρωση χιτοζάνης 0,5, 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ. Τέλος για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη σε συγκέντρωση 1,0, 1,5% w/v και 1% οξικό οξύ και συσκευάστηκαν υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες.

4.2.4 Συμπεράσματα

Με βάση τα αποτελέσματα της πειραματικής περίπτωσης II προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Οι μικροβιακοί πληθυσμοί μειώθηκαν με την προσθήκη χιτοζάνης σε συγκεντρώσεις 0,5, 1, 1,5% w/v στις συσκευασίες αέρα, κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας για δεδομένη χρονική στιγμή.
- Η συσκευασία των δειγμάτων σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με σύσταση αερίων 20%CO₂/80%N₂ και προσθήκη χιτοζάνης σε συγκεντρώσεις 0,5, 1 και 1,5% w/v, είχε ως αποτέλεσμα την αναχαίτιση της ανάπτυξης των ψευδομονάδων για 8, 10 και 6 ημέρες αντίστοιχα.
- Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό κενό και εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα χιτοζάνης συγκέντρωσης 0,5% w/v, δεν ξεπέρασαν το μικροβιολογικό όριο αλλοίωσης έως το τέλος του πειράματος.
- Τα γαλακτικά βακτήρια καθώς και τα εντεροβακτήρια δεν αποτέλεσαν σημαντικό μέρος της χλωρίδας του προϊόντος.
- Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε MAP και επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη συγκέντρωσης 1% w/v παρουσίασαν τις μικρότερες μεταβολές κατά την διάρκεια συντήρησής τους για 16 ημέρες, σε ότι αφορά το χρώμα (παράμετροι L*,a*,b*).
- Τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου για τη γεύση έδειξαν ότι συμβαδίζουν με τα αντίστοιχα για την οσμή.
- Η χρήση της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας με ταυτόχρονη προσθήκη χιτοζάνης, αποδείχθηκε αποτελεσματική στην καθυστέρηση της ανάπτυξης της O.M.X.

- Η συγκέντρωση χιτοζάνης 1,5% w/v είχε αρνητική επίδραση στα δείγματα από μπούτια κοτόπουλου, σε ότι αφορά την οργανοληπτική αξιολόγηση της υφής.
- Η χιτοζάνη σε συγκεντρώσεις 0,5 και 1% w/v αποδείχτηκε αποτελεσματικό αντιμικροβιακό μέσο συντήρησης φρέσκου κρέατος από μπούτια κοτόπουλου, καθώς επέδρασε έναντι όλων των βακτηρίων που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη.
- Συμπερασματικά, συνεκτιμώντας τα αποτελέσματα και κυρίως αυτά της οργανοληπτικής εξέτασης, προκύπτει ότι η χρήση χιτοζάνης σε συγκέντρωση 1% w/v σε συνδυασμό με συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σύσταση αερίων 20%CO₂/80%N₂, προσέδωσε ένα ευχάριστο ως προς την οσμή, την υφή, τη συνολική εμφάνιση και τη γεύση προϊόν έως και την 14^η ημέρα συντήρησης.

4.3 Πειραματική περίπτωση ΙΙΙ

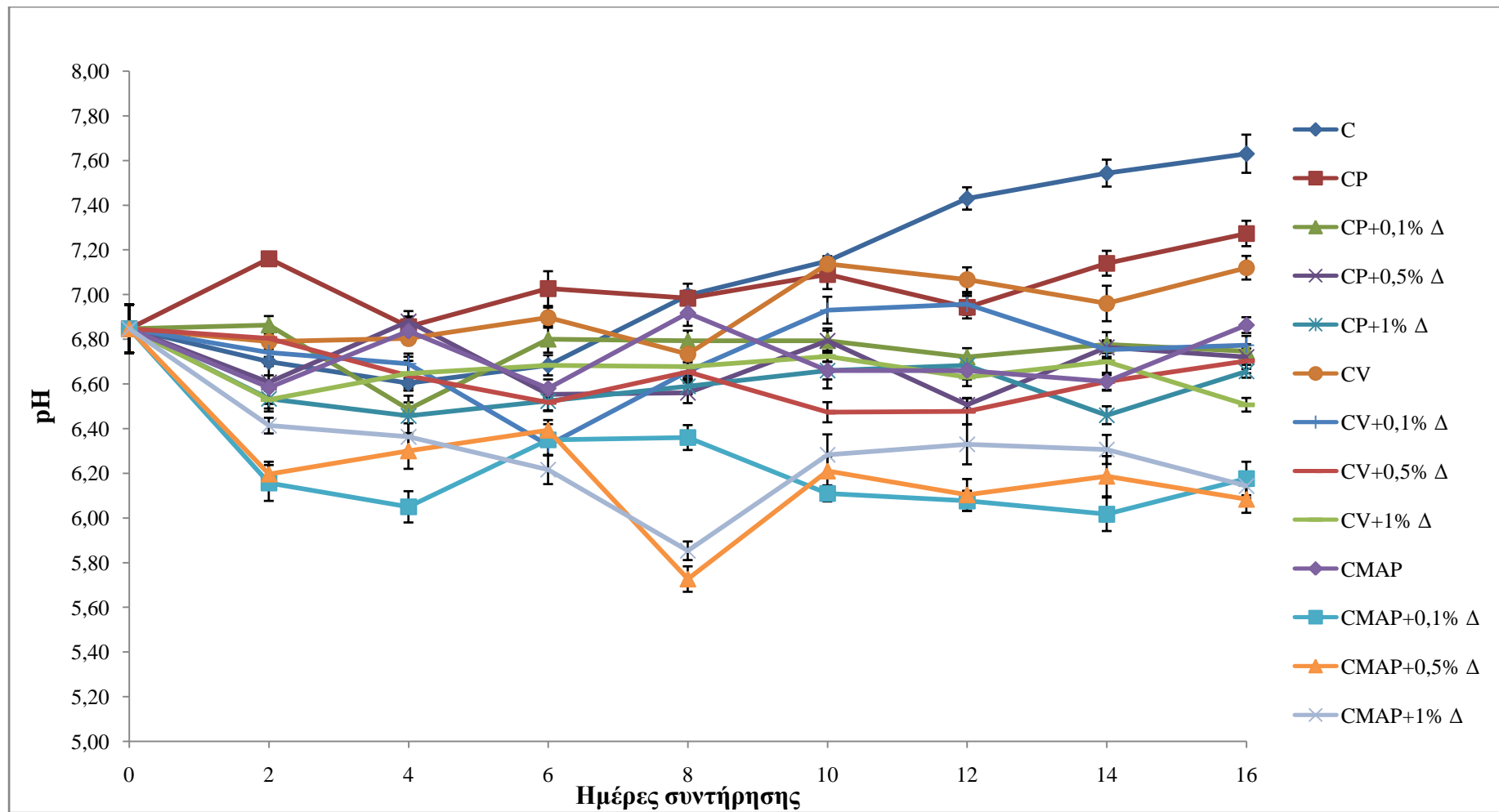
Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στο χρόνο ζωής σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Το δενδρολίβανο και το εκχύλισμά του, είναι μερικά από τα πιο μελετημένα φυσικά αντιοξειδωτικά που έχουν προστεθεί σε κρέας και προϊόντα πουλερικών. (Bojas and Brewer, 2007). Ο Sebranek et al (2005) έχουν αναφέρει ότι υπάρχουν διαφορές σε σχέση με την αντιοξειδωτική ικανότητα των προϊόντων από δενδρολίβανο σε κρέας πουλερικών. Τα διάφορα προϊόντα του δενδρολίβανου έχουν δείξει επιτυχή αντιοξειδωτική επίδραση σε μηχανικά αποστεωμένο κρέας γαλοπούλας συσκευασμένο σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (Mielnik et al 2003), σε ωμό μοσχαρίσιο και χοιρινό κρέας (Rojas and Brewer 2008), σε ψημένες μερίδες χοιρινού κρέατος (Nissen et al 2004) και ψημένες μερίδες μοσχαρίσιου κρέατος (Ahn et al 2007).

4.3.1 Χημικές αναλύσεις

4.3.1.1 pH

Στο **γράφημα 27** παρουσιάζεται η μεταβολή του pH κατά την συντήρηση κρέατος από νωπά μπούτια κοτόπουλου σε α) αερόβια συσκευασία, β) συσκευασία υπό κενό, γ) συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, με προσθήκη 0,1, 0,5 και 1% αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, καθώς επίσης και των δειγμάτων αναφοράς.



Γράφημα 27. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στο pH σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 27** τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με δενδρολίβανο, είχαν χαμηλότερες τιμές pH σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος. Ειδικότερα ο μάρτυρας (C) είχε αρχική τιμή pH 6,85, τιμή η οποία αυξήθηκε στο τέλος του πειράματος κατά πολύ (16^η ημέρα-7,63). Τα δείγματα CP, CP+0,1% Δ, CP+0,5% Δ, CP+1% Δ, CV, CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ, CV+1% Δ, CMAP, CMAP+0,1% Δ, CMAP+0,5% Δ και CMAP+1% Δ, είχαν τιμές pH την 16^η ημέρα του πειράματος 7,27, 6,47, 6,72, 6,66, 7,12, 6,77, 6,70, 6,51, 6,86, 6,18, 6,08 και 6,14 αντίστοιχα. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με δενδρολίβανο και συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (20%CO₂/80%N₂) παρουσίασαν τιμές pH πολύ χαμηλότερες σε σχέση με τα επεξεργασμένα με δενδρολίβανο και συσκευασμένα σε αέρα και υπό κενό δείγματα. Αυτό είναι πιθανόν, να οφείλεται στην παρουσία CO₂ της συσκευασίας. Γενικότερα παρατηρείται μια αυξομείωση των τιμών του pH καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος για τα περισσότερα δείγματα.

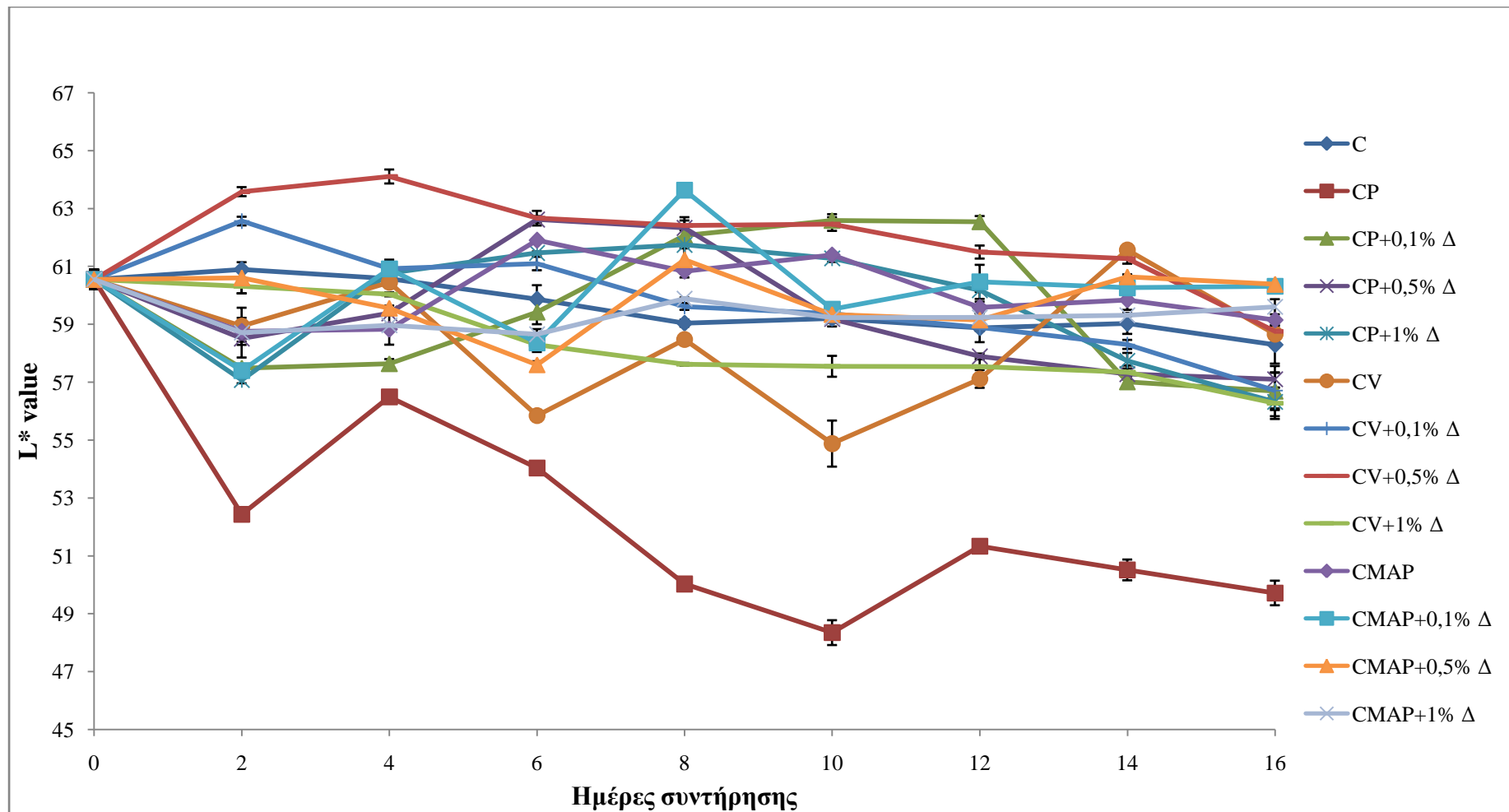
Οι Hussein et al (2012) σε έρευνα που πραγματοποίησαν σε βόειο κρέας και μηχανικά αποστεωμένο κρέας πουλερικών διαπίστωσαν ότι ο συνδυασμός μαντζουράνας και δενδρολίβανου σε ποσότητα 200 g/kg και θερμοκρασία διατήρησης τους -18 °C, δεν επηρέασε στατιστικά σημαντικά το pH. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Tegel et al (2015), καθώς σε πείραμα που πραγματοποίησαν με τρία διαφορετικά είδη δενδρολίβανου σε κοτομπουκιές για 9 μήνες σε κατάψυξη ανέφεραν ότι το pH δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά έως και το τέλος του πειράματος (9 μήνες). Επίσης σύμφωνα με τους Huiyun et al (2016), η τιμή του pH σε ωμό κρέας κοτόπουλου που είχε επεξεργαστεί με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 5, 10, 20, 40 και 80 mg/ml και είχε συντηρηθεί για 15 ημέρες σε θερμοκρασία 4 °C, ήταν 5,58 την τελευταία ημέρα συντήρησης, ενώ ο μάρτυρας είχε τιμή pH 6,66 την ίδια ημέρα.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 0,1, 0,5, 1,0% και συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, ενώ υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με

αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση και συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό, σε συγκέντρωση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 0,1 και 0,5%. Τέλος, όλα τα δείγματα, ανεξάρτητα από τη συσκευασία και τις συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες.

4.3.1.2 Χρώμα

Στα **γραφήματα 28, 29 και 30**, φαίνεται η επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου συγκεντρώσεων 0,1, 0,5 και 1,0%, της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές των παραμέτρων L^* (φωτεινότητα), a^* (ερυθρότητα) και b^* (κίτρινη απόχρωση), του χρώματος σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 28. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου L^* σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

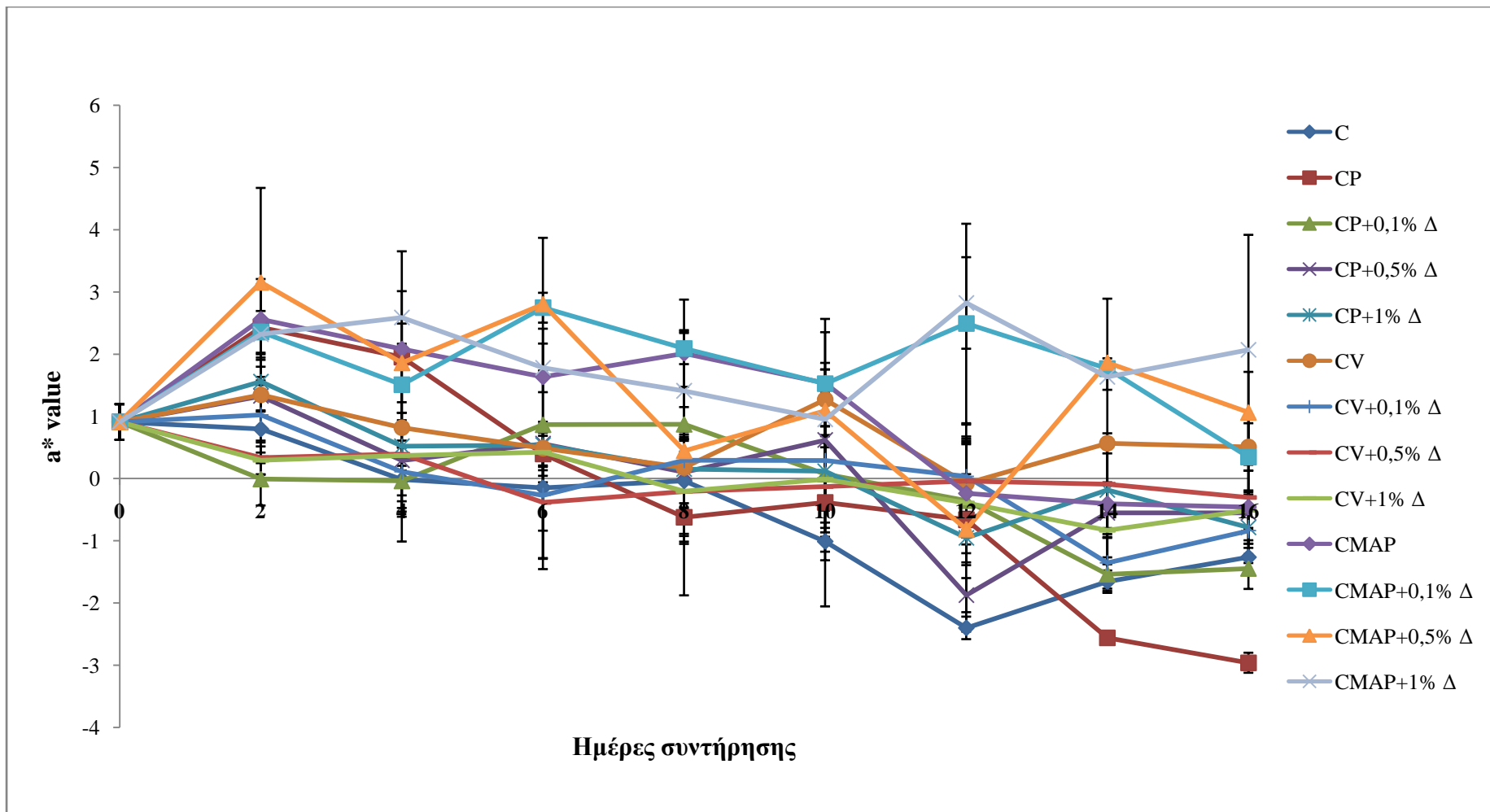
Όπως φαίνεται από το **γράφημα 28**, οι τιμές της φωτεινότητας L^* , στα δείγματα που προστέθηκε αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου και συσκευάστηκαν σε αέρα και υπό κενό μειώθηκαν προοδευτικά κατά την διάρκεια του χρόνου συντήρησης. Αντίθετα για τα δείγματα με προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σύνθεση αερίων 20%CO₂/80%N₂, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές με την πάροδο του χρόνου όσον αφορά την φωτεινότητα (L^*). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στον μικρό πληθυσμό των ψευδομονάδων που παρατηρήθηκε στα συγκεκριμένα δείγματα κατά την διάρκεια της συντήρησης τους. Η παράμετρος L^* στα δείγματα του μάρτυρα (C) από την αρχική τιμή 60,55 μειώθηκε σε 58,29 την 16^η ημέρα του πειράματος. Για τα δείγματα CP, CP+0,1% Δ, CP+0,5% Δ, CP+1% Δ, CV, CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ, CV+1% Δ, CMAP, CMAP+0,1% Δ, CMAP+0,5% Δ και CMAP+1% Δ, οι τιμές της παραμέτρου L^* ήταν 49,71, 56,66, 57,10, 56,32, 58,65, 56,71, 58,61, 56,27, 59,15, 60,33, 60,38 και 59,60 αντίστοιχα.

Οι Zhang et al (2016) βρήκαν σε νωπό κρέας κοτόπουλου μετά από προσθήκη εκχυλίσματος δενδρολίβανου ή γαρύφαλλου, τιμές L^* οι οποίες συνεχώς αυξάνονταν καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης για 15 ημέρες. Οι Pires et al (2017) διαπίστωσαν ότι η προσθήκη εκχυλίσματος δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 18,6 mg/kg και 480 mg/kg, δεν επηρέασε την παράμετρο L^* , σε μπιφτέκι κοτόπουλου που αποθηκεύτηκε στους -18 °C. Αντίθετα, προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (0,2%) σε φιλέτο πουλερικών, οδήγησε σε μείωση της τιμής L^* σε κατεψυγμένα δείγματα (Kahraman et al 2015).

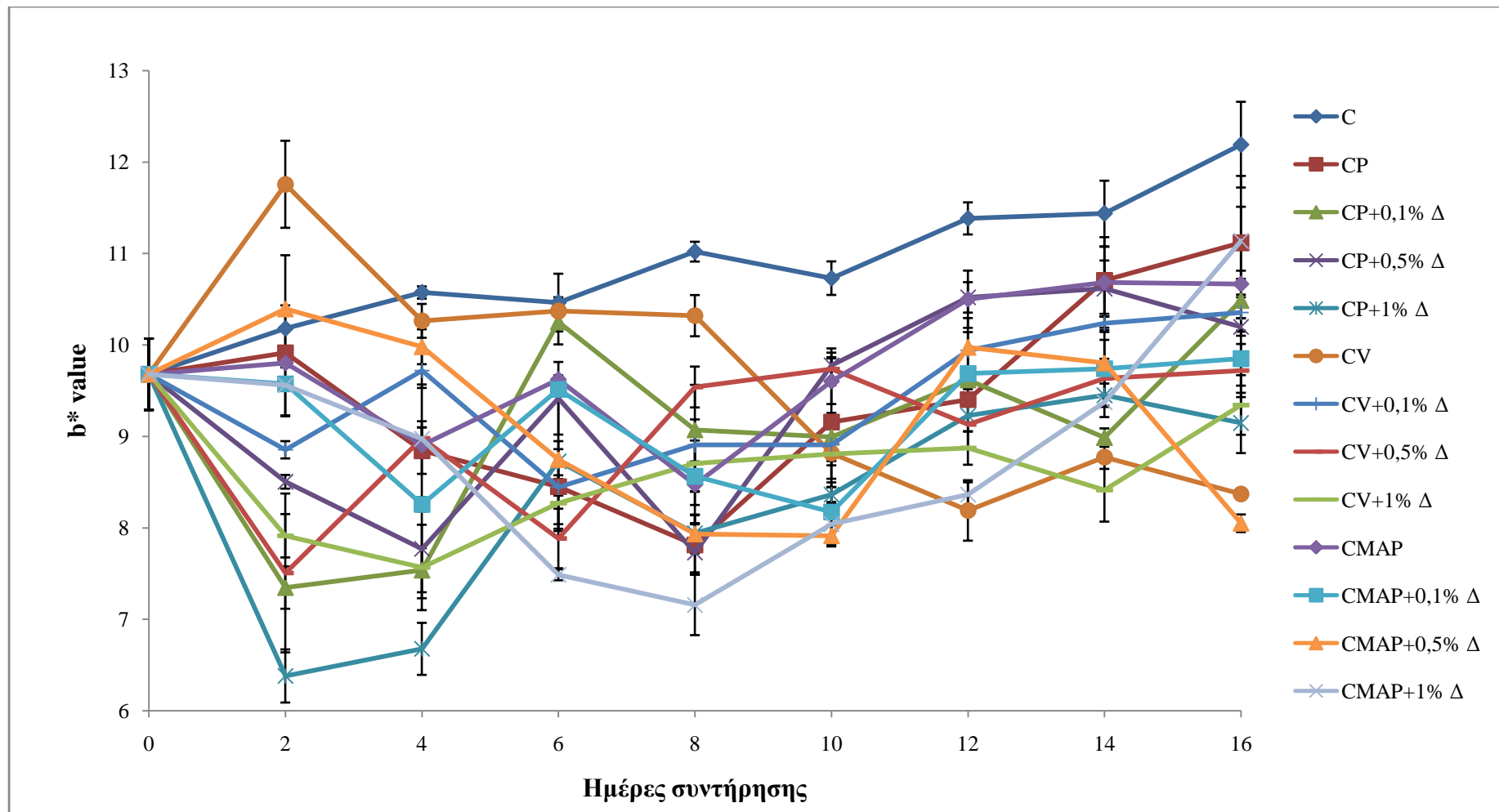
Ως προς τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, αυτή έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 0,1, 0,5, 1,0% και 0,1, 0,5% και συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τροποποιημένη ατμόσφαιρα αντίστοιχα, ενώ υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση και συσκευάστηκαν υπό κενό. Ως προς τη συσκευασία, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε

αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, με συγκέντρωση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 0,1%, όπως επίσης και στα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με συγκέντρωση δενδρολίβανου 0,5 και 1,0%. Σχεδόν για όλα τα δείγματα, ανεξάρτητα από τη συσκευασία και τις συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες εκτός από τα δείγματα CV-CV+0,1% Δ, CMAP-CMAP+0,1% Δ και CMAP+0,5% Δ.

Στο **γράφημα 29**, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τις τιμές της παραμέτρου a^* . Η αρχική τιμή της ερυθρότητας στα δείγματα του μάρτυρα ήταν 0,91. Στη συνέχεια και έως την 16^η ημέρα συντήρησης η ερυθρότητα μειώθηκε στην τιμή -1,26. Ίδια φθίνουσα πορεία ακολούθησαν και τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό με ή χωρίς την προσθήκη οποιασδήποτε συγκέντρωσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου. Εξάιρεση αποτελούν τα δείγματα CMAP+0,5% Δ και CMAP+1% Δ, τα οποία παρουσίασαν αύξηση της τιμής a^* και συγκεκριμένα εμφάνισαν τιμές 1,06 και 2,07 αντίστοιχα.



Γράφημα 29. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου a^* σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 30. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στις τιμές της παραμέτρου b* σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Ομοίως οι Keokamnerd et al (2008) διαπίστωσαν μείωση στην τιμή της a^* σε κοτόπουλο συντηρούμενο για 12 ημέρες. Οι Tesoriere et al (2007) βρήκαν ότι φαινορικά εκχυλίσματα από κάπαρη διέκοψαν αποτελεσματικά την μετατροπή της μυογλοβίνης σε οξυμυογλοβίνη, λόγω ισχυρής αλληλεπίδρασης μεταξύ των φαινολικών συστατικών και των πρωτεϊνών. Οι Kahraman et al (2015), παρατήρησαν αύξηση της τιμής της παραμέτρου a^* μετά την προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (0,2%) σε φιλέτο κοτόπουλου από την 5^η έως την 7^η ημέρα αποθήκευσης. Αντίθετα οι Nunes et al (2014) δεν παρατήρησαν αλλαγές στη παράμετρο a^* σε προϊόντα κοτόπουλου, που επεξεργάστηκαν με εκχύλισμα δενδρολίβανου.

Η μείωση στην ένταση του κόκκινου χρώματος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης μπορεί να οφείλεται στη αλληλοεξάρτηση της οξείδωσης των λιπών και της οξείδωσης του χρώματος στο κρέας (Lynch et al 2000). Η οξείδωση των χρωστικών μπορεί να διευκολύνει την οξείδωση, των λιπών και οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά την οξείδωση, μπορεί να οξειδώσουν άτομα σιδήρου ή να αλλοιώσουν τη δομή του μορίου της μυογλοβίνης, επιδρώντας αρνητικά στο χρώμα στα προϊόντα κρέατος (Huiyun et al 2016). Οι Zorica et al (2018) σε πείραμα με κρέας κοτόπουλου και προσθήκη δενδρολίβανου (20 mg/ml) και αποθήκευση στους 4 και 18 °C, παρατήρησαν μικρή αύξηση της τιμής της a^* σε σχέση με τον μάρτυρα, ενώ η τιμή της b^* ήταν υψηλότερη σε σχέση με τον μάρτυρα καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$) εκτός των δειγμάτων CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ και CMAP+1,0% Δ. Σε σχέση με τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση και συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό και επεξεργάστηκαν με συγκέντρωση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 0,1, 0,5 και 1,0%. Τέλος, σχεδόν όλα τα δείγματα, ανεξάρτητα από τη συσκευασία και την συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου,

παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες εκτός από αυτά που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, καθώς δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0,05$) σε σύγκριση με τον μάρτυρα.

Οι μεταβολές της παραμέτρου b^* παρουσιάζονται στο **γράφημα 30**. Η αρχική τιμή της κίτρινης απόχρωσης ήταν 9,68, ενώ βαθμιαία αυξήθηκε για τα δείγματα αναφοράς (C) σε 12,19 την 16^η ημέρα συντήρησης. Αντίθετα οι τιμές της παραμέτρου b^* για τα δείγματα CP, CP+0,1% Δ, CP+0,5% Δ, CP+1% Δ, CV, CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ, CV+1% Δ, CMAP, CMAP+0,1% Δ, CMAP+0,5% Δ και CMAP+1% Δ, παρουσίασαν μικρότερες μεταβολές σε σχέση με τον μάρτυρα (11,12, 10,49, 10,20, 9,15, 8,37, 10,33, 9,72, 9,34, 10,67, 9,85, 8,05 και 11,14 αντίστοιχα).

Τα παραπάνω βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Kahraman et al (2015), Pires et al (2014) και Munes et al (2014), οι οποίοι σε παρόμοιες μελέτες ανέφεραν ότι δεν παρατήρησαν σημαντικές διαφορές στην τιμή του b^* καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, δεν υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1 και 0,5% και συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, όπως επίσης και για τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,5 και 1,0% αντίστοιχα. Για όλα τα δείγματα, ανεξάρτητα από τη συσκευασία και τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες εκτός των δειγμάτων που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και υπό κενό και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου συγκέντρωσης 0,1 και 0,5%, που δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0,05$) σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες.

Οι Ahn et al (2007) διαπίστωσαν ότι οι τιμές L^* , a^* , b^* σε δείγματα που επεξεργάστηκαν με Herbalox (αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου) διέφεραν ($p < 0,05$) από το δείγμα αναφοράς. Η ερυθρότητα (a^*) μειώθηκε, αλλά η φωτεινότητα (L^*) και η κίτρινη απόχρωση (b^*) αυξήθηκαν σε σύγκριση με τον μάρτυρα.

Οι Huiyun et al (2016) σε πείραμα με ωμό κρέας κοτόπουλου κατά την συντήρηση για 15 ημέρες στους $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ και με προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (0,1-10 mg/ml) παρατήρησαν ότι η τιμή της L^* στα δείγματα αναφοράς, άρχισε να μειώνεται προς το τέλος του πειράματος, ενώ αντίθετα αυξάνονταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, στα δείγματα που επεξεργάστηκαν με δενδρολίβανο. Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου εμφάνισαν έντονο κόκκινο χρώμα και είχαν υψηλότερες τιμές της a^* σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, κυρίως εξαιτίας των καροτενοειδών. Η τιμή της b^* αυξάνονταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος και ήταν υψηλότερη σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία ελαφρού χρώματος από το εκχύλισμα δενδρολίβανου. Μετά την προσθήκη του εκχυλίσματος η b^* σταθεροποιήθηκε και αυξήθηκε σημαντικά η κίτρινη απόχρωση στο κρέας κοτόπουλου.

Οι Tegel et al (2015) σε πείραμα που πραγματοποίησαν με τρία διαφορετικά είδη δενδρολίβανου σε κοτομπουκιές που διατηρήθηκαν για 9 μήνες σε κατάψυξη, ανέφεραν ότι το χρώμα δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά έως και το τέλος του πειράματος.

Οι Liu et al (2009) ανέφεραν ότι η χρήση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από 1500 ppm, οδήγησε σε μικρότερες τιμές στο χρώμα σε δείγματα από φρέσκα λουκάνικα κοτόπουλου που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, σε σχέση με τον μάρτυρα και διατηρήθηκαν υπό κατάψυξη.

4.3.2 Μικροβιολογικές αναλύσεις

4.3.2.1 Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (O.M.X.)

Στο **γράφημα 31** φαίνεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (O.M.X.) σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

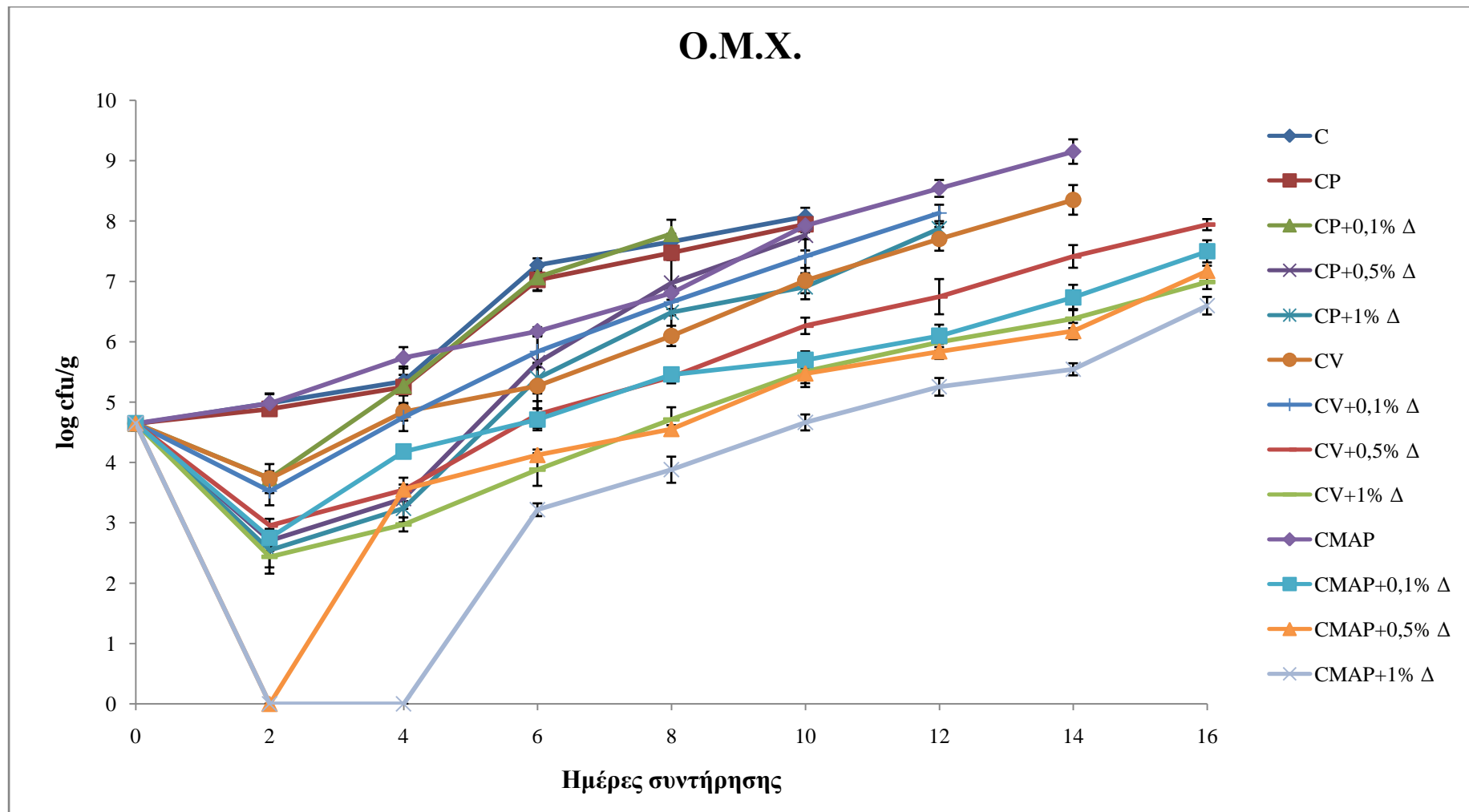
Σύμφωνα με το **γράφημα 31**, τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβια συσκευασία χωρίς αντιμικροβιακό παράγοντα (CP), ξεπέρασαν το μικροβιολογικό

όριο αλλοίωσης την 6^η ημέρα, ενώ τα επεξεργασμένα με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου συγκεντρώσεων 0,1, 0,5 και 1%, ξεπέρασαν το όριο την 5^η, 7^η και 9^η ημέρα αντίστοιχα. Όσον αφορά στα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό με ή χωρίς την προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (CV, CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ, CV+1% Δ), η μικροβιολογική αλλοίωση επήλθε την 10^η, 10^η, 13^η και 14^η ημέρα αντίστοιχα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα, που συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σύσταση αερίων 20%CO₂/80%N₂ και προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 1%, όχι μόνο δεν ξεπέρασαν το μικροβιολογικό όριο αποδοχής έως το τέλος του πειράματος (16 ημέρες), αλλά παρατηρήθηκε και πλήρης αναστολή της ανάπτυξης της O.M.X. έως και την 4^η ημέρα.

Τα δείγματα CMAP, CMAP+0,1% Δ και CMAP+0,5 % Δ, ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 13^η και 14^η ημέρα αντίστοιχα, με το δείγμα CMAP+0,5 % Δ να εμφανίζει και αυτό αναστολή της ανάπτυξης της O.M.X. την 2^η ημέρα του πειράματος.

Η παρατηρούμενη συνεργιστική δράση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου οφείλεται πιθανόν, στο ότι τα βακτηριακά κύτταρα σε μικροαερόφιλες συνθήκες, πραγματοποιούν τον μεταβολισμό τους αναερόβια, οπότε καθίστανται πιο επιρρεπή στην αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων (Paster et al 1990).



Γράφημα 31. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Η χρήση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, επέφερε μείωση της O.M.X. των δειγμάτων κατά 1 έως 4 log CFU/g.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε ότι αφορά την επεξεργασία με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλες τις συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν στα δείγματα. Σε σχέση με τη συσκευασία, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλα τα δείγματα, με εξαίρεση τα δείγματα CP και CMAP (δείγματα αναφοράς).

Η παρατηρούμενη παράταση του χρόνου συντήρησης οφείλεται στις αντιμικροβιακές ιδιότητες των φαινολικών συστατικών του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, το οποίο είναι πλούσιο σε φαινολικά συστατικά, όπως τα φαινολικά οξέα και τα φλαβονοειδή. Τα συστατικά του δενδρολίβανου ασκούν την αντιμικροβιακή τους δράση επιδρώντας αρχικά στην φωσφολιπιδική στοιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών, προκαλώντας έτσι αύξηση της διαπερατότητας αυτής και κατά συνέπεια την απώλεια ενδοκυτταρικών θρεπτικών συστατικών. Στην συνέχεια αδρανοποιούν μεγάλο αριθμό ενζυμικών συστημάτων και τελικά απενεργοποιούν ή ακόμη και καταστρέφουν το γενετικό υλικό των βακτηρίων (Lambert et al 2001, Burt 2004, Holley and Patel 2005).

Η εμφάνιση συνεργιστικής αντιμικροβιακής δράσης μεταξύ αιθέριων ελαίων και τροποποιημένης ατμόσφαιρας παρατηρήθηκε επίσης από τους Skandamis and Nychas (2002), σύμφωνα με τους οποίους η συνδυαστική χρήση MAP (40% CO₂/30% N₂/30% O₂) και ριγανέλαιου κατέστειλε σημαντικά την μικροβιακή ανάπτυξη σε μοσχαρίσιο κιμά, ενώ σε αερόβιες συνθήκες δεν παρατηρήθηκε σημαντική αναχαίτιση των μικροοργανισμών. Επιπρόσθετα, οι Chouliara et al (2007 α), αναφέρουν ότι η προσθήκη 0,1% v/w ριγανέλαιου σε φιλέτο από στήθος κοτόπουλου δεν είχε σημαντική επίδραση στον μικροβιολογικό χρόνο συντήρησής τους σε αερόβια συσκευασία, ενώ όταν συνδυάστηκε με MAP (30%CO₂/70%N₂) η παράταση του χρόνου συντήρησης έφτασε τις 9 ημέρες σε σχέση με τον μάρτυρα και τις 3 σε σχέση με δείγματα σε MAP. Οι Zhang et al (2009) αναφέρουν ότι ο μικροβιολογικός χρόνος συντήρησης σε χοιρινά παϊδάκια που συντηρήθηκαν σε MAP 80% O₂/20% CO₂, ήταν 10 ημέρες στους 4 °C, ενώ η προσθήκη αιθέριου

ελαίου δενδρολίβανου μαζί με γλυκόριζα διατήρησε την O.M.X. σε τιμές χαμηλότερες από το όριο αλλοίωσης, για περισσότερες από 28 ημέρες.

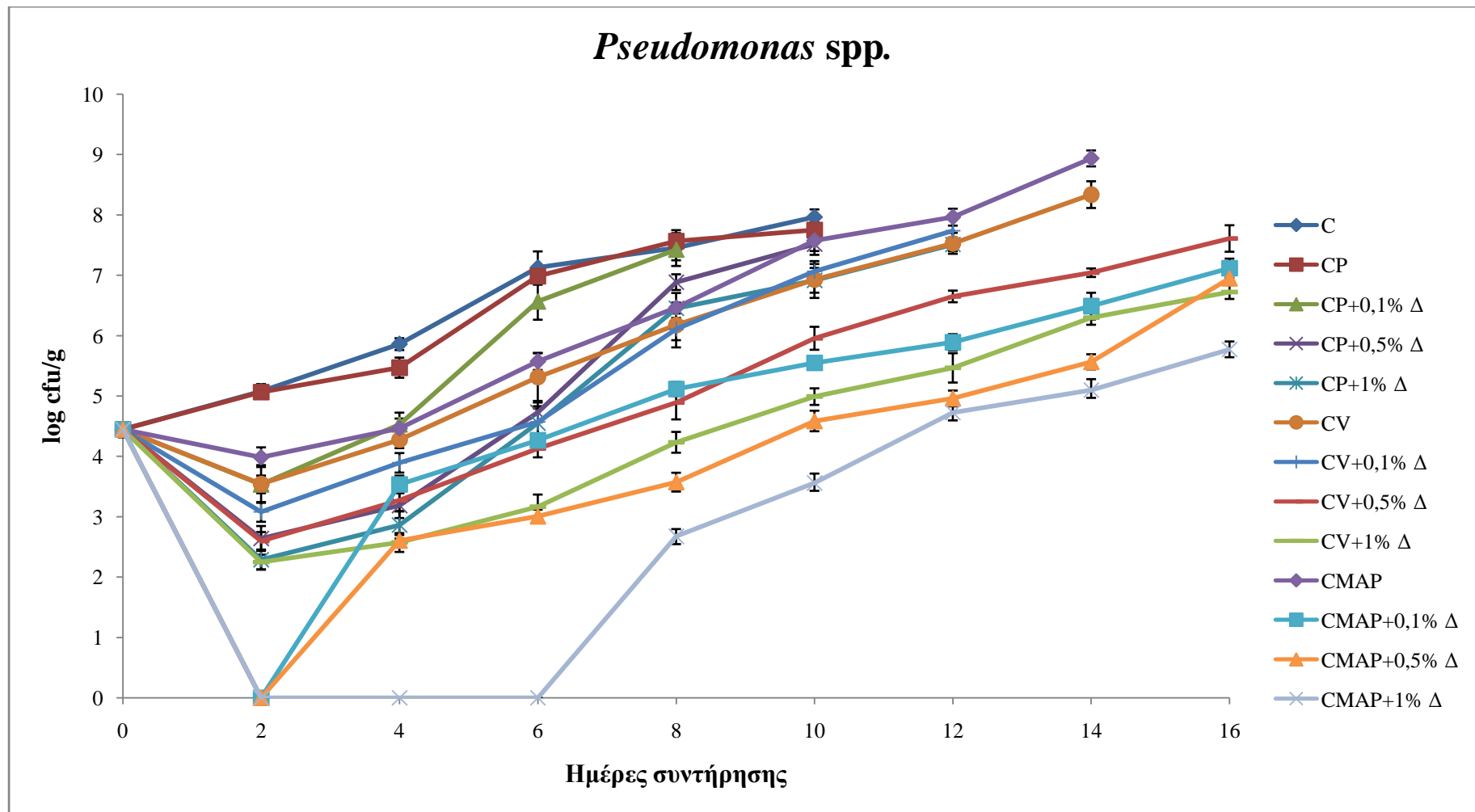
Οι Raeisi et al (2016), διαπίστωσαν σημαντική αντιμικροβιακή δράση του δενδρολίβανου σε φιλέτο από στήθος κοτόπουλου, καθώς παρατήρησαν σημαντική μείωση της ανάπτυξης της O.M.X., σε σχέση με τον μάρτυρα, με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ζωής των επεξεργασμένων δειγμάτων κατά 6 ημέρες. Επίσης, οι Petrova et al (2013), διαπίστωσαν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου έναντι της O.M.X., σε φιλέτο από στήθος κοτόπουλου όταν χρησιμοποιήθηκε μόνο του σε συγκέντρωση 1% v/w, ή όταν χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με γαρίφαλο σε συγκέντρωση 0,5% v/w.

Τέλος οι Huiyum et al (2016), σε έρευνα που πραγματοποίησαν σε νωπό φιλέτο από στήθος κοτόπουλου, συσκευασμένο σε αερόβιες συνθήκες και θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρατήρησαν ότι τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με δενδρολίβανο συγκέντρωσης 1% v/w, την 15^η ημέρα του χρόνου συντήρησης είχαν τιμή O.M.X. 5,47 log CFU/g έναντι τιμής 7,20 log CFU/g του μάρτυρα την ίδια χρονική στιγμή.

4.3.2.2 Ψευδομονάδες (*Pseudomonas spp.*)

Στο **γράφημα 32** παρουσιάζεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των ψευδομονάδων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 32**, τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες με ή χωρίς την προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (CP, CP+0,1% Δ, CP+0,5% Δ, CP+1% Δ) έφτασαν το όριο του 7 log CFU/g την 6^η, 7^η, 8^η και 9^η ημέρα συντήρησης. Το δείγμα αναφοράς (C) έφτασε στο όριο αυτό την 5^η ημέρα συντήρησης. Τα δείγματα CV, CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ, CMAP και CMAP+0,1% Δ, έφτασαν στο όριο αποδοχής την 11^η, 11^η, 14^η, 9^η και 15^η ημέρα αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα CV+1% Δ, CMAP+0,5% Δ και CMAP+1% Δ, δεν ξεπέρασαν το μικροβιολογικό όριο αποδοχής των 7 log CFU/g καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος, ενώ τα δείγματα CMAP+0,1% Δ, CMAP+0,5% Δ και CMAP+1% Δ, εμφάνισαν πλήρη αναστολή της ανάπτυξης των ψευδομονάδων έως και την 2^η, 2^η και 6^η ημέρα του πειράματος αντίστοιχα.



Γράφημα 32. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των βακτηριών του γένους *Pseudomonas* spp. σε νωπά μπουτία κοτόπουλου.

Αυτό πιθανόν να οφείλεται στις ισχυρές αντιμικροβιακές δράσεις του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου σε συνδυασμό με την συσκευασία (απουσία οξυγόνου) και την παρουσία CO₂ (συσκευασία MAP), που έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες. Άλλωστε οι ψευδομονάδες είναι αερόβια βακτήρια και ο ρυθμός ανάπτυξής τους μειώνεται αισθητά σε συνθήκες έλλειψης O₂.

Η έντονη αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων δενδρολίβανου έναντι των Gram-αρνητικών ψευδομονάδων οφείλεται πιθανόν στην ικανότητα που εμφανίζουν τα φαινολικά συστατικά τους να διαπερνούν την εξωτερική μεμβράνη, που περιβάλλει τα κύτταρα των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.

Η χρήση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου μείωσε τον αριθμό των ψευδομονάδων στα δείγματα κατά 1 έως 4 log CFU/g. Σύμφωνα με τους Tsigarida et al (2000), η χρήση τροποποιημένης ατμόσφαιρας ή κενού σε συνδυασμό με ριγανέλαιο 0,8% v/w, ανέστειλε σημαντικά τον πληθυσμό των ψευδομονάδων κατά την συντήρηση μοσχαρίσιου κρέατος. Επίσης οι Chouliara et al (2007 α), διαπίστωσαν ότι η συσκευασία MAP 30% CO₂/70% N₂ σε συνδυασμό με θυμαρέλαιο 0,5% (v/w) μείωσε σημαντικά τον πληθυσμό των ψευδομονάδων (κατά 3,4 log CFU/g), σε σχέση με τον μάρτυρα (9^η ημέρα συντήρησης) και κατά 2,3 log CFU/g, σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς. Οι Zhang et al (2009) ανέφεραν ότι ο πληθυσμός των ψευδομονάδων σε χοιρινά παϊδάκια που συσκευάστηκαν σε MAP με συνδυαστική χρήση δενδρολίβανου και γλυκόριζας, μειώθηκαν κατά 1-1,5 log CFU/g σε σχέση με τα δείγματα MAP, μετά από 14 ημέρες συντήρησης. Τέλος, οι Petrova et al (2013), παρατήρησαν ότι η χρήση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου συγκέντρωσης 1% v/w σε φιλέτο από στήθος κοτόπουλου, είναι αποτελεσματικότερη έναντι της συγκέντρωσης 0,5% v/w στην ανάπτυξη του πληθυσμού των ψευδομονάδων.

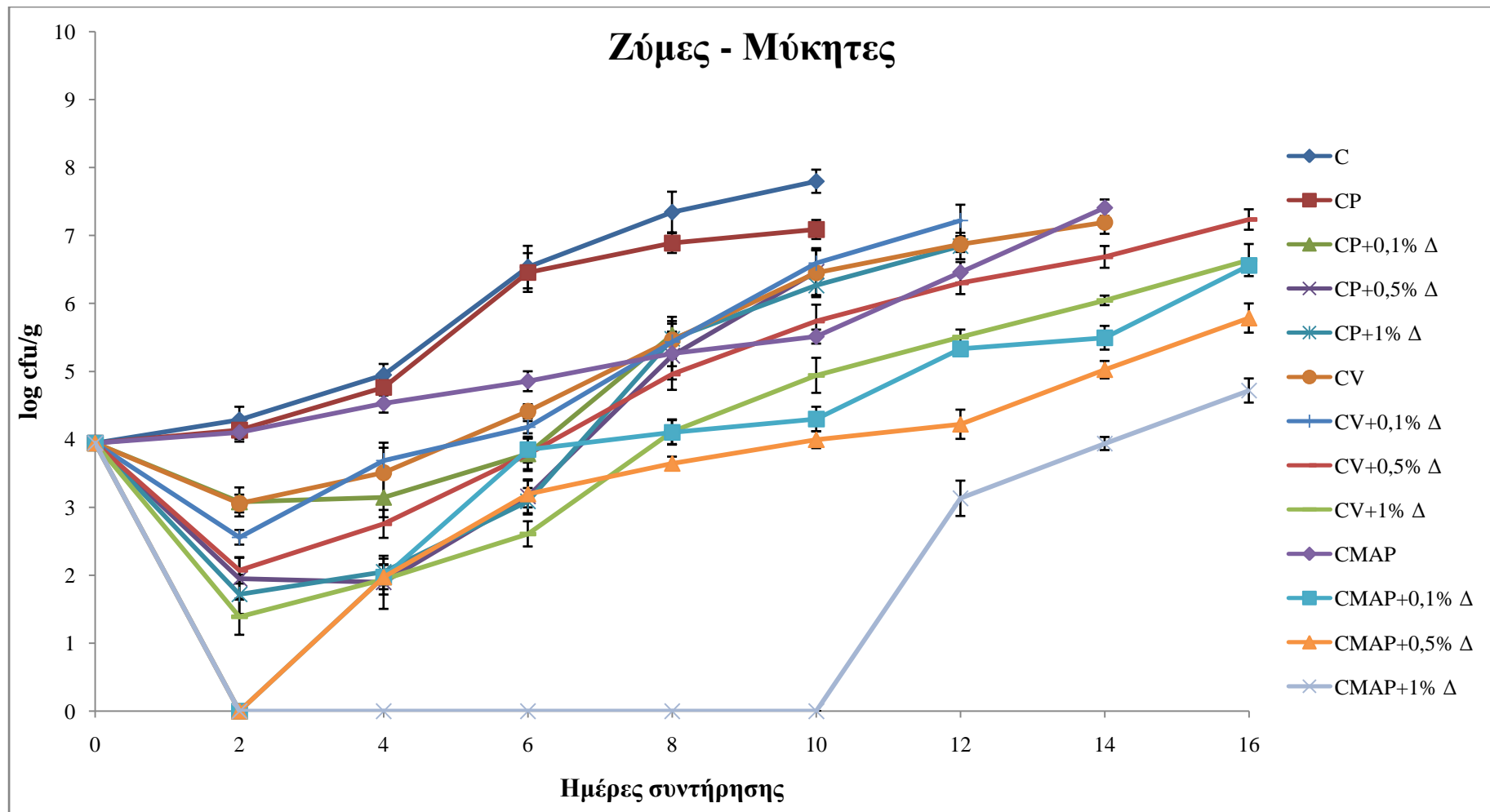
Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε ότι αφορά την επεξεργασία με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλες τις συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν στα δείγματα. Σε σχέση με τη συσκευασία, προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλα τα δείγματα, με εξαίρεση τα δείγματα C και CP (δείγματα αναφοράς).

4.3.2.3 Ζύμες και Μύκητες

Στο **γράφημα 33** παρουσιάζεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, στον πληθυσμό των ζυμών και μυκήτων σε νοπά μπούτια κοτόπουλου.

Όπως προκύπτει από το **γράφημα 33**, η προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου μείωσε τον πληθυσμό των ζυμών και μυκήτων κατά 1 έως 4 log CFU/g.

Συγκεκριμένα τα δείγματα C, CP, CP+0,1% Δ, CP+0,5% Δ, CP+1% Δ, CV, CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ, CV+1% Δ, CMAP, CMAP+0,1% Δ και CMAP+0,5% Δ, την 6^η ημέρα συντήρησης παρουσίασαν πληθυσμούς της τάξεως των 6,54, 6,46, 3,79, 3,16, 3,09, 4,71, 3,5, 3,78, 2,61, 5,06, 3,85 και 3,20 log CFU/g αντίστοιχα. Στα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και προστέθηκε αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου συγκέντρωσης 1%, παρουσιάστηκε πλήρης αναστολή της ανάπτυξης των ζυμών και μυκήτων μέχρι και την 10^η ημέρα συντήρησης.



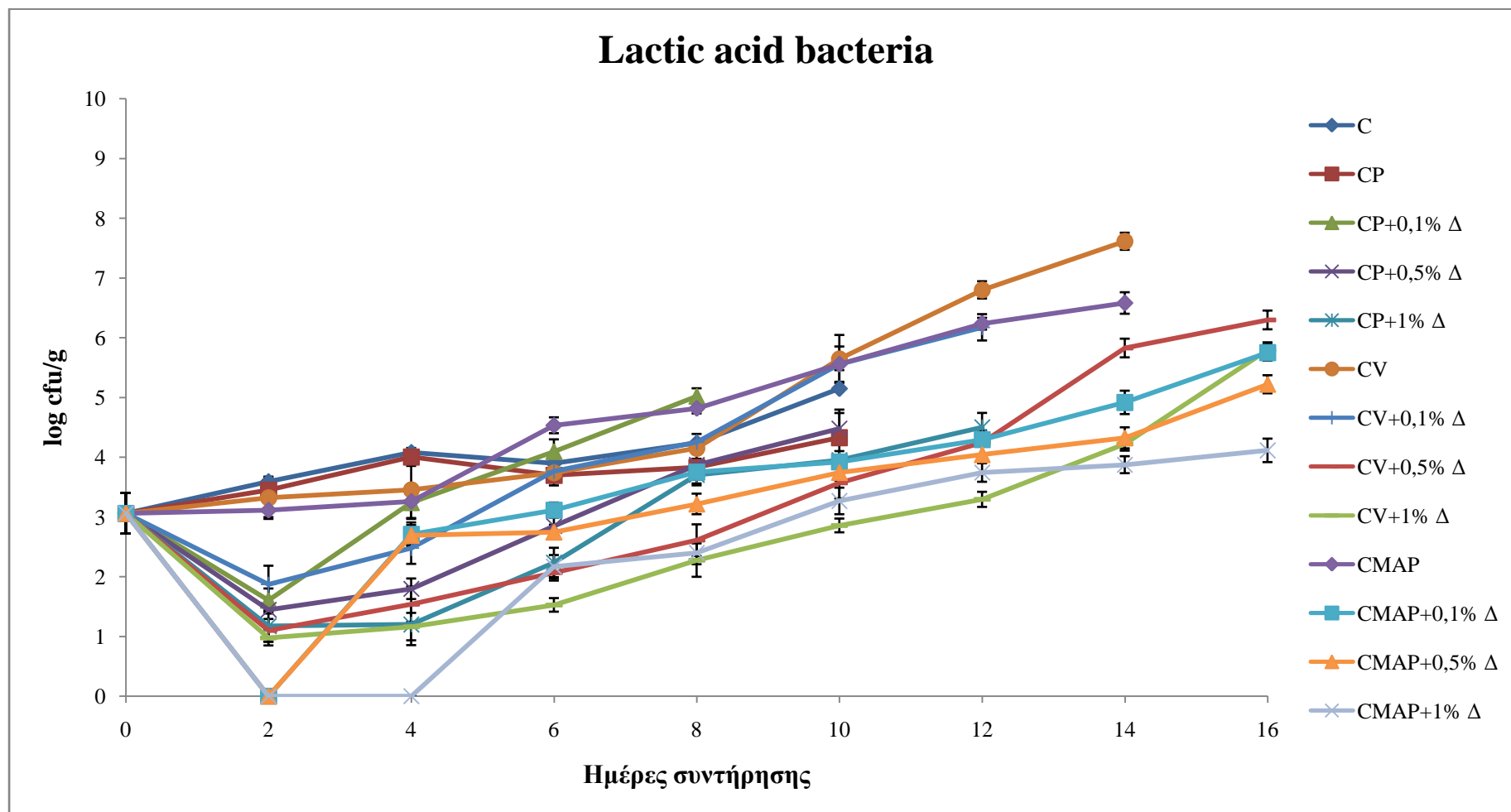
Γράφημα 33. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των ζυμών και μυκήτων σε νωπά μούτια κοτόπουλου.

Σύμφωνα με τους Holley and Patel (2005), τα αιθέρια έλαια παρουσιάζουν ισχυρή αντιμυκητιακή δράση. Οι Chouliara et al (2007 α) αναφέρουν ότι η προσθήκη ριγανέλαιου 0,1% v/w κατά την συντήρηση φιλέτου κοτόπουλου σε αερόβια συσκευασία, μείωσε τον πληθυσμό των ζυμών κατά 0,8 log CFU/g σε σχέση με τον μάρτυρα (9^η ημέρα συντήρησης). Σύμφωνα με τους Georgantelis et al (2007 α), η συνδυαστική χρήση χιτοζάνης και δενδρολίβανου για την συντήρηση λουκάνικων μείωσε τον πληθυσμό των ζυμών-μυκήτων κατά 1,7 log CFU/g (10^η ημέρα συντήρησης).

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Όσον αφορά την επεξεργασία με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλα τα δείγματα, εκτός από τα δείγματα CP+0,5% Δ και CP+1,0% Δ, ($p > 0,05$). Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα CP+0,1% Δ - CV+0,1% και CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ μεταξύ τους, όπως επίσης και για τα δείγματα CV- CMAP (δείγματα αναφοράς).

4.3.2.4 Γαλακτικά βακτήρια

Στο **γράφημα 34** παρουσιάζεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 34. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων του φρέσκου προϊόντος ήταν 2,86 log CFU/g και έφτασε τους 5,15, 4,33, 4,48 και 3,95 log CFU/g την 10^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα C, CP, CP+0,5% Δ και CP+1,0% Δ, αντίστοιχα και 5,02 log CFU/g για το δείγμα CP+0,1% Δ την 8^η ημέρα συντήρησης. Για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό, την 10^η ημέρα συντήρησης, ο πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων έφτασε τους 5,64, 5,55, 3,52, 2,82 log CFU/g για τα δείγματα του μάρτυρα και τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με δενδρολίβανο σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,5, 1,0% αντίστοιχα. Από το **Γράφημα 34** προκύπτει επίσης ότι στα δείγματα που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, οι πληθυσμοί των γαλακτικών βακτηρίων κατά την 10^η ημέρα συντήρησης ήταν 4,45, 3,92, 3,74 και 3,26 log CFU/g για τα δείγματα CMAP, CMAP+0,1% Δ, CMAP+0,5% Δ και CMAP+1,0% Δ αντίστοιχα.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου 1%, ανεξάρτητα από τη συσκευασία, είχαν τους μικρότερους πληθυσμούς γαλακτικών βακτηρίων την 10^η ημέρα. Οι Petrova et al (2013) έδειξαν ότι ο συνδυασμός δενδρολίβανου και συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα μείωσε τον αριθμό των γαλακτικών βακτηρίων κατά 2,57 log CFU/g, σε στήθος κοτόπουλου μετά από 16 ημέρες συντήρησης στους 4 °C. Σε συμφωνία με την παρούσα έρευνα, ο Stojanovic-Radica et al (2018), παρατήρησαν ότι η χρήση δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 1% είναι αποτελεσματικό έναντι πολλών βακτηρίων. Τα γαλακτικά βακτήρια είναι τα πιο ανθεκτικά ανάμεσα στα Gram θετικά βακτήρια ενάντια στην αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων (Kostaki et al 2009). Οι Frangos et al (2010), παρατήρησαν ότι η μεγάλη ανθεκτικότητα των γαλακτικών βακτηρίων μπορεί να σχετίζεται με την ικανότητά τους να αντέχουν σε συνθήκες ωσμωτικού στρες και να ανταπεξέρχονται αποτελεσματικά στην εκροή K⁺ που προκαλούν πολλά αιθέρια έλαια. Επίσης οι Holley and Pattel (2005), παρατήρησαν ότι η μεγάλη ανθεκτικότητα των γαλακτικών βακτηρίων έναντι της δράσης των αιθέριων ελαίων, αποδίδεται στην ικανότητά τους να παράγουν ATP και να ανταπεξέρχονται σε συνθήκες ωσμωτικού στρες.

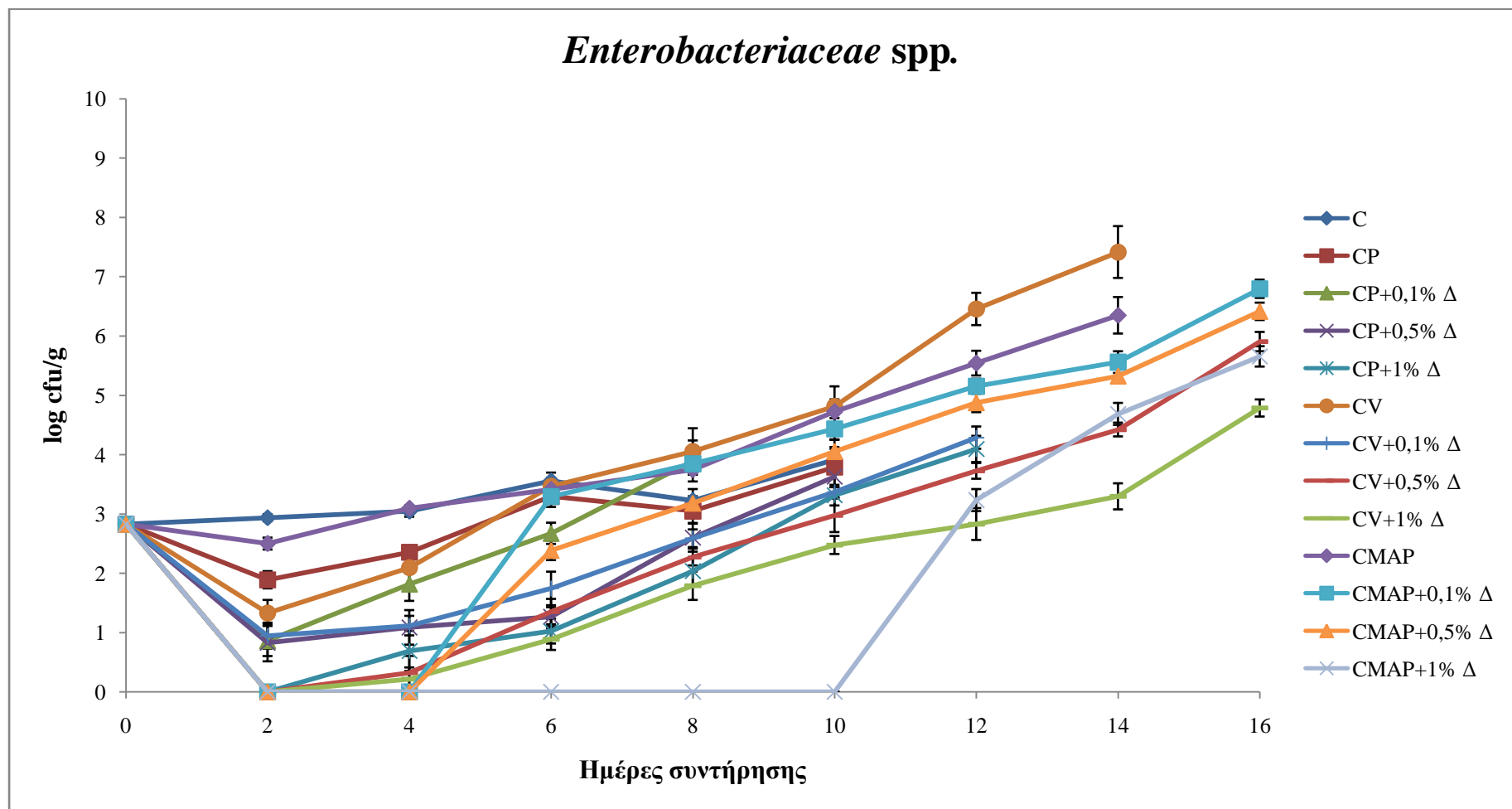
Στα συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργασμένα με δενδρολίβανο δείγματα παρατηρήθηκε μείωση της λογαριθμικής τιμής των γαλακτικών βακτηρίων κατά 2,86 log CFU/g, σε σχέση με τον μαρτύρα (δείγματα C),

καθώς μετά την επεξεργασία με δενδρολίβανο, δεν αναπτύχθηκαν βακτήρια για 2 ημέρες για τα δείγματα CMAP+0,1% Δ και CMAP+0,5% Δ και για 4 ημέρες για το δείγμα CMAP+1,0% Δ.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση του δενδρολίβανου, η στατιστική επεξεργασία έδειξε, ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλα τα δείγματα. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό, αέρα και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με δενδρολίβανο 0,5% και για τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με δενδρολίβανο 1,0%. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε επίσης ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων αναφοράς C, CP, CV και CMAP.

4.3.2.5 Εντεροβακτήρια

Στο **γράφημα 35** παρουσιάζεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στον πληθυσμό των εντεροβακτηρίων σε νωπά μούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 35. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην ανάπτυξη των εντεροβακτηρίων σε νωπά μούτια κοτόπουλου.

Ο αρχικός πληθυσμός των εντεροβακτηρίων του φρέσκου προϊόντος ήταν 2,83 log CFU/g και έφτασε τους 3,92, 3,79, 3,63, 3,31, 4,81, 3,37, 2,97, 2,45, 4,73, 4,43, 4,05 και 0,0 log CFU/g την 10^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα C, CP, CP+0,5% Δ, CP+1,0% Δ, CV, CV+0,1% Δ, CV+0,5% Δ, CV+1,0% Δ, CMAP, CMAP+0,1% Δ, CMAP+0,5% Δ και CMAP+1,0% Δ αντίστοιχα και 3,89 log CFU/g την 8^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα CP+0,1% Δ.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου μείωσε κατά 0,5 έως 3,92 log CFU/g τον αρχικό πληθυσμό των εντεροβακτηρίων σε σχέση με τον μάρτυρα την 10^η ημέρα συντήρησης. Για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,5 και 1% και συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, παρατηρήθηκε πλήρης αναστολή της ανάπτυξης των εντεροβακτηρίων έως την 4^η, 4^η και 10^η ημέρα αντίστοιχα.

Ο συνδυασμός συσκευασίας υπό κενό, τροποποιημένης ατμόσφαιρας και προσθήκης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου αποδείχθηκε ως ο πιο αποτελεσματικός για την αναχαίτιση της ανάπτυξης των εντεροβακτηρίων στο εξεταζόμενο προϊόν καθώς μείωσε τον πληθυσμό τους, ήδη από την δεύτερη ημέρα συντήρησης.

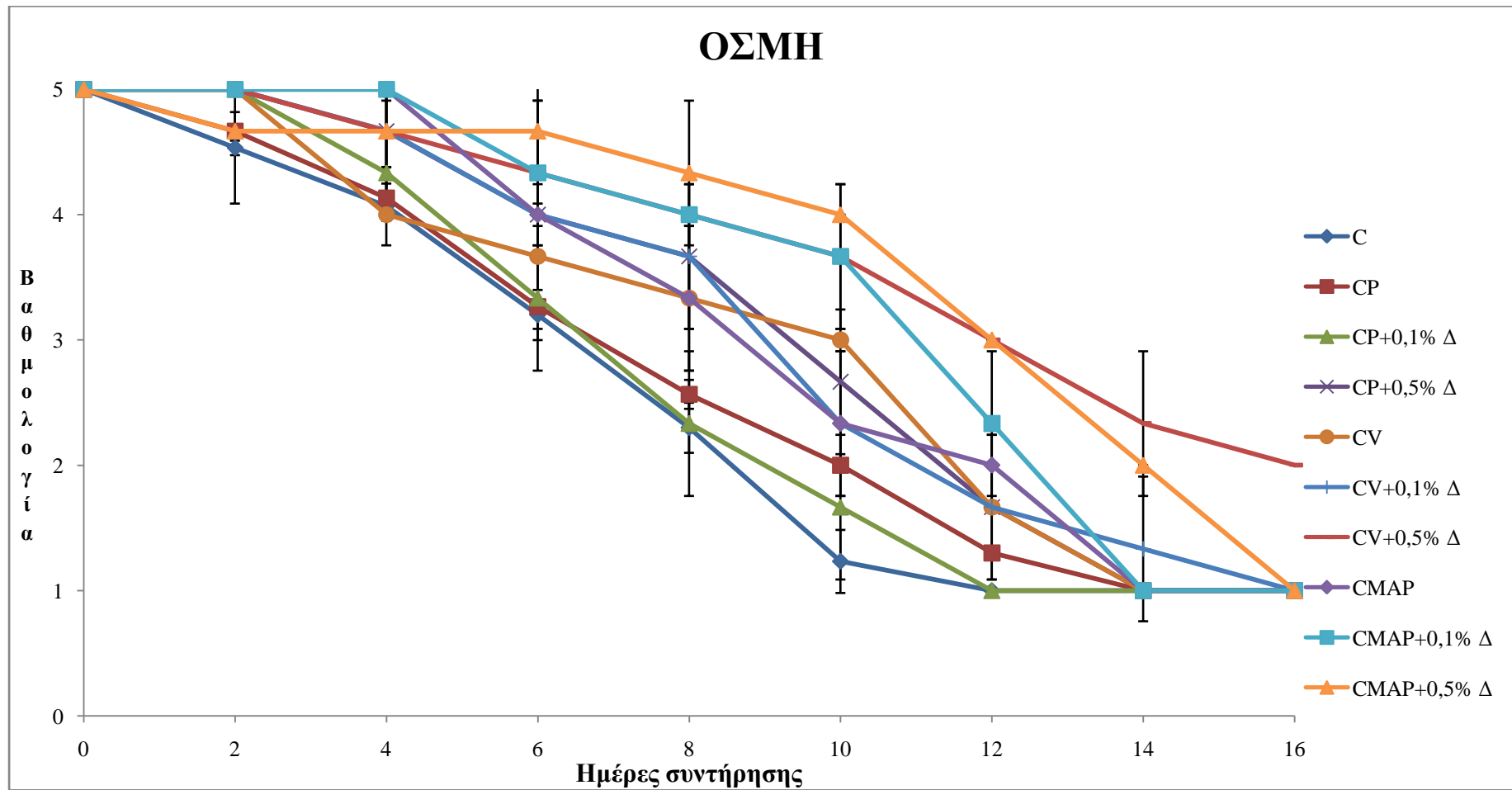
Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση του δενδρολίβανου, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλα τα δείγματα. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα CP+0,1% Δ- CV+0,1% Δ- CMAP+0,1% Δ, CP+0,5% Δ- CMAP+0,5% Δ και CV+1,0% Δ- CMAP+1,0% Δ, καθώς και μεταξύ των δειγμάτων αναφοράς C, CP, CV, CMAP.

4.3.3 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Παράλληλα με την μικροβιολογική αξιολόγηση των δειγμάτων που συντηρήθηκαν σε αερόβια συσκευασία, συσκευασία υπό κενό ή συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, με ή χωρίς την προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, πραγματοποιήθηκε και αξιολόγηση της μεταβολής των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της οσμής, της υφής, της εμφάνισης και της γεύσης του προϊόντος. Η τιμή 3 θεωρήθηκε ως το κατώτερο όριο αποδοχής. Τα δείγματα, στα οποία προστέθηκε αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 1%, δεν αξιολογήθηκαν ως προς τις παραμέτρους οσμή και γεύση, λόγω της εξαιρετικά έντονης οσμής, που θεωρήθηκε δυσάρεστη από τους κριτές.

4.3.3.1 Οσμή

Στο **γράφημα 36** παρουσιάζεται η επίδραση της προσθήκης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, στην οσμή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου. Όπως φαίνεται από το **γράφημα 36**, κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης τα δείγματα από μπούτια κοτόπουλου είχαν ευχάριστη οσμή, η οποία μεταβλήθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV και CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 6^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.



Γράφημα 36. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην οσμή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

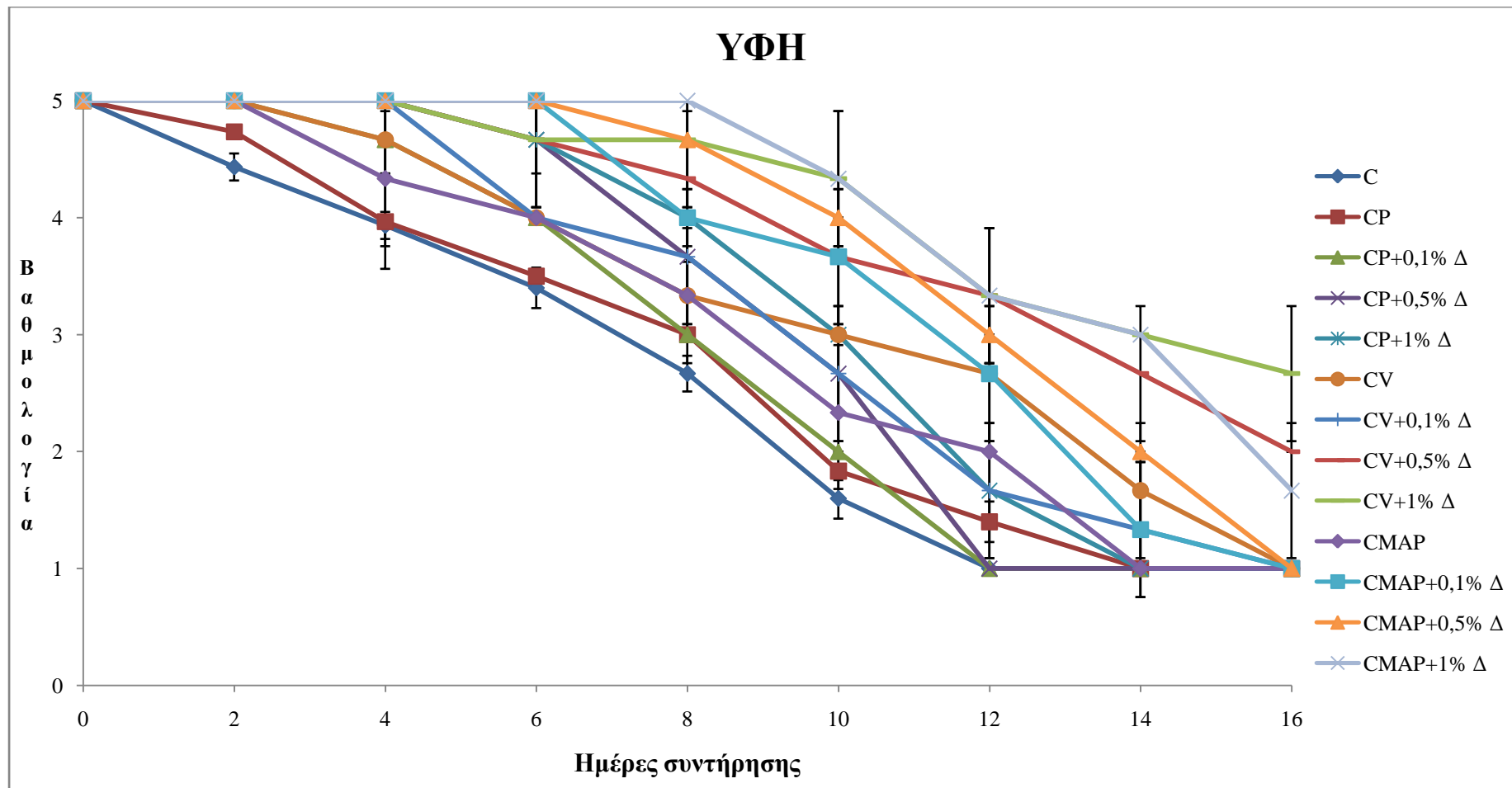
Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου 0,1 και 0,5% πλησίασαν το όριο αποδοχής την 6^η και 9^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου συγκεντρώσεων 0,1 και 0,5% διατήρησαν για περισσότερο χρόνο μια ευχάριστη οσμή και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 9^η, 12^η ημέρα (υπό κενό) και την 11^η και 12^η ημέρα (σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) αντίστοιχα. Από τα παραπάνω γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, διατήρησαν την οσμή πάνω από το αποδεκτό όριο για 3 έως 6 ημέρες περισσότερο σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1 και 0,5% w/v και συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, με προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 0,5%. Τα δείγματα CV-CMAP, CP-CP+0,1% Δ και CV-CV+0,1% Δ δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκρινόμενα μεταξύ τους ($p > 0,05$).

4.3.3.2 Υφή

Στο **γράφημα 37** παρουσιάζεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, στην υφή σε νωπά μούτια κοτόπουλου.

Όπως φαίνεται από το **γράφημα 37**, κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης τα δείγματα από μούτια κοτόπουλου είχαν υφή φρέσκου προϊόντος (σκληρή και συμπαγής υφή), η οποία μεταβλήθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 8^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.



Γράφημα 37. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην υφή σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

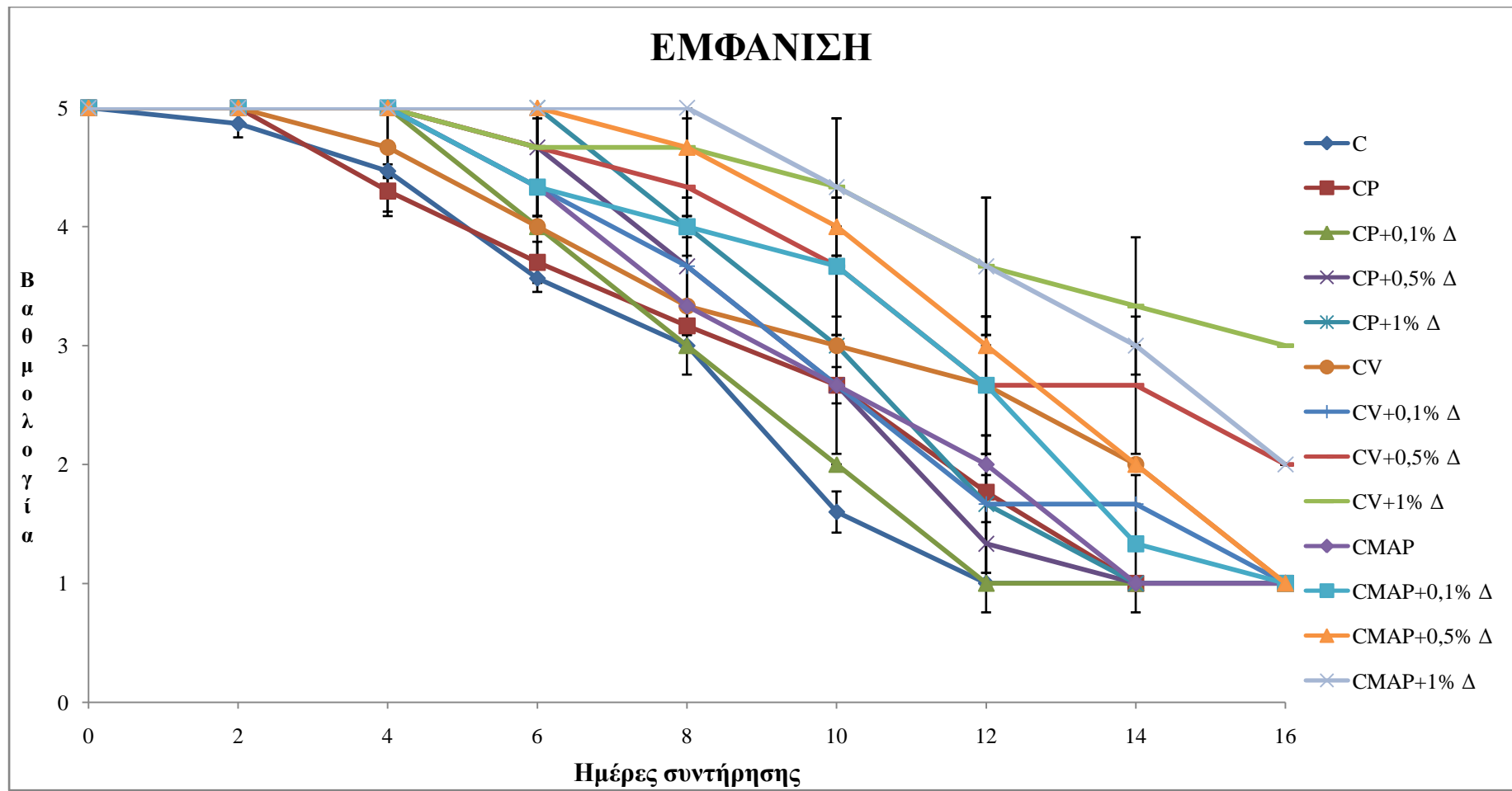
Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου συγκεντρώσεων 0,1, 0,5 και 1,0% πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 8^η και 9^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,5 και 1,0% διατήρησαν για περισσότερο χρόνο μια φρέσκια υφή και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 12^η και 14^η ημέρα (υπό κενό) και 11^η, 12^η και 14^η ημέρα (σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) αντίστοιχα.

Από τα παραπάνω γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, διατήρησαν την υφή φρέσκου προϊόντος πάνω από το αποδεκτό όριο για 2 έως 8 ημέρες περισσότερο, σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αναφορικά με τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε όλα τα δείγματα. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, σε συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 0,5 και 1,0% και μεταξύ των δειγμάτων CV και CV+0,1% Δ.

4.3.3.3 Εμφάνιση

Στο **γράφημα 38** παρουσιάζεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, στην εμφάνιση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 38. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στην εμφάνιση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

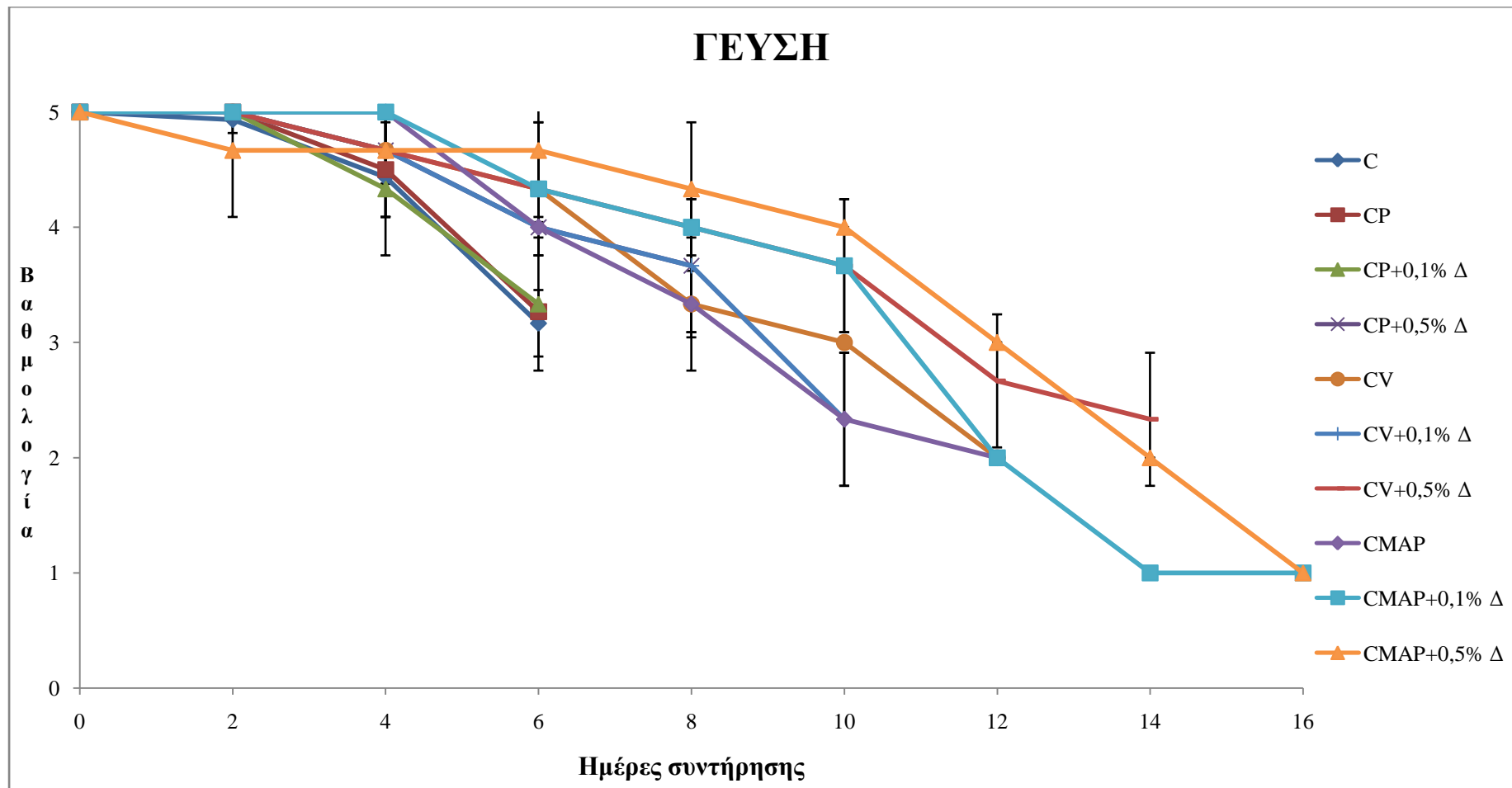
Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,5 και 1,0%, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η, 9^η και 10^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,5 και 1,0%, διατήρησαν για περισσότερο χρόνο μια φρέσκια εμφάνιση και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 9^η, 11^η και 16^η ημέρα (υπό κενό) και 11^η, 12^η και 14^η ημέρα (σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) αντίστοιχα.

Γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα διατήρησαν την εμφάνιση φρέσκου προϊόντος πάνω από το αποδεκτό όριο για 1 έως 6 ημέρες περισσότερο, σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Κατά την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, προέκυψε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σε σχέση με τη συγκέντρωση του δενδρολίβανου, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) για όλα τα δείγματα ανεξάρτητα από τη συγκέντρωσή του. Ως προς τη συσκευασία, δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων CP+0,1% Δ- CV+0,1% Δ- CMAP+0,1% Δ, CV+0,5% Δ- CMAP+0,5% Δ, CV+1,0% Δ- CMAP+1,0% Δ, CV-CMAP, CV- CV+0,1% Δ, CP- CP+0,1% Δ- CP+0,5% Δ.

4.3.3.4 Γεύση

Στο **γράφημα 39** παρουσιάζεται η επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, στη γεύση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.



Γράφημα 39. Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου και της συσκευασίας σε αέρα, υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα στη γεύση σε νωπά μπούτια κοτόπουλου.

Από το **γράφημα 39**, προκύπτει ότι κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης, η γεύση των δειγμάτων από μπούτια κοτόπουλου αντιπροσώπευε πλήρως τη γεύση του φρέσκου προϊόντος και μεταβλήθηκε αντιστρόφως ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης των δειγμάτων. Συγκεκριμένα τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV, CMAP ξεπέρασαν το όριο αποδοχής την 6^η, 6^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες αέρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1 και 0,5%, πλησίασαν το όριο αποδοχής την 6^η και 8^η ημέρα αντίστοιχα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου συγκέντρωσης 0,1 και 0,5%, διατήρησαν για περισσότερο χρόνο μια φρέσκια υφή και πλησίασαν το όριο αποδοχής την 8^η και 11^η ημέρα (υπό κενό) και 11^η και 12^η ημέρα (σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) αντίστοιχα.

Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, διατήρησαν την γεύση φρέσκου προϊόντος πάνω από το αποδεκτό όριο για 2 έως 6 ημέρες περισσότερο, σε σχέση με τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες και τον μάρτυρα.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, έδειξε ότι βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλα τα δείγματα σε συνάρτηση με τον χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Αναφορικά με τη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) για τα περισσότερα δείγματα εκτός από εκείνα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1 και 1,0% και συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες. Σε σχέση με τη συσκευασία, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των δειγμάτων CP+0,1% Δ- CV+0,1% Δ, CP+0,5% Δ- CV+0,5% Δ- CMAP+0,5% Δ, CP- CP+0,1% Δ, CV- CV+0,1% Δ, καθώς και μεταξύ των δειγμάτων αναφοράς C- CP- CV- CMAP.

4.3.4 Συμπεράσματα

Με βάση τα αποτελέσματα της πειραματικής περίπτωσης III προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Τα δείγματα μάρτυρες C, CP, CV και CMAP ξεπέρασαν το μικροβιολογικό όριο αλλοίωσης ($O.M.X. = 7,0 \log \text{ CFU/g}$) την 5^η, 6^η, 10^η και 8^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα. Αντίθετα, το δείγμα CMAP + 1 % Δ, δεν έφτασε στο όριο αλλοίωσης μέχρι και την 16^η ημέρα, διατηρώντας χαμηλούς πληθυσμούς μικροβιακής χλωρίδας.
- Στα δείγματα που διατηρήθηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (20% CO₂/80% N₂) με ταυτόχρονη προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,1%, 0,5% και 1%, παρατηρήθηκε πλήρης αναχαίτιση των ψευδομονάδων έως την 2^η, 2^η και 4^η ημέρα συντήρησης, αντίστοιχα.
- Η χρήση του αντιμικροβιακού παράγοντα αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου στο προϊόν που μελετήθηκε, σε συνδυασμό με συσκευασία υπό κενό και με συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, αποδείχθηκε αποτελεσματικότερη σε σύγκριση με τα δείγματα αναφοράς και τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες με προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου. Εκτός από την αντιοξειδωτική δράση του αντιμικροβιακού παράγοντα, σημαντικό ρόλο έπαιζαν και οι αναερόβιες συνθήκες που επικρατούσαν.
- Η προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου συγκέντρωσης 1% σε συνδυασμό με συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, είχε ως αποτέλεσμα την πλήρη αναχαίτιση της ανάπτυξης των ζυμών και μυκήτων όπως επίσης και των εντεροβακτηρίων έως και την 10^η ημέρα συντήρησης.
- Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου συγκεντρώσεων 0,1, 0,5 και 1%, εμφάνισαν μικρότερους πληθυσμούς

γαλακτικών βακτηρίων σε σχέση με τα υπόλοιπα επεξεργασμένα και συσκευασμένα δείγματα.

- Τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου για τη γεύση, έδειξαν να συμβαδίζουν με τα αντίστοιχα για την οσμή.

- Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 1% και συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, είχαν καλύτερα αποτελέσματα σε ότι αφορά το χρώμα του προϊόντος και ειδικότερα ως προς τις τιμές των παραμέτρων L^* , a^* και b^* .

- Από τα παραπάνω αποτελέσματα συνάγεται ότι, η χρήση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου συγκέντρωσης 1% σε συνδυασμό με συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας 20% CO₂/80% N₂, αποτελεί μια σημαντικά υποσχόμενη τεχνολογία συντήρησης του νωπού κρέατος πουλερικών (κοτόπουλου κλπ.).

5. ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Με βάση τα αποτελέσματα κυρίως της μικροβιολογικής ανάλυσης (Ο.Μ.Χ.) αλλά και της οργανοληπτικής αξιολόγησης (οσμής), προκύπτει η παρακάτω σειρά κατάταξης για τις διάφορες μεταχειρίσεις με βάση την παράταση του χρόνου ζωής του τροφίμου: CV+10 ppm O₃, CV+5 ppm O₃, CMAP+0,5 % w/v X, CMAP+10 ppm O₃, CV+1 % w/v X, CV+1,5 % w/v X, CV+1 % O/O, CMAP+1 % w/v X, CMAP+5 ppm O₃, CV+0,5 % w/v X, CMAP+1,5 % w/v X, CMAP+1 % O/O, CMAP+0,5 % Δ, CMAP+0,1 % Δ, CV+2 ppm O₃, CMAP+2 ppm O₃, CV+0,1 % Δ, CV+0,5 % Δ, CP+10 ppm O₃, CV, CP+0,5 % w/v X, CP+5 ppm O₃, CP+1 % w/v X, CP+1,5 % w/v X, CMAP, CP+0,5 % Δ, CP+2 ppm O₃, CP+1 % O/O, CP, CP+0,1 % Δ, C.
- Στην παραπάνω κατάταξη δεν συμπεριελήφθησαν τα δείγματα στα οποία προστέθηκε αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 1%, επειδή δεν αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά (οσμή και γεύση).
- Σε γενικές γραμμές δεν παρατηρήθηκαν αποκλίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων της οργανοληπτικής αξιολόγησης και των μικροβιολογικών αναλύσεων.
- Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με τις μικρότερες συγκεντρώσεις όζοντος (2ppm), χιτοζάνης (0,5 % w/v), αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (0.1 %) όπως επίσης και με οξικό οξύ (1 %), ανεξαρτήτου συσκευασίας, δεν βρέθηκε να έχουν θετική επίδραση από τους αντιμικροβιακούς παράγοντες ως προς την αύξηση του χρόνου ζωής τους.
- Στην πλειοψηφία τους τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας 20% CO₂/80% N₂ και υπό κενό, διατήρησαν τόσο τα οργανοληπτικά όσο και τα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά (χρώμα και pH), για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα.

- Συνοψίζοντας, με βάση τα αποτελέσματα και των τριών πειραματικών περιπτώσεων, προέκυψε το συμπέρασμα ότι η συνδυαστική χρήση:
- α. αέριου όζοντος συγκέντρωσης 10 ppm και συσκευασία υπό κενό,
 - β. χιτοζάνης συγκέντρωσης 1% w/v και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σύνθεση αερίων 20% CO₂/80% N₂,
- σε συνδυασμό με διατήρηση σε θερμοκρασία ψύξης (4 °C), είχαν την μεγαλύτερη συμβολή σε ότι αφορά την επιμήκυνση του χρόνου ζωής του ναπού κρέατος από μπούτι κοτόπουλου, ενώ η χρήση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 1% σε συνδυασμό με συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (20% CO₂/80% N₂), θα μπορούσε να προταθεί για προσθήκη σε ένα προϊόν τύπου "μαριναρισμένο" με εξαιρετικά αποτελέσματα.

6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της συνδυαστικής χρήσης οζονισμού και φυσικών αντιμικροβιακών παραμέτρων (χιτοζάνης και αιθέριων ελαίων) στην αύξηση του χρόνου ζωής νωπού κοτόπουλου, συσκευασμένου σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, υπό κενό και αέρα και συντηρούμενου υπό ψύξη (4 °C).

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η έκθεση σε αέριο όζον συγκέντρωσης 2, 5 και 10 ppm, η εμφάνιση σε διάλυμα χιτοζάνης σε συγκεντρώσεις 0,5, 1 και 1,5 % w/v, η προσθήκη αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 0,1, 0,5 και 1 %, η εμφάνιση σε διάλυμα οξικού οξέος 1 %, η αερόβια συσκευασία, η συσκευασία υπό κενό και η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με σύνθεση αερίων 20% CO₂/80% N₂. Η μελέτη περιελάμβανε μικροβιολογική (Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα, *Pseudomonas* spp., γαλακτικά βακτήρια, εντεροβακτήρια και ζύμες-μύκητες), φυσικοχημική (pH και χρώμα) και οργανοληπτική αξιολόγηση (οσμή, υφή, εμφάνιση και γεύση) των δειγμάτων του κοτόπουλου.

Η μεγαλύτερη ελάττωση των πληθυσμών της μικροβιολογικής χλωρίδας επιτεύχθηκε στα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον συγκέντρωσης 10 ppm και συσκευάστηκαν σε συσκευασία υπό κενό, στα δείγματα που επεξεργάστηκαν με διάλυμα χιτοζάνης 1% και συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, όπως επίσης και στα δείγματα που συσκευάστηκαν σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με προσθήκη 1% αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου. Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με τις μικρότερες συγκεντρώσεις όζοντος (2ppm), χιτοζάνης (0,5 % w/v), αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (0.1 %) όπως επίσης και με οξικό οξύ (1 %), ανεξαρτήτου συσκευασίας, δεν βρέθηκε να επηρεάζονται θετικά από τους αντιμικροβιακούς παράγοντες ως προς την αύξηση του χρόνου ζωής τους.

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή του pH στις διάφορες μεταχειρίσεις. Οι τιμές των παραμέτρων a* και b* του χρώματος επηρεάστηκαν σημαντικά από τις διάφορες μεταχειρίσεις, ενώ η τιμή της παραμέτρου L* βρέθηκε ότι μειώνεται κατά την διάρκεια της αποθήκευσης. Όλα τα δείγματα επηρεάστηκαν από το χρόνο αποθήκευσης.

Σύμφωνα με την οργανοληπτική αξιολόγηση, ο μεγαλύτερος χρόνος ζωής επιτεύχθηκε στα δείγματα που επεξεργάστηκαν με αέριο όζον συγκέντρωσης 10 ppm και συσκευάστηκαν σε συσκευασία υπό κενό καθώς επίσης και τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με χιτοζάνη συγκέντρωσης 1% w/v και συσκευάστηκαν σε

συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σύνθεση αερίων 20% CO₂/80% N₂, ενώ γενικότερα δεν παρατηρήθηκαν αποκλίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων της οργανοληπτικής αξιολόγησης και των μικροβιολογικών αναλύσεων για όλα τα δείγματα.

Ο συνδυασμός του αέριου όζοντος 10 ppm και συσκευασία υπό κενό, όπως επίσης και η χρήση διαλύματος χιτοζάνης 1% w/v και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σύνθεση αερίων 20% CO₂/80% N₂, έδρασε συνεργιστικά στην επιμήκυνση του χρόνου ζωής του προϊόντος. Η χρήση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου 1% σε συνδυασμό με συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (20% CO₂/80% N₂), θα μπορούσε να προταθεί για προσθήκη σε ένα προϊόν τύπου "μαριναρισμένο" με εξαιρετικά αποτελέσματα.

7. ABSTRACT

In the present study the combined effect of ozone (2, 5 and 10 ppm), chitosan (0.5, 1 and 1.5 % w/v), rosemary oil (0.1, 0.5 and 1%), air packaging, vacuum packaging and modified atmosphere packaging (20% CO₂/80% N₂) on self-life extension of fresh chicken meat stored under refrigeration was investigated.

The methods used were the exposure to ozone gas concentrations of 2, 5 and 10 ppm, the immersion in chitosan solution at concentrations of 0,5, 1 and 1,5 % w/v, rosemary essential oil at concentrations of 0,1, 0,5 και 1 %, the immersion in chitosan solution 1% and air, vacuum and modified atmosphere packaging (20% CO₂/80% N₂). The study was based on microbiological (T.V.C., *Pseudomonas* spp., Lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae* spp., Yeasts and Molds), physicochemical (pH, color) and sensory (odor, texture, appearance, taste) changes occurring in leg chicken samples.

The biggest reduction in the microbial population took place in the samples processed with ozone gas at concentration of 10 ppm and were packaged under vacuum, the samples treated with chitosan solution 1% w/v and modified atmosphere packaging and the samples treated with 1% rosemary essential oil and packaged in modified atmosphere. It was falling that the samples that were processed with the least concentration of ozone gas (2ppm), chitosan (0,5 % w/v), rosemary essential oil (0,1%) and acetic acid (1 %), regardless of packaging, were not affected positively by the antimicrobiological factors as to their life extension.

In relation to the chemical indicator of spoilage, pH values were not affected significantly by any of treatments. The values of color parameters a* and b* were considerably affected by the different treatments while the value of the parameter L* decreased during storage. All the samples were affected by storage.

Taking into consideration the sensory evaluation, the extension of self life was profound in the samples processed with ozone gas at 10ppm and packaged under vacuum and the samples processed with chitosan 1% w/v and in a modified atmosphere (20% CO₂/80% N₂). In general differences between the results of the sensory evaluation and the microbiological analyses were not observed.

The combination of ozone gas at 10 ppm with vacuum packaging and chitosan solution 1% w/v with modified atmosphere packaging (20% CO₂/80% N₂), worked synergistically to the increase of the self life of chicken legs. The addition of 1%

rosemary essential oil in combination with modified atmosphere packaging (20% CO₂/80% N₂) could be suggested to be used for a “processed” product with extended shelf life.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Ahn** D. U., Olson D. G., Jo C., Chen X., Wu C., Lee J. I. (1998). Effect of muscle type, packaging and irradiation on lipid oxidation, volatile production and color in raw pork patties. *Meat Science*, **49**, 27-39.
2. **Ahn** J., Grun I. U., Mustapha A. (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, **24**, 7-14.
3. **Aider** M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT-Food Science and Technology*, **43**, 837-352.
4. **Ares** G., Lareo, C. & Lema, P. (2007). Modified Atmosphere Packaging for Postharvest Storage of Mushrooms. A Review, *Global Science Books*.
5. **Aureli** P., Constantini A., Zolea S. (1992). Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, **55**, 344-348.
6. **Ausar** S. F., Passalacqua N., Castagna L. F., Bianco I. D., Beitramo D. M. (2002). Growth of milk fermentative bacteria in the presence of chitosan for potential use in cheese making. *International Dairy Journal*, **12**, 899-906.
7. **Bader** H. & Hoine, J. (1982). Determination of ozone in water by the Indigo method. A submitted standard method. *Ozone Science and Engineering*, **4**, 169-172.
8. **Bagamboula** C. F., Uyttendaele M., Debevere J. (2003). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *Journal of Food Protection*, **66**, 668-673.
9. **Balamatsia** C. C., Paleologos E. K., Kontominas M. G., Savvaidis I. N. (2006). Correlation between microbial flora, sensory changes and biogenic amines formation in fresh chicken meat stored aerobically or under modified atmosphere packaging at 4 °C. Possible role of biogenic amines as spoilage indicators. *Antonie van Leeuwenhoek*, **89**, 9-17.
10. **Balamatsia** C. C., Patsias A., Kontominas M. G., Savvaidis I., N. (2007). Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere packaged chicken fillets: Correlation with microbiological and sensory attributes. *Food Chemistry*, **104**, 1622-1628.

11. **Baranovskaya** V. A., Zapolskii O. B., Ovrutskaya I. Y., Obodovskaya N. N., Pschenichnaya E. E. & Yushkevich O. I. (1979). Use of ozone gas sterilization during storage of potatoes and vegetables. *Konservn. Ovoshchesus Promst*, **4**, 10-12.
12. **Barth** M. M., Zhou C., Mercier M. & Payne F. A. (1995). Ozone storage effects on anthocyanin content and fungal growth in blackberries. *Journal of Food Science*, **60**, 1286-1287.
13. **Bazarova** V. I. (1982). Use of ozone in storage of apples. *Food Science and Technology Abstracts*, **14**, 11-16.
14. **Bennik** M. H., Vorstman W., Smid E. J., Gorris L. G. (1998). The influence of oxygen and carbon dioxide on the growth of prevalent *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* species isolated from fresh and controlled-atmosphere-stored vegetables. *Food Microbiology*, **15** (5), 459-469.
15. **Blakistone** B. A. (1958). Meats and Poultry (p. 254). In: *Application of Modified Atmosphere Packaging of Foods*, 2nd edition, Chapman & Hall (eds.), New York.
16. **Bolder** N. M. (1998). *The microbiology of meat and poultry*, Blackie Academic & Professional, p.158.
17. **Burt** S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, **94**, 223-253
18. **Burt** S. A., Reinders R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters Applied Microbiology*, **36** (3), 162-167.
19. **Caeraga** M., Fernandez E., Dorantes L., Mota L., Jaramillo M. E., Hernandez-Sanchez Z. H. (2003). Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, **83**, 331-335.
20. **Campaniello** D., Bevilacqua A., Sinigaglia M., Corbo M. R. (2008). Antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries. *Food Microbiology* **83**, 331-335.
21. **Campos** C. A., Losada V., Rodriguez O., Aubourg S. P. & Barros-Velazquez J. (2006). Evaluation of an ozone- slurry ice combined refrigeration system for the storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chemistry*, **97**, 223-230.

22. **Cantelejo** M. J., Zouaghi F., Perez-Arnedo I. (2016). Combined effect of ozone and freeze-drying on the shelf-life of Broiler chicken meat. *Food Science and Technology*, **68**, 400-407.
23. **Cardenas** F. C., Andres S., Giannuzzi L., Zaritzky N. (2011). Antimicrobial action and effects on beef quality attributes of a gaseous ozone treatment at refrigeration temperatures. *Food Control*, **22** (8), 1442-1447.
24. **Chang** D. S., Cho H. R., Goo H. Y., Choe W. K. (1989). Development of food preservation with the waste of crab processing. *Bulletin of Korean Fish Society*, **22**, 70-78.
25. **Cheah** L. H. and Page B. B. C. (1997). Chitosan Coating for Inhibition of Sclerotinia Rot of Carrots. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **25**, 89-92.
26. **Chen** C., Liao W., Tsai G. (1998). Antibacterial effects of N-sulfonated and N-Sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. *Journal of Food Protection*, **61**, 1124-1128.
27. **Chen** H. C., Chang S. O. & Ing., S. T. (1987). A study on the sterilization effect of ozone and its application for marine food processing. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan*, **14**, 79-89.
28. **Cheong** J. H., Kim K. H., Kim C. R. (2001). Quality evaluations of refrigerated Korean beef loins treated with trisodium phosphate and chitosan. *Korean Journal of food science of animal resources*, **21** (1), 7-10.
29. **Chhabra** P., Huang Y.-W., Frank J. F., Chmielewski R., Gates K. (2006). Fate of *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium*, and *Vibrio vulnificus* in raw oysters treated with chitosan. *Journal of Food Protection*, **69**, 1600-1604.
30. **Chouliara** E., Karatapanis A., Savvaidis I. N., Kontominas M. G. (2007 α). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *Food Microbiology*, **24**, 607-617.
31. **Chouliara** E., Badeka A., Savvaidis I., Kontominas M. G. (2007 β). Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on self-life extension of chicken breasts meat: microbiological, chemical and sensory changes. *European Food Research and Technology*, **226**, 887-888.

32. **Chouliara** I. and Kontominas M. G. (2006). Combined effect of thyme essential oil and modified atmosphere packaging to extend shelf-life of fresh chicken meat. In: Govil J.N., Singh V.K., Almad, Khalil, Sharma, Rajeev Kr (Eds.), Recent progress in Medicinal plants: Natural product. *Stadium Press*, LLC, USA, p. 423-442.
33. **Chung** Y.- C., Wang H. J., Chen Y. M., Li S. L. (2003). Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens. *Bioresource Technology*, **88**, 179-184.
34. **Chung** Y.- C., Su Y P., Chen C. C., JIA G., Wang H. I., Wu G. J. C., Lin J. G. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacologica Sinica*, **25**, 932-936.
35. **Chung** Y.- C. & Chen C.- Y. (2008). Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan. *Bioresource Technology*, **99**, 2806-2814.
36. **Coma** V., Martial-Gros A., Garreau S., Copinet A., Salin F., Deschamps A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, **67**, 1162-1169.
37. **Cosentino** S., Tuberoso C. I. G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F. (1999). In vitro antimicrobial activity and chemical composition os Sardinian Thymus essential oils. *Letters Applied Microbiology*, **29**, 130-135.
38. **Costerton** J. W. (1994). *Structure of biofilms*. In G. G. Geesey, Z. Lewandowski, & H. C. Flemming (Eds.), Biofouling and biocorrosion in industrial water systems, p. 1–15, Lewis Publishers: Boca Raton, FL.
39. **Darmadji** P., Izumimoto M. (1994 α). Effect of Chitosan in meat preservation. *Meat Science* **38**, 243-254.
40. **Darmadji** P, Izumimoto M. (1994 β). Effects of chitosan and nitrite on the properties of fermented meat. *Animal Science Technology (Jpn)*, **65** (7), 639-46.
41. **Dawson** P. L., Hon H., Vollet L. M., Clardy L. B., Martinez R. M., Acton J. C. (1995). Film oxygen transmission rate effects on ground chicken meat quality. *Poultry Science*, **14**, 1381-1387.
42. **Deans** S. G., Ritchie G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, **5**, 1381-1387.

43. **Deans** S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, **88**, 308-316.
44. **Devlieghere** F., Vermeulen A., Debevere J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, **21**, 703-714.
45. **Dillon** V. M. (1998). Yeasts and moulds with meat and meat products. In: A. Davis and R. Board (ed.), *Microbiology of meat and poultry*, p. 85-117. London: Blackie Academic & Professional.
46. **Dodd** C. E. R., Adams B. W., Mead G. C., Waites W. M. (1987). Use of plasmid profiles to detect changes in strains of *Staphylococcus aureus* during poultry processing. *Journal of Applied Bacteriology*, **63**, 417-425.
47. **Doherty** A. M., Sheridan J. J., Allen P., McDowell D. A., Blair I. S. (1996). Physical characteristics of lamb primal packaged under modified atmospheres. *Meat Science*, **42**, 315-324.
48. **Dondo** A., Nachman C., Doglione L., Rosso A. & Genetti A. (1992). Foods: their preservation by combined use of refrigeration and ozone. *Ing. Aliment. Conserve Anim.*, **8**, 16-25.
49. **Dosti** B. (1998). Effectiveness of ozone, heat and chlorine for destroying common food spoilage bacteria in synthetic media and biofilms. *PhD Thesis. Clemson University, Clemson, SC*, p. 69.
50. **Doyle** M. P. and Schoemi M. P. (1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Applied and Environmental Microbiology*, **53**, 2394-2396.
51. **Drosinos** E. H., Board R. G. (1995). Microbial and physicochemical attributes of minced lamb: sources of contamination with *pseudomonads*. *Food Microbiology*, **12**, 189-197.
52. **Durango** A. M, Soares N. F. F, Andrade N. J (2006). Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food Control*, **17**, 336-341.
53. **Dutta** P. K., Tripathi S., Mehrotra G. K., & Dutta J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, **114**, 1173-1182.

54. **Echols J. T., & Mayne S. T.** (1990). Cooling tower management using ozone instead of multichemicals. *American Society of Heating and Air-Conditioning Engineers (ASHRAE) Journal*, **32**, 34–38.
55. **Elliot P. H., Tomlins R. I., Gray R. J. H.** (1985). Control of microbial spoilage on fresh poultry using a combination potassium sorbate/carbon dioxide packaging system. *Journal of Food Science*, **50**, 1360-1363.
56. **Faitelberg-Blank V. R., Bykone E. V., Orlova A. V., Ostapenko L. G. & Stepanenko V. A.** (1979). Improvement of keeping quality of potatoes and onions by means of ionized air. *Vestn. Skh. Nauki*, **4**, p 110-112.
57. **FDA** (1995). Beverages: Bottled water: Final rule. Food and Drug Administration, *Federal Register*, **60**, p 57075–57130.
58. **Fernandes J. C., Tavarina F. K., Soares J. C., Ramos O. S, Monteiro M. J., Pintado M. E., Malcata F. X.** (2008). Antimicrobial effects of chitosan and chitooligosaccharide, upon *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in food model systems. *Food Microbiology*, **25**, 922-928.
59. **Fernandes J. C., Eaton P., Gomes A. M., Pintado M. E., Alcata F. X.** (2009). Study of the antibacterial effects of chitosans on *Bacillus cereus* (and its spores) by atomic force microscopy imaging and nanoindentation. *Ultramicroscopy*, **109**, 854-860.
60. **Fernandez-Saiz P., Soler C., Lagaron J. M., Ocio M. J.** (2010). Effects of chitosan films on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in laboratory media and in fish soup. *International Journal of Food Microbiology*, **137**, 287- 294.
61. **Finne G.** (1982). Modified and controlled atmosphere storage of muscle foods. *Food Technology*, **36** (2), 128-133.
62. **Foegeding P. M.** (1985). Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of the spore coat to resistance. *Food Microbiology*, **2**, 123-134.
63. **Frangos L., Pyrgotou N., Giatrakou V., Ntzimani A., Savvaidis I. N.** (2010). Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets, *Food Microbiology*, **27**, 115–121.
64. **Galindo-Cuspinera V., Westhoff D. C., Rankin S. A.**(2003). Antimicrobial properties of commercial annatto against selected pathogenic, lactic acid, and spoilage organisms. *Journal of Food Protection*, **66**, 1074-1078.

65. **Georgantelis D.**, Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G., Georgakis S. A. (2007 α). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, **76**, 172-181.
66. **Georgantelis D.**, Blekas G., Katikou P., Ambrosiadis I., Fletouris D. (2007 β). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, **75**, 256-264.
67. **Gibson C. A.**, Elliot J. A. & Beckett D. C. (1960). Ozone for controlling mold on cheddar cheese. *Canadian Dairy and Ice Cream Journal*, **14**, 24-28.
68. **Gill A. O.**, Delaquis P., Russo P., Holley R. A. (2002). Evaluation of antilisteria action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International Food Microbiology*, **73**, 83-92.
69. **Goy R. C.**, de Britto D., Assis O. B. G. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros: Ciencia e Tecnologia*, **19**, 241-247.
70. **Griffin S. G.**, Wyllie S. G., Markham J. L. Leach D. N. (1999). The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**, 322-332.
71. **Grimes H. D.**, Perkins K. K. & Boss W. F. (1983). Ozone degrades into hydroxyl radical under physiological conditions. *Plant Physiology*, **72**, 1016-1020.
72. **Guzel-Seydim Z. B.** (1996). The use of ozonated water as a cleaning agent in dairy processing equipment. Ph.D. Thesis. *Suleyman Demirel University*, Turkey.
73. **Guzel-Seydim Z. B.**, Greene A. K., & Seydim A. C. (2003). Use of ozone in the food industry, *Swiss Society of Food Science and Technology*, **37**, 453-460.
74. **Haddad-Al K. S. H.**, Al-Qassem R. A. S., Robinson R. K. (2005). The use of gaseous ozone and gas packaging to control population of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. *Food Control*, **16**, 405-410.
75. **Hao Y. Y.**, Brackett R. E., Doyle M. P. (1998). Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated cooked poultry. *Food Microbiology*, **15**, 367-378.

76. **Hauschild** A. H. W., and Hilsheimer R. (1980). Incidence of *C. botulinum* in commercial bacon. *Journal of Food Protection*, **43**, 564-571.
77. **Helander** I. M., Alakomi H. L., Latva-Kala K., Mattila-Sandholm T., Pol I., Smid E. J., Gorris L. G. M., Von Wright A. (1998). Characterization of the action of selected essential oils components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 3590-3595.
78. **Helander** I. M., Nurmiäho-Lassila E. L., Ahvenainen R., Rhoades J. Roller S. (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **71**, 235-244.
79. **Hewes** C. G., & Davison R. R. (1973). Renovation of waste water by ozonation. *Institute of Chemical Engineering*, **69 (129)**, 71-80.
80. **Holley** R., Delaquis P., Gagnon J., Doyon G., Gariépy C. (1993). Modified atmosphere packaging of fresh pork. *Alimentech*, **6 (3)**, 16-17.
81. **Holley** R. A., Patel D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, **22**, 273-292.
82. **Hoof** F. V. (1982). Professional risks associated with ozone. In: *Ozonation manual for water and waste water treatment*, W.J. Masschelein (Eds.), pp:200–201, New York: Wiley-Interscience.
83. **Horvath** M., Bilitzky L. & Huttner J. (1985). *Fields of utilization of ozone*. In: *Ozone*. R.J.H Clark (ed.), Elsevier Science Publishing Co. Inc. New York, p 257-316.
84. **Hosseini** M. H., Razavi S. H., Mousavi S. M. A., Shahidi S. A., Hasansaraei A.G. (2008). Improving antibacterial activity of edible films based on chitosan by incorporating thyme and clove essential oils and EDTA. *Journal of Applied Sciences*, **8**, 2895-29000.
85. **Huiyun** Zhan H., Wu J., Guo X. (2016). Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Science and Human Wellness*, **5**, 39–48.
86. **Hussein** M. H., Mohamed Hayam A. Mansour (2012). Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured

- with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. *Food Science and Technology*, **45**, 79-87.
87. **Inatsu** Y., Bari M. L., Kawasaki S., Kawamoto S. (2005). Effectiveness of some natural antimicrobial compounds in controlling pathogen or spoilage bacteria in lightly fermented Chinese cabbage. *Journal of Food Science*, **70**, 393-397.
 88. **International Commission on Microbiological Specifications for Food** (2000). *Microorganism in Foods, Microbial Ecology of Food Commodities*, Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, U.S.A., pp 75-129.
 89. **Ingham** S. C., Escade J. M. and McCoon P. (1990). Comparative growth rate of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fragi* in cooked chicken loaf stored under air and two modified atmospheres. *Journal of Food Protection*, **53**, 289-291.
 90. **Ismail** A. A., Pierson M. D. (1990). Effect of sodium nitrite and origanum oil on growth and toxin production of *Clostridium botulinum* in TYG broth and ground pork. *Journal of Food Protection*, **53**, 958-960.
 91. **Jay** J. M. (1986). Microbial spoilage indicators and metabolites. In: *Foodborne Microorganisms and their toxins*. Developing methodology Pierson MD and Stern A. (eds) Marcel Dekker Inc. Basel pp. 213-240.
 92. **Jin-Gab** Kim, Ahmed E. Yousef & Sandhya Dave (1999). Application of Ozone for Enhancing the microbiological Safety and Quality of Foods: A Review. *Journal of Food Protection*, **62** (9), 1071-1087.
 93. **Jo** C., Lee J. W., Lee K. H., Byun M. W. (2001). Quality properties of pork sausages prepared with water soluble chitosan oligomer. *Meat Science*, **59**, 369-375.
 94. **Juneja** V. K., Thippareddi H., Bari L., Inatsu Y., Kawamoto S., Friedman M. (2006). Chitosan protects cooked ground beef and turkey against *Clostridium perfringens* spores during chilling. *Journal of Food Science*, **71** (6), 36-40.
 95. **Juntilla** J. R., Niemela S. I. and Hirn J. (1998). Maximum growth temperature of *Listeria monocytogenes* and non-haemolytic *Listeria*. *Journal of Applied Bacteriology*, **65**, 321-327.

96. **Juven** B. J., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active components. *Journal of Applied Bacteriology*, **76**, 626-631.
97. **Kaess** G. & Weidemann J. E. (1968). Ozone treatment of chilled beef. Effect of low concentrations of ozone on microbial spoilage and surface colour of beef. *Journal of Food Technology*, **3**, 325-334.
98. **Kahraman** T., Issa G., Bingol E. B., Kahraman B. B., Dumen E. (2015). Effect of rosemary essential oil and modified-atmosphere packaging (MAP) on meat quality and survival of pathogens in poultry fillets. *Brazilian Journal of Microbiology*, **46** (2), 591-599.
99. **Kakouri** A., Nychas G. T. E. (1994). Storage of poultry meat under modified atmosphere or vacuum packaging: possible use of microbial metabolites as indicator of spoilage. *Journal of Applied Bacteriology*. **16**, 163-172.
100. **Karder** A. A. (1992). Postharvest technology of horticultural crops. *University of California Division of Agriculture and Natural Resources Publication* 3311.
101. **Katzenelson**, E., Kletter B. & Shuval H. I. (1974). Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone. *Journal of American Water Works Association*, **66**, 725-729.
102. **Keokammerd** T., Acton J. C., Han I. Y., Dawsan P. L. (2008). Effect of commercial rosemary oleoresin preparations on ground chicken thigh meat quality packaged in a high oxygen atmosphere. *Poultry Science* **887**, 170-179.
103. **Khadre** M. A., Yousef A. E. & Kim J. G. (2001). Microbial aspects of ozone applications in food: A review. *Journal of Food Science*, **66** (9), 1242-1252.
104. **Kim** I. D. & Kim S. D. (1991). Ozone treatment of fresh poultry meat. *Journal of Korean Society of Food and Nutrition*, **20**, 483-487.
105. **Kim** C. R., Marshall D. L. (1990). Microbiological, color and sensory changes of refrigerated chicken legs treated with selected phosphates. *Food Research International* **32**, 209-215.
106. **Kim** J. G., Yousef A. E. & Dave S. (1999). Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *Journal of Food Protection*, **62**, 1071-1087.

107. **Kim** J., Song K. B. (2004). Effect of Vacuum Packaging on the microbiological profile of chilled chicken during storage. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, **47**,35-37.
108. **Kim** K. W., Daeschel M., Zhao Y. (2008). Edible coatings for enhancing microbial safety and extending shelf life of hard-boiled eggs. *Journal of Food Science*, **73**, 227-235.
109. **Kostaki** M., Giatrakou V., Savvaidis I. N., Kontominas M. G. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*, **26**, 475–482.
110. **Kotters** J., Prahst A., Skura B., Rosenthal H., Balck E. A., Rodrigues-Lopez J. (1997). Observations and experiments on extending shelf-life of rockfish (*Sebastes* spp.) products with ozone. *Journal of Applied Ichthyology*, **13**, 1-8.
111. **Koutsoumanis** K. P., Stamatiou A. P., Drosinos E. H., Nychas G. J. E. (2008). Control of spoilage microorganisms in minced pork by a shelf-developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat microflora. *Food Microbiology*, **25** 915-921.
112. **Kuyper** L., Weinert I. A. G., and McGill A. E. J. (1993). The effect of modified atmosphere packaging and addition of calcium and microbial quality of mushrooms. *Food Science Technology*, **26**, 14-20.
113. **Kwantes** W. and Isaacs M. (1971). Listeriosis. *British Medical Journal*, **4**, 296.
114. **Lambert** R. J. W, Skandamis P. N., Coote P. J., Nychas G. J. E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, **91**, 453-462
115. **Langlais** B., Reckhow D. A. & Brink D. R. (1991). *Ozone in Water Treatment: Application and Engineering*. Lewis Publishers, Inc., Chelsea, MI, USA.
116. **Lee** T. G., Williams S. K., Sloan D., Little R. (1997). Development and evaluation of a chicken breakfast sausage manufactured with mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, **76**, 415-521.

117. **Lee M. H., No H. K.** (2002). Effect of chitosan on shelf life and quality of wet noodle. *Journal of Chitin and Chitosan Science*, **7** (1), 7-14.
118. **Legeron J. P.** (1982). Utilization of ozone in swimming pools. In W. J. Masschelein (Ed.), *Ozonization manual for water and wastewater treatment*, p. 243–247. New York: Wiley-Interscience.
119. **Lemay M. J., Choquette J., Delaquis P. J., Gapiépy C., Rodrigue N., Saucier L.** (2002). Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *International Journal Food Microbiology*, **78**, 217-226.
120. **Lin K. W. and Chao J. Y.** (2001). Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. *Meat Science*, **59**, 343-351.
121. **Lin M., Al-Holy M., Mousavi-Hesary M., Al-Qadivi H., Cavinato A. G., Rasco B. A.** (2004). Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage in chicken meat by diffuse reflectance spectroscopy (60-1100 nm). *Letters in Applied Microbiology*, **39**, 148-155.
122. **Liu D. C., Tsau R. T., Lin Y. C., Jan S. S., Tan, F. J.** (2009). Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chemistry*, **117** (1), 106–113.
123. **Liu X. F., Guan Y. L., Yang D. Z., Li Z., Yao K.** (2001). Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, **79**, 1324-1335.
124. **Lynch M. P., Faustman C.** (2000). Effect of aldehyde lipid oxidation products on myoglobin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48** (3), 600–604.
125. **Majchrowicz A.**, (1998). Food safety technology: a potential role for ozone? *Agricultural Outlook*, Economic Research Service/USDA, pp. 13–15.
126. **Mancini R. A. and Hurt** (2005). Current research in meat colour. *Meat Science*, **71**, 100-121.
127. **Manley T. C., & Niegowski S. J.** (1967). Ozone. In *Encyclopedia of chemical technology* Vol. 14, 2nd ed., p. 410-432. Wiley: New York.
128. **Manousaridis G., Neratzaki A., Paleologos E. K., Tsiotsias A., Savvaidis I. N. & Kontominas M. G.** (2005). Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels. *Food Microbiology*, **22**, 1-9.

129. **Marques A., Encarnacao S.,** Pedro S., Nunes M. L. (2008). In vitro antimicrobial activity of garlic, oregano and chitosan against *Salmonella enterica*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **24**, 2357-2360.
130. **Mastromatteo M.,** Lucera A., Sinigaglia M., Corbo M. R. (2009). Combined effects of thymol, carvacrol and temperature on the quality of non conventional poultry patties. *Meat Science*, **83**, 246-254.
131. **MacDougall D. B.** (1982). Changes in the color and opacity of meat. *Food Chemistry*, **9**, 75-88.
132. **McKenzie K. S.,** Sarr A. B., Mayura K., Bailey R. H., Miller D. R., Rogers T. D., Norred W. P., Voss K. A., Plattner R. D., Kubena L. F. & Phillips T. D. (1997). Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food and Chemical Toxicology*, **35**, 807-820.
133. **Mathur N. K.,** Narang C. K. (1990). Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. *Journal of Chemical Education*, **67**, 938-942.
134. **Mead I.** (1989). *Poultry Processing*, Elsevier Publishers Ltd, pp. 30-111.
135. **Mexis S. F.,** Chouliara E., Kontominas M. G. (2009). Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 °C. *Food Microbiology*, **26**, 598-605.
136. **Mielnik M. B.,** Aaby K., Skrede G. (2003). Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. *Meat Science*, **65**, 1147-1155.
137. **Muthukumarappan K.,** Halaweish F. & Naidu A. S. (2000). Ozone. In: *Natural Food Anti-Microbial Systems*, pp:783-800. A.S Naidu, Eds. CRC Press, Boca Raton, FL.
138. **Naitoh S., & Shiga I.** (1989). Studies on utilizing of ozone in food preservation. IX. Effect of ozone treatment on elongation of hypocotyls and microbial counts of bean sprouts. *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology*, **36**, 181-188.
139. **Naitoh S.,** Okada Y. & Sakai T. (1987). Studies on utilization of ozone in food preservation: III. Microbicidal properties of ozone on cereal grains, cereal grain powders, peas, beans, and whole spices, *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology*, **34**, 788-793.

140. **Newton** K. G., Harrison J. C. L., Smith K. M. (1977). The effect of storage in various gaseous atmospheres on the microflora of lamb chops held at -1°C. *Journal Applied Bacteriology*, **43**, 53-59.
141. **Newton** K. G. (1977). *Vacuum Packaging of Fresh Meat*. Meat Industry Research Institute: New Zealand, 23.
142. **Nickols** D., Varas A. J. (1992). *Ozonation: Disinfection alternatives for safe drinking water*. Bryant, E.A., Fulton, G.P., and Budd, G.C. (eds). Van Nostrand Reinhold, pp:197-258, New York.
143. **Nissen** H., Alvseike O., Bredholt S., Holck A., Nesbakken T. (2000). Comparison between the growth of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in ground beef packed by three commercially used packaging techniques. *International Journal of Food Microbiology*, **59**, 211-220.
144. **Nissen** L. R., Byrne D. V., Bertelsen G., Skibsted L. H. (2004). The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. *Meat Science*, **68**, 485-495.
145. **No** H. K., Park N. Y., Lee S. H., Hwang H. J., Meyers S. P. (2002). Antibacterial activities of Chitosans and Chitosan with Different Molecular Weights on Spoilage Bacteria Isolated from Tofu. *Journal of Food Science*, **67**, 1511-1514.
146. **Nobile** M. A., Gammariello D. Conte A., Attanasio M. (2009). A combination of chitosan, coating and modified atmosphere packaging for prolonging Fior di latte cheese shelf life. *Carbohydrate Polymers*, **78** (1), 4, 151-156.
147. **Norton** J. S., Charig A. J., Demoranville I. E. (1968). The effect of ozone on storage of cranberries. *The American Society for Horticultural Science*, **93**, 792-796.
148. **N.R.C.** (1985). *An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients*. National Academic Press: Washington D.C.
149. **Nunes** Barbosa, L., Alves F. C. B., Andrade F. M. T., Albano M., Castilho I. G., Rall V. L. M. (2014). Effects of *Ocimum basilicum* linn essential oil and sodium hexametaphosphate on the shelf life of fresh chicken sausage. *Journal of Food Protection*, **77** (6), 981-986.

150. **Nychas G. - J.** and Drosinos E. H. (1999). Meat and Poultry spoilage of meat. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2004, pp. 1253-1260, Academic Press.
151. **Oehlschlaeger H. F.** (1978). Reactions of ozone with organic compounds. In: R. G. Rice, & J. A. Cotruvo (Eds.), *Ozone/chlorine dioxide oxidation products of organic material*. Cleveland: Ozone Press International, pp. 20–37.
152. **Ojagh S. M., Rezaei M., Razavi S. H., Hosseini S. M. H.** (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, **120**, 193-198.
153. **Pascual A., Liorca I. & Canut A.** (2007). Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends in Food Science and Technology* , **18**, 29-35.
154. **Paster N., Juven B. J., Shaaya E., Menasherov M., Nitzan R., Weisslowicz H., Ravid U.** (1990). Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, **11**, 33-37.
155. **Patsias A., Badeka A., Savvaidis I. N., Kontominas M. G.** (2008). Combined effect of freeze-chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. *Food Microbiology*, **25**, 575-581.
156. **Patterson M. F., Damoglou A. P. Buick R. K.** (1993). Effect of irradiation on poultry meat and in phosphate-buffered saline. *Letters of Applied Microbiology*, **8**, 181-184.
157. **Petrova J., Pavelkova A., Hleba L., Pochop J., Rovna K., Kacaniova M.** (2013). Microbiological quality of fresh chicken breast meat after rosemary essential oil treatment and vacuum packaging. *Animal Science and Biotechnologies*, **46** (1), 140-144.
158. **Pexara E. S., Metaxopoulos J., Drosinos E. H.** (2002). Evaluating of shelf life of cured, cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages-piroski-stores under vacuum and modified atmospheres at 4 °C and 10 °C. *Meat Science*, **62**, 33-43.
159. **Pires M. A., Muneke P. E. S. S., Villanueva N. D. M. M., Tonin F. G., Baldin J. C., Rocha Y. J. P. P.** (2017). The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in chicken burgers. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-6.

160. **Pranoto** Y., Rakshit S. K., Salokhe V. M. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologic*, **38**, 859-865.
161. **Quattara** B., Simard R. E., Piette G., Begin A., Holley R. A. (2000). Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology*, **62**, 139-148.
162. **Raafat** D., Bargan K., Haas A., Sahl H.- G. (2008). Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**, 3764-3773.
163. **Raeisi** M., Tabaraei A., Hashemi M., Behnampour N. (2016). Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, Cinnamomum zeylanicum, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration. *International Journal of Food Microbiology*, **238**, 139–145.
164. **Restaino** L., Frampton E. W., Hemphill J. B., & Palnikar P. (1995). Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, **61** (9), 3471–3475.
165. **Rice** R. G., Farguhar J. W., & Bollyky L. J. (1982). Review of the applications of ozone for increasing storage times of perishable foods. *Ozone Science and Engineering*, **4**, 147–163.
166. **Rice** R. G. & Netzer A. (1984). Handbook of ozone technology and applications, 2, Ozone for drinking water treatment. Butterworth, Stoneham, MA, USA.
167. **Rice** R. G., Robson C. M., Miller G. W., & Hill A. G. (1981). Uses of ozone in drinking water treatment. *Journal of the American Water Works Association*, **73** (1), 44–57.
168. **Rice** R. G. (1986). Application of ozone in water and waste water treatment. In: R.G. Rice, & M.J. Browning (Eds.), *Analytical aspects of ozone treatment of water and waste water*, p 7-26, Syracuse, NY.
169. **Rojas** M. C., Brewer M. S. (2007). Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. *Journal of Food Science*, **72**, S282–S288.

170. **Rojas** M. C., Brewer M. S. (2008). Effect of natural antioxidants on oxidative stability of frozen, vacuum-packaged beef and pork. *Journal of Food Quality*, **31**, 173–188.
171. **Rojek** U., Hill A. & Griffiths M. (1995). Preservation of milk by hyperbaric ozone processing. *Journal of Dairy Science*, **78** (Supp I), 125.
172. **Rota** C., Carraminana J. J., Burinllo J., I Herrera A. (2004). In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, **67**, 1252-1256.
173. **Sagoo** S., Board R., Roller S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. *Food Microbiology*, **19**, 175-182.
174. **Sallam** K. I. and Samejima K. (2004). Effect of trisodium phosphate and sodium chloride dipping on the microbial quality and self life of refrigerated tray-packaged chicken breasts. *Food Science and Biotechnology*, **13** (4), 425-429.
175. **Sanchez-Gonzalez** L., Gonzalez-Martinez C., Chiralt A., Chafer M. (2010). Physical and antimicrobial properties of chitosan—tea tree essential oil composite films. *Journal of Food Engineering*, **98**, 443-452.
176. **Sarantopoulos** C. I. G. L., Vercelino Alves R. M., Contreras C. J. C., Galvao M. T. E. L., Gomes T. C. (1998). Use of Modified Atmosphere Masterpack for extending the self life of chicken cuts. *Packaging Technology and Science*, **11**, 217-229.
177. **Sarig** P., Zahavi T., Zutkhi Y., Yannai S., Lisker N. & Ben-Arie R. (1996). Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **48**, 403–415.
178. **Sawaya** W. N., Elnawawy A. S., Abu-Ruwaida A. S., Khalafawi S., Dashti B. (1995). Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of chicken carcasses under refrigerated storage conditions. *Journal of Food Safety*, **15**, 35-51.
179. **Sebranek** J. G., Sewalt V. J. H., Robbins K. L., Houser T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, **69**, 289–296.
180. **Sehested** K., Holeman J., Bjergbakke E. & Hart E. J. (1987). Ozone decomposition in aqueous acetate solutions. *Journal of Physical Chemistry*, **91**, 2359-2361.

181. **Senter** S. D., Arnold J. W., Chew V. (2000). APC values and volatile compounds formed in commercially processed, raw chicken parts during storage at 4 and 13 °C and under simulated temperature abuse conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 1559-1564.
182. **Seydim** A. C., Acton J. C., Hall M. A., Dawson P. L. (2006). Effects of packaging atmospheres on shelf-life quality of ground ostrich meat. *Meat Science*, **73**, 203-510.
183. **Shahidi** F., Arachchi L. K. V., Jeon Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, **10**, 37-51.
184. **Sheldon** B. W. & Brown A. L. (1986). Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. *Journal of Food Science*, **51**, 305-309.
185. **Shelef** L. A., Jyothi E. K., Bulgrelli M. A. (1984). Growth of enteropathogenic and spoilage bacteria in sage-containing broth and foods. *Journal of Food Science*, **49**, 713-714.
186. **Sheridan** J. J., Doherty A. M., Allen P., McDowell D. A., Blair I. S., Harrington D. (1997). The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on shelf-life of lamp-primals, stored at different temperatures. *Meat Science*, **45** (1), 107.
187. **Sikkema** J., De Bont J. A. M., Poolman B. (1995). Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiology Reviews*, **59**, 201-202.
188. **Simon** A., Gonzales-Fandos E. & Tobar V. (2005). The sensory and microbiological quality of fresh sliced mushroom (*Agaricus Bisporus L.*) packaged in modified atmospheres. *International Journal of Food Science and Technology*, **40**, 943-952.
189. **Simpson** B. K., Gagne N., Ashie I. N. A., Noroozi E. (1997). Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp (*Pandalus Borealis*). *Food Biotechnology*, **11**, 25-44.
190. **Skandamis** N. P. and Nychas G. J. E. (2001). Effect of oregano essential oil on microbiological and physic-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal Applied Microbiology*, **91**, 1011-1022.
191. **Skandamis** N. P., Tsigarida E., Nychas G. J. E. (2002). The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat

- stored at 5 °C under aerobic, VP/MAP conditions. *Food Microbiology*, **19**, 97-103.
192. **Skog** L. J., & Chu C. L. (2000). Ozone technology for shelf life extension of fruits and vegetables. In: Ben-Aire, R., Philosoph-Hadas, S. (Eds.), *Proceedings of the Fourth Conference On Postharvest*, vol. II, Acta Horticulturae, 553, ISHS, p 285–291.
193. **Smibert** R. M. (1984). Campylobacter In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol 1, Krieg N.R. and Holt J.G. (Eds). William and Wilkins: Baltimore and London.
194. **Smith-Palmer** A., Stewart J., Fyfe L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Food Microbiology*, **26**, 118-122.
195. **Smolander** M., Alakomi H. L., Ritvanen T., Vainionpaa J., Ahvenainen R. (2004). Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions. A. Time—temperature indicators as quality-indicating tools. *Food Control*, **15**, 217-229.
196. **Soldatou** N., Nerantzaki A., Kontominas M. G., Savvaidis I. N. (2009). Physicochemical and microbiological changes of "Souvlaki" — A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters. *Food Chemistry*, **113**, 36-42.
197. **Sorheim** O., Nissen H., Nesbakken T. (1999). The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. *Meat Science*, **53**, 157-164.
198. **Sørheim** O., Ofstad R., Lea P. (2004). Effects of carbon dioxide on yield, texture and microstructure of cooked ground beef. *Meat Science*, **67** (2), 231-236.
199. **Soultos** N., Tzikas Z., Abraham A., Georgantelis D., Amvrosiadis I. (2008). Chitosan effects on quality properties of Greek-style fresh pork sausages. *Meat Science*, **80**, 1150- 11 56.
200. **Stachelin** J. & Hoigne J. (1985). Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environmental Science and Technology*, **19**, 1206-1213.

201. **Stecchini** M. L., Sarais I., Giavedoni P. (1993). Effect of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork. *Journal of Food Protection*, **56**, 406- 409.
202. **Stojanovic-Radica** Z., Pejčica M., Jokovica N., Jokanovic M., Ivic M., Sojic B., Skaljac S., Stojanovic P., Mihajilov-Krstev T. (2018). Inhibition of *Salmonella Enteritidis* growth and storage stability in chicken meat treated with basil and rosemary essential oils alone or in combination. *Food Control*, **90**, 332-343.
203. **Strittmatter** R. J., Yang B., & Johnson D. A. (1996). Ozone application for cooling tower water. *American Society of Heating and Air-Conditioning Engineers (ASHRAE) Journal*, **38**, 27–34.
204. **Sudarshan** N. R., Hoover D. G., Knorr D. (1992). Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnology*, **6**, 257-272.
205. **Tano** K., Arul J., Doyon G. & Castaigne F. (1999). Atmospheric Composition and Quality of Fresh Mushrooms in Modified Atmosphere Packages as Affected by Storage Temperature Abuse. *Journal of Food Science*, **64**, 6.
206. **Tassou** C., Drosinos E. H., Nychas G. J. E. (1995). Effect of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 °C and 10 °C. *Journal Applied of Bacteriology*, **78**, 593-600.
207. **Taylor** A. A. (1977). Vacuum Packaging of Fresh Meat. Meat Industry Research Institute: New Zealand.
208. **Taylor** S. L., Somers E. B., Krueger L. A. (1984). Antibotulinal effectiveness of nisin-nitrite combinations in culture medium chicken frankfurter emulsions. *Journal of Food Protection*, **73**, 234-239.
209. **Teruel** M. R., Garrido D. M., Espinosa M. C., Linares B. M. (2015). Effect of different format-solvent rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis*) on frozen chicken nuggets quality. *Food Chemistry*, **172**, 40-46.
210. **Tesoriere** L., Butera D., Gentile C., Livrea M. A. (2007). Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and antioxidant effects in a red meat simulated gastric digestion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 8465–8471.

211. **Tzortzakis** N. G., Singleton I. & Barnes J. D. (2007). Deployment of low-level ozone-enrichment for the preservation of chilled fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, **43**, 261–270.
212. **Tripathi** S., Mehrotra G. K., Tripathi C. K. M., Banerjee B., Joshi A. K., Dutta P. K. (2008). Chitosan based bioactive film: Functional properties towards biotechnological needs. *Asian Chitin Journal*, **4**, 29-36.
213. **Tsai** G. J., Tsai M. T., lee J. M., Zhong M. Z. (2006). Effects of chitosan and a low molecular-weight chitosan on *Bacillus cereus* and application in the preservation of cooked rice. *Journal of Food Protection*, **69**, 2168-2175.
214. **Tsigarida** E., Skandamis P., Nychas G. J. E. (2000). Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5 °C. *Journal Applied of Microbiology*, **89**, 901-909.
215. **Ultee** A., and Smid E. J. (2001). Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, **64**, 373-378.
216. **Ultee** A., Bennik M. H. J., Moezelaar R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 1561-1568.
217. **Uppu** R. M., Cueto R., Squadrito G. L. & Pryor W. A. (1995). What does ozone react with air/lung interface? Model studies using human red blood cell membranes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **319**, 257-266.
218. **USDA** (1997). *Code of Federal Regulations*, Title 9, Part 381-386. Poultry products; temperatures and chilling and freezing procedures. Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, Washington, D.C., USA.
219. **Vaara** M. (1992). Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiological Reviews*, **56**, 395-411.
220. **Vargas** M., Albors A., Chiralt A., Gonzalez M. C. (2006). Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Post-harvest Biology and Technology*, **41**, 164-171.
221. **Videla** H. A., Viera M. R., & Guiamet P. S. (1995). Using ozone to control biofilms. *Material Performance*, **34**, 40–44.

222. **Vishu Kumar** A. B., Varadaraj M. C., Gowda L. G., Tharanathan R. N. (2007). Low molecular weight chitosan-preparation with the aid of pronase, characterization and their bactericidal activity towards *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *Biochimica et Biophysica Acta*, **70**, 495-505.
223. **Waldroup** A. L., Hierholzer R. E., Forsythe R. H., Miller M. J. (1993). Recycling of poultry chill water using ozone. *Journal of Applied Poultry Research*, **2**, 330-336.
224. **Wan J.**, Wilcock A., Coventry M. J. (1998). The effect of essential oils of basil growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, **84**, 152-158.
225. **Wang X.**, Du Y., Fan L., Liu H., Hu Y (2005). Chitosan-metal complexes as antimicrobial agents: Synthesis, characterization, and structure-activity studies. *Polymer Bulletin*, **55**, 105- 113.
226. **Ward S. M.**, Delaquis P. J., Holley R. A., Mazza G. (1998). Inhibition of spoilage and pathogenic bacteria on agar and pre-cooked roasted beef by volatile horseradish distillates. *Food Rerearsch International*, **31**, 19-26.
227. **Wilkins P. O.**, Bourgeois R, and Murray R. G. E. (1972). Psychotropic properties of *Listeria monocytogenes*. *Canadian Journal of Microbiology*, **18**, 543-549.
228. **Williams R. C.**, Sumner S. S. & Golden D. A. (2005). Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* in apple cider and orange juice treated with combinations of ozone, dimethyl dicarbonate and hydrogen peroxide. *Journal of Food Science* , **70** (4), 197-201.
229. **Yang P. P. W.**, Chen T. C. (1979). Effect of ozone treatment on the microflora of poultry meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, **3**, 177-185.
230. **Ye M.**, Neetoo H., Chen H. (2008). Control of *Listeria motocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films. *Food Microbiology*, **25**, 260-268.
231. **Yingyuad B. S.**, Ruamsin S., Reekprkhon D., Douglas S., Pongamphai S., Siripatrawan U. (2006). Effect of chitosan coating and Vacuum Packaging on the quality of refrigerated grilled pork. *Packaging Technology and Science*, **19**, 149-157.

232. **Youn S. K.**, Park S. M., Kim Y. J., Ahn D. H. (1999). Effect on storage property and quality in meat sausage by added chitosan. *Journal of Chitin and Chitosan*, **4**, 189-195.
233. **Youn S. K.**, Her J. H., Kim Y. J., Choi J. S., Park S. M., Ahn D. H. (2004). Studies on the improvement of shelf life in spicy beef meat using chitosan. *Journal of Korean society of food science and nutrition*, **33** (1), 7-11.
234. **Zhai M.**, Zhao L., Yoshii F., Kume T. (2004). Study on antibacterial starch/chitosan blend film formed under the action of irradiation. *Carbohydrate Polymers*, **57**, 83-88.
235. **Zhang L.**, Lu Z., Yu Z. & Gao X. (2005). Preservation of fresh-cut celery by treatment of ozonated water. *Food Control*, **16** (3), 279-283.
236. **Zhang H.**, Wu J., Guo X. (2016). Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Science and Human Wellnes*, **5**, 39-48.
237. **Zhao J.** & Cranston P. M. (1995). Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. *Journal of the Science and Food and Agriculture*, **68**, 11-18.
238. **Zivanovics A.**, Chi S., Draughon A. A. E. (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Science*, **70**, 45-51.
239. **Zouaghi F.**, Cantelejo M. J. (2016). Study of modified atmosphere packaging on the quality of ozonated freeze-dried chicken meat. *Meat Science*, **119**, 123-131.

8.1 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Βουδούρης Ε. Κ.**, Κοντομηνάς Μ. Γ. (1990). Ανάλυση τροφίμων: Θεωρία και Εφαρμογές, Αθήνα, Ο.Ε.Δ.Β., σελ. 193-204.
2. **Βουδούρης Ε. Κ.**, Κοντομηνάς Μ. Γ., (1997). Χημεία τροφίμων, Αθήνα, Ο.Ε.Δ.Β.
3. **Γεωργάκης Σ. Α.** (2002). Τεχνολογία Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη, σελ. 33-51, 171-273, 337-350.
4. **Γιαννακόπουλος Α.** (1991). Ορνιθοτροφία, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη, Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη, σελ. 12-63.

5. **Καρακώστα** Ε. (2010). Επίδραση του οξονισμού και της συσκευασίας στο χρόνο ζωής της νωπής ντομάτας συντηρούμενης υπό ψύξη. Μεταπτυχιακή διατριβή. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
6. **Κοντομηνάς** Μ. Γ. και Κ. Α. Ρηγανάκος (2007). Συντήρηση και συσκευασία τροφίμων. Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο. Ιωάννινα.
7. **Κοντομηνάς** Μ. Γ. (1995). Πλαστική Συσκευασία Τροφίμων, Ανάλυση και Ποιοτικός Έλεγχος. ΟΠΕ, Αθήνα.
8. **Κοντομηνάς** Μ. Γ. και Τασιούλα-Μάργαρη Μ. (2003). Ποιοτικός Έλεγχος και Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά των Τροφίμων. Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο. Ιωάννινα.
9. **Μπλούκας** Γ. Ι. (2004). Συσκευασία Τροφίμων. Εκδόσεις Σταμούλη. Αθήνα.
10. **Πάνου-Φιλοθέου** Ε. (1999). Σημειώσεις ειδικής Γεωργίας. ΤΕΙ Θεσσαλονίκης.
11. **Πατσιάς** Α. (2005). Βελτιστοποίηση του χρόνου ζωής προμαγειρεμένου φιλέτου κοτόπουλου συσκευασμένου σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Μεταπτυχιακή διατριβή. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
12. **Ρηγανάκος** Κ. Α. (1996). Θέματα Οινολογίας. Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο. Ιωάννινα.
13. **Σπαής** Α. Β., Χατζηζήσης Λ. (2011). Εκτροφή παραγωγικών πτηνών, όρνιθες, ινδιανόρνιθες, μελεαγρίδες, ορτύκια, πάπιες, χήνες. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία. Θεσσαλονίκη.

8.2 ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. www.statistics.gr
2. www.fao.org

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας, για τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) μεταξύ των επεμβάσεων της πειραματικής περίπτωσης Ι.

pH	p-value
C - CP+10ppm O ₃	0,017
C - CV	0,024
C - CV+2ppm O ₃	0,007
C - CV+5ppm O ₃	0,026
C - CV+10ppm O ₃	0,001
C - CMAP	0,000
C - CMAP+2ppm O ₃	0,000
C - CMAP+5ppm O ₃	0,000
C - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CP - CP+5ppm O ₃	0,013
CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP - CV	0,002
CP - CV+2ppm O ₃	0,000
CP - CV+5ppm O ₃	0,000
CP - CV+10ppm O ₃	0,000
CP - CMAP	0,000
CP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,001
CP+5ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,006
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,001
CP+10ppm O ₃ - CMAP	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000

CV - CV+10ppm O ₃	0,001
CV - CMAP	0,000
CV - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CV - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CV - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,009
CV+2ppm O ₃ - CMAP	0,000
CV+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,032
CV+5ppm O ₃ - CMAP	0,000
CV+5ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃ - CMAP	0,028
CV+10ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000

L*	p-value
C - CV	0,038
C - CMAP	0,005
CP - CP+10ppm O ₃	0,016
CP - CMAP	0,009
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,002
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,001
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,002
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,001
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,001
CV - CV+2ppm O ₃	0,001
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,012
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,004
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,002
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,001
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000

CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,011
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,002

a*	p-value
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CP+10ppm O ₃	0,002
CP - CV	0,026
CP - CMAP	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,008
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,017
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+2ppm O ₃	0,026
CV - CV+10ppm O ₃	0,010
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,020
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,001
CV+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,002
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,025
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,001
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000

b*	p-value
C - CP	0,000
C - CV	0,001
C - CMAP	0,000
CP - CP+5ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,047
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,026
CV+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000

CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,014
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,009

O.M.X.	p-value
C - CP	0,006
C - CV	0,000
C - CMAP	0,044
CP - CP+2ppm O ₃	0,000
CP - CP+5ppm O ₃	0,000
CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP - CV	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,004
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+2ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV - CMAP	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,026
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,027
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000

<i>Pseudomonas spp.</i>	p-value
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CP+2ppm O ₃	0,000
CP - CP+5ppm O ₃	0,000

CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP - CV	0,000
CP - CMAP	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,002
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+2ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV - CMAP	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,027
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,010
CV+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,002
CV+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,001
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000

Ζύμες - Μύκητες	p-value
C - CP	0,001
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CP+2ppm O ₃	0,001
CP - CP+5ppm O ₃	0,000
CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP - CV	0,000
CP - CMAP	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,009
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000

CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+2ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,001
CV+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,024
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,003
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000

<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	p-value
C - CP	0,001
CP - CP+2ppm O ₃	0,047
CP - CP+5ppm O ₃	0,001
CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP - CMAP	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,003
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+2ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,006
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,010
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000

Οξυγαλακτικά βακτήρια	p-value
C - CP	0,004
CP - CP+2ppm O ₃	0,002
CP - CP+5ppm O ₃	0,000
CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,005
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,015
CV - CV+2ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000

Οσμή	p-value
C - CP	0,003
C - CV	0,001
C - CMAP	0,000
CP - CP+2ppm O ₃	0,005
CP - CP+5ppm O ₃	0,000
CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP - CV	0,002
CP - CMAP	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,007
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,002
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+2ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000

CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,015
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,006
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,022
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,002

Υφή	p-value
C - CP	0,001
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CP+2ppm O ₃	0,000
CP - CP+5ppm O ₃	0,000
CP - CP+10ppm O ₃	0,000
CP - CV	0,000
CP - CMAP	0,000
CP+2ppm O ₃ - CP+5ppm O ₃	0,004
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV - CV+2ppm O ₃	0,000
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV - CMAP	0,010
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,001
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,003
CV+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,048
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,011
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,001

Εμφάνιση	p-value
C – CP	0,007
C – CV	0,000
C – CMAP	0,000
CP – CP+2ppm O ₃	0,002
CP – CP+5ppm O ₃	0,007
CP – CP+10ppm O ₃	0,000
CP – CV	0,001
CP – CMAP	0,025
CP+2ppm O ₃ – CP+10ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ – CV+2ppm O ₃	0,000
CP+2ppm O ₃ – CMAP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ – CP+10ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ – CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ – CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ – CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ – CMAP+10ppm O ₃	0,000
CV – CV+2ppm O ₃	0,000
CV – CV+5ppm O ₃	0,000
CV – CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ – CV+5ppm O ₃	0,022
CV+2ppm O ₃ – CV+10ppm O ₃	0,001
CV+5ppm O ₃ – CV+10ppm O ₃	0,031
CMAP – CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP – CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP – CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ – CMAP+5ppm O ₃	0,001
CMAP+2ppm O ₃ – CMAP+10ppm O ₃	0,001
CMAP+5ppm O ₃ – CMAP+10ppm O ₃	0,031

Γεύση	p-value
C - CV	0,038
C - CMAP	0,005
CP - CP+10ppm O ₃	0,016
CP - CMAP	0,009
CP+2ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,002
CP+2ppm O ₃ - CV+2ppm O ₃	0,001
CP+2ppm O ₃ - CMAP+2ppm O ₃	0,002
CP+5ppm O ₃ - CP+10ppm O ₃	0,001
CP+5ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,001

CV - CV+2ppm O ₃	0,001
CV - CV+5ppm O ₃	0,000
CV - CV+10ppm O ₃	0,000
CV+2ppm O ₃ - CV+5ppm O ₃	0,012
CV+2ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,004
CV+5ppm O ₃ - CV+10ppm O ₃	0,002
CMAP - CMAP+2ppm O ₃	0,001
CMAP - CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+5ppm O ₃	0,011
CMAP+2ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃ - CMAP+10ppm O ₃	0,002

Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας, για τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$), μέσα στην επέμβαση συναρτήσει του χρόνου συντήρησης της πειραματικής περίπτωσης I.

pH	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,001
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,011
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

L*	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

a*	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,021
CP+10ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,003
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

b*	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

O.M.X.	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

<i>Pseudomonas spp.</i>	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000

CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

Ζύμες - Μύκητες	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

Οξυγαλακτικά βακτήρια	p-value
C	0,000
CP	0,001
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000

CP+10ppm O ₃	0,001
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

Οσμή	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

Υφή	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

Εμφάνιση	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000

CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

Γεύση	p-value
C	0,000
CP	0,000
CP+2ppm O ₃	0,000
CP+5ppm O ₃	0,000
CP+10ppm O ₃	0,000
CV	0,000
CV+2ppm O ₃	0,000
CV+5ppm O ₃	0,000
CV+10ppm O ₃	0,000
CMAP	0,000
CMAP+2ppm O ₃	0,000
CMAP+5ppm O ₃	0,000
CMAP+10ppm O ₃	0,000

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας, για τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) μεταξύ των επεμβάσεων της πειραματικής περίπτωσης ΙΙ.

pH	p-value
CV - CV+0,5% X	0,026
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,003
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,004
CP+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,014
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X - CP+1,0% O.O	0,002
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,086
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% X	0,043
CMAP+0,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP - CP+0,5% X	0,004
CP - CP+1,0% X	0,002
CP - CP+1,5% X	0,001
CP - CP+1,0% O.O	0,000

L*	p-value
CV - CV+1,0% O.O	0,001
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,015
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,001
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,001
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,001

CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,017
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,001
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,007
CV+1,0% X - CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CV+1,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,011
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% X	0,018
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,004
CMAP+1,0% X - CMAP+1,5% X	0,003
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,003
CP - CP+0,5% X	0,000
CP - CP+1,0% X	0,000
CP - CP+1,5% X	0,000
CP - CP+1,0% O.O	0,000

a*	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CV - CV+1,0% X	0,001
CMAP - CMAP+0,5% X	0,027
CMAP - CMAP+1,0% X	0,006
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,042
CP+0,5% X - CP+1,5% X	0,007
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,004
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,013
CP+1,5% X - CP+1,0% O.O	0,009
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,004
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,002
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,011
CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP - CP+1,0% X	0,008

b*	p-value
CV - CV+1,0% O.O	0,025
CMAP - CMAP+0,5% X	0,003
CMAP - CMAP+1,0% X	0,016
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,004
CP+0,5% X - CP+1,5% X	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,016
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,001
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,002
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,000
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,003
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,001
CV+1,5% X - CV+1,0% O.O	0,001
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,028
CMAP+0,5% X - CMAP+1,5% X	0,026
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,017
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP - CP+1,0% X	0,000
CP - CP+1,5% X	0,000
CP - CP+1,0% O.O	0,000

O.M.X.	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CV - CV+1,0% X	0,000
CV - CV+1,5% X	0,000
CV - CV+1,0% O.O	0,003
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,000
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,000
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X - CP+1,0% O.O	0,001
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,000

CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,003
CV+1,0% X - CV+1,5% X	0,006
CV+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,032
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,005
CV+1,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,001
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,5% X	0,005
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,0% O.O	0,028
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,004
CP - CP+0,5% X	0,000
CP - CP+1,0% X	0,000
CP - CP+1,5% X	0,001

<i>Pseudomonas spp.</i>	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CV - CV+1,0% X	0,000
CV - CV+1,5% X	0,000
CV - CV+1,0% O.O	0,000
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,000
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,001
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,000
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X - CP+1,0% O.O	0,001
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,000
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000

CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CV+1,0% X - CV+1,5% X	0,009
CV+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,016
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CV+1,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,024
CP - CP+0,5% X	0,000
CP - CP+1,0% X	0,000
CP - CP+1,5% X	0,001
CP - CP+1,0% O.O	0,023

Ζύμες - Μύκητες	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CV - CV+1,0% X	0,000
CV - CV+1,5% X	0,000
CV - CV+1,0% O.O	0,000
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,026
CP+0,5% X - CP+1,5% X	0,042
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,000
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,000
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,001
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000

CMAP+0,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP - CP+0,5% X	0,000
CP - CP+1,0% X	0,000
CP - CP+1,5% X	0,000

<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CV - CV+1,0% X	0,000
CV - CV+1,5% X	0,000
CV - CV+1,0% O.O	0,000
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,000
CP+0,5% X - CP+1,5% X	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,000
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,000
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,000
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,001
CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,001
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,030
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,009
CMAP+0,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP - CP+0,5% X	0,000

Οξυγαλακτικά βακτήρια	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CV - CV+1,0% X	0,000
CV - CV+1,5% X	0,000

CV - CV+1,0% O.O	0,000
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,000
CP+0,5% X - CP+1,5% X	0,013
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,000
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,009
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,003
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,004
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CV+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,043
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,000
CV+1,5% X - CV+1,0% O.O	0,001
CV+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% X	0,005
CMAP+0,5% X - CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,5% X	0,002
CMAP+1,0% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CP - CP+0,5% X	0,000
CP - CP+1,0% X	0,000
CP - CP+1,5% X	0,000

Οσμή	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CV - CV+1,0% X	0,011
CV - CV+1,5% X	0,000
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,004
CMAP - CMAP+1,5% X	0,013
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,022
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,013

CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,000
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000

Υφή	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+1,0% X	0,000
CMAP - CMAP+1,5% X	0,005
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,000
CP+0,5% X - CP+1,5% X	0,001
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,000
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,002
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,003
CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,001
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,012
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,018
CP+1,0% O.O - CV+1,0% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,002
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,013
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,001
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,003
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% X	0,002
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,032
CMAP+1,0% X - CMAP+1,0% O.O	0,001
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,005
CP - CP+0,5% X	0,000
CP - CP+1,0% X	0,005
CP - CP+1,5% X	0,005
CP - CP+1,0% O.O	0,003

Εμφάνιση	p-value
CV - CV+0,5% X	0,000
CMAP - CMAP+0,5% X	0,010
CMAP - CMAP+1,0% X	0,011
CMAP - CMAP+1,0% O.O	0,001
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,002
CP+0,5% X - CV+0,5% X	0,000
CP+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,004
CP+1,0% X - CV+1,0% X	0,008

CP+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,004
CP+1,5% X - CV+1,5% X	0,034
CP+1,5% X - CMAP+1,5% X	0,045
CP+1,0% O.O - CV+1,0% X	0,000
CP+1,0% O.O - CV+1,0% O.O	0,001
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% X	0,000
CP+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,5% X	0,000
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X - CMAP+0,5% X	0,000
CV+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,010
CV+1,0% X - CMAP+1,0% X	0,021
CV+1,5% X - CV+1,0% O.O	0,015
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% X	0,001
CV+1,0% O.O - CMAP+1,0% O.O	0,003
CP - CP+0,5% X	0,001

Γεύση	p-value
CV - CV+0,5% X	0,004
CMAP - CMAP+0,5% X	0,002
CP+0,5% X - CP+1,0% X	0,041
CP+0,5% X - CP+1,5% X	0,041
CP+0,5% X - CP+1,0% O.O	0,010
CV+0,5% X - CV+1,0% X	0,042
CV+0,5% X - CV+1,0% O.O	0,000
CV+1,0% X - CV+1,0% O.O	0,012
CV+1,5% X - CV+1,0% O.O	0,001
CMAP+0,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,000
CMAP+1,0% X - CMAP+1,0% O.O	0,001
CMAP+1,5% X - CMAP+1,0% O.O	0,004
CP - CP+0,5% X	0,028
CP - CP+1,0% X	0,009
CP - CP+1,5% X	0,009

Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας, για τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$), μέσα στην επέμβαση συναρτήσει του χρόνου συντήρησης της πειραματικής περίπτωσης II.

pH	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000

CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

L*	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

a*	p-value
CP+0,5% X	0,009
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,003
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,002
CV+1,0% X	0,002
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,047
CMAP+1,0% X	0,437
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

b*	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000

CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

O.M.X.	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

<i>Pseudomonas spp.</i>	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

Ζύμες - Μύκητες	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

Οξυγαλακτικά βακτήρια	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

Οσμή	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

Υφή	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000

CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

Εμφάνιση	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,000
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

Γεύση	p-value
CP+0,5% X	0,000
CP+1,0% X	0,000
CP+1,5% X	0,000
CP+1,0% O.O	0,003
CV+0,5% X	0,000
CV+1,0% X	0,000
CV+1,5% X	0,000
CV+1,0% O.O	0,000
CMAP+0,5% X	0,000
CMAP+1,0% X	0,000
CMAP+1,5% X	0,000
CMAP+1,0% O.O	0,000

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας, για τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) μεταξύ των επεμβάσεων της πειραματικής περίπτωσης ΙΙΙ.

pH	p-value
C - CV	0,024
C - CMAP	0,000
CP - CV	0,002
CP - CMAP	0,000
CP - CP+0,1% Δ	0,000
CP - CP+0,5% Δ	0,000
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CMAP	0,000
CV - CV+0,1% Δ	0,000
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,006
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CP+1,0% Δ	0,016
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,021
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,019
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,044
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,009

L*	p-value
C - CP	0,000
C - CV	0,012
C - CV+0,5% Δ	0,000
C - CV+1,0% Δ	0,000
CP - CV	0,000
CP - CMAP	0,000
CP - CP+0,1% Δ	0,000
CP - CP+0,5% Δ	0,000

CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CMAP	0,009
CV - CV+0,1% Δ	0,024
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,005
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,007
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,005
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,008
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,007

a*	p-value
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
C - CP+0,5% Δ	0,004
C - CP+1,0% Δ	0,000
C - CV+0,1% Δ	0,020
C - CV+0,5% Δ	0,010
C - CV+1,0% Δ	0,007
C - CMAP+0,1% Δ	0,000
C - CMAP+0,5% Δ	0,000
C - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP - CV	0,026
CP - CMAP	0,000
CV - CV+0,1% Δ	0,017
CV - CV+0,5% Δ	0,002
CV - CV+1,0% Δ	0,001
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,025
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,017
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000

b*	p-value
C - CP	0,000
C - CV	0,001

C - CMAP	0,000
C - CP+0,1% Δ	0,000
C - CP+0,5% Δ	0,000
C - CP+1,0% Δ	0,000
C - CV+0,1% Δ	0,000
C - CV+0,5% Δ	0,000
C - CV+1,0% Δ	0,000
C - CMAP+0,1% Δ	0,000
C - CMAP+0,5% Δ	0,000
C - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,003
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,012
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,022
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,004

O.M.X.	p-value
C - CP	0,006
C - CV	0,000
C - CMAP	0,044
CP - CV	0,000
CP - CP+0,5% Δ	0,000
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CMAP	0,000
CV - CV+0,1% Δ	0,007
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CV+0,1% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CP+1,0% Δ	0,001
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,006
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000

CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000

<i>Pseudomonas spp.</i>	p-value
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CV	0,000
CP - CMAP	0,000
CP - CP+0,1% Δ	0,002
CP - CP+0,5% Δ	0,000
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CMAP	0,000
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CV+0,1% Δ	0,001
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,004
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000

Ζύμες - Μύκητες	p-value
C - CP	0,001
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CV	0,000
CP - CMAP	0,000
CP - CP+0,1% Δ	0,000
CP - CP+0,5% Δ	0,000
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,001
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,001
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,006
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,002
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000

<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	p-value
C - CP	0,001
CP - CMAP	0,000
CP - CP+0,5% Δ	0,000
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CV+0,1% Δ	0,000
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,001
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,002
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000

CP+0,1% Δ - CV+0,1% Δ	0,002
CP+0,5% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,001
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,001
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000

Οξυγαλακτικά βακτήρια	p-value
C - CP	0,004
CP - CP+0,5% Δ	0,004
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CV+0,1% Δ	0,007
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CV+0,1% Δ	0,021
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000

Οσμή	p-value
CP - CV	0,002
CP - CMAP	0,000
CP - CP+0,5% Δ	0,000

CV - CV+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,018
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,001
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,002
CP+0,1% Δ - CV+0,1% Δ	0,004
CP+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,002
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,015

Υφή	p-value
C - CP	0,001
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CV	0,000
CP - CMAP	0,000
CP - CP+0,1% Δ	0,041
CP - CP+0,5% Δ	0,002
CP - CP+1,0% Δ	0,000
CV - CMAP	0,010
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,002
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CV+0,1% Δ	0,002
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,001
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,011
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,003

Εμφάνιση	p-value
C - CP	0,007
C - CV	0,000
C - CMAP	0,000
CP - CV	0,001
CP - CMAP	0,025
CP - CP+1,0% Δ	0,002
CV - CV+0,5% Δ	0,000
CV - CV+1,0% Δ	0,000
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,009
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP - CMAP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CP+0,5% Δ	0,006
CP+0,1% Δ - CP+1,0% Δ	0,000
CP+0,1% Δ - CV+0,1% Δ	0,001
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,001
CP+0,5% Δ - CP+1,0% Δ	0,043
CP+0,5% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CP+0,5% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CP+1,0% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ - CV+1,0% Δ	0,000
CV+0,5% Δ - CV+1,0% Δ	0,003
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,003
CMAP+0,1% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ - CMAP+1,0% Δ	0,001

Γεύση	p-value
CP - CMAP	0,009
CP - CP+0,5% Δ	0,042
CV - CV+0,5% Δ	0,007
CMAP - CMAP+0,1% Δ	0,031
CMAP - CMAP+0,5% Δ	0,012
CP+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,017
CV+0,1% Δ - CV+0,5% Δ	0,029
CV+0,1% Δ - CMAP+0,1% Δ	0,012
CMAP+0,1% Δ - CMAP+0,5% Δ	0,032

Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας, για τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$), μέσα στην επέμβαση συναρτήσει του χρόνου συντήρησης της πειραματικής περίπτωσης III.

pH	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0%_Δ	0,000

L*	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

a*	p-value
CP+0,1% Δ	0,005
CP+0,5% Δ	0,006
CP+1,0% Δ	0,025
CV+1,0% Δ	0,024
CMAP+0,1% Δ	0,042
CMAP+0,5% Δ	0,000

b*	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

O.M.X.	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

<i>Pseudomonas spp.</i>	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

Ζύμες - Μύκητες	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

Οξυγαλακτικά βακτήρια	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

Οσμή	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000

Υφή	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

Εμφάνιση	p-value
CP+0,1% Δ	0,000
CP+0,5% Δ	0,000
CP+1,0% Δ	0,000
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CV+1,0% Δ	0,000
CMAP+0,1% Δ	0,000
CMAP+0,5% Δ	0,000
CMAP+1,0% Δ	0,000

Γεύση	p-value
CP+0,1% Δ	0,003
CP+0,5% Δ	0,001
CV+0,1% Δ	0,000
CV+0,5% Δ	0,000
CMAF+0,1% Δ	0,000
CMAF+0,5% Δ	0,000

9. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής που δημοσιεύτηκαν ως επιστημονικά άρθρα σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με το σύστημα των κριτών είναι:

- Gertzou N. I., Drosos E. P., Karabagias K. I., Riganakos A. K. (2016). «Combined effect of ozonation and packaging on shelf life extension of fresh chicken legs during storage under refrigeration». *Journal of food science and technology*, **53**, 4270–4277.
- Gertzou N. I., Drosos E. P., Karabagias K. I., Riganakos A. K. (2017). «Effect of combination of ozonation and vacuum packaging on shelf life extension of fresh chicken legs during storage under refrigeration». *Journal of food engineering*, **213**, 18-26.