

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
<b>1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
<b>A. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ</b>	7
1. Γενικά για το κρέας	7
1.1 Κρέας των πουλερικών	7
1.2 Ανατομία και μορφολογία	8
1.3 Σύσταση	8
1.3.1 Πρωτεϊνική σύσταση και πρωτεϊνική αξία	8
1.3.2 Λιπαρές ουσίες	9
1.3.3 Υδατάνθρακες	12
1.3.4 Βιταμίνες και άλλα ιχνοστοιχεία	12
<b>B. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ</b>	13
1. Διαδικασία σφαγής-επεξεργασίας	13
1.1 Τυποποίηση	14
<b>Γ. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ</b>	15
1. Ασφάλεια και υγιεινή των ζωικών τροφίμων	15
2. Πηγές μόλυνσης κρέατος των πουλερικών	15
2.1 Παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών	17
2.2 Μικροβιολογική χλωρίδα του κρέατος των πουλερικών	18
2.2.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί	19
2.2.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί	20
<b>Δ. ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΚΡΕΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ</b>	24
1. Προσδιορισμός της διάρκειας διατήρησης του κρέατος των πουλερικών	24

1.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη διάρκεια διατήρησης του κρέατος των πουλερικών	24
1.2 Αλλοιώσεις του κρέατος των πουλερικών	25
1.2.1 Μικροβιολογικές αλλοιώσεις	25
1.2.2 Οξείδωση των λιπιδίων και των πρωτεϊνών	27
1.2.3 Αυτολυτικές ενζυμικές αλλοιώσεις	28
<b>Ε. ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ</b>	29
1. Συντήρηση	29
1.1 Μέθοδοι συντήρησης	29
1.1.1 Ψύξη	29
1.1.2 Κατάψυξη	30
1.1.3 Ακτινοβόληση	32
1.1.4 Αφυδάτωση	33
1.1.5 Κάπνισμα	33
1.1.6 Θέρμανση	33
1.1.7 Υψηλή υδροστατική πίεση (HHP)	34
1.1.8 Ζυμώσεις	34
1.1.9 Χημικά πρόσθετα	34
1.1.10 Φυσικά πρόσθετα	37
<b>2. Συσκευασία</b>	38
2.1 Υλικά συσκευασίας του κρέατος των πουλερικών	39
2.2 Τεχνικές συσκευασίας των πουλερικών	43
2.2.1 Αερόβια συσκευασία	43
2.2.2 Ενεργή συσκευασία	43
2.2.3 Έξυπνη συσκευασία	43
2.2.4 Συσκευασία υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP)	44

2.2.5 Συσκευασία υπό κενό (VP)	45
2.3 Εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις	48
3. Χιτίνη και Χιτοζάνη	50
3.1 Ιστορική αναδρομή	50
3.2 Χιτίνη	51
3.3 Χιτοζάνη	52
3.3.1 Παραγωγή της χιτοζάνης	53
3.3.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της χιτοζάνης	54
3.3.3 Αντιμικροβιακές ιδιότητες της χιτοζάνης	55
3.3.4 Βιολογικές και βιομηχανικές εφαρμογές	57
<b>ΣΤ. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ</b>	59
1. Ποιότητα του κρέατος των πουλερικών	59
1.1 Φυσικοχημικός έλεγχος	59
1.1.1 Καρβονυλικό περιεχόμενο (CC)	59
1.1.2 Αριθμός υπεροξειδίων (PV)	59
1.1.3 Αριθμός θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)	59
1.1.4 Ολικό πτητικό άζωτο (TVB-N)	60
1.1.5 Τριμεθυλαμίνη (TMA)	60
1.2 Μικροβιολογικός έλεγχος	60
1.3 Οργανοληπτικός έλεγχος	60
1.3.1 Τρόπος διεξαγωγής οργανοληπτικού ελέγχου	60
1.4 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά	62
1.4.1 Χρώμα και εμφάνιση	62
1.4.2 Υφή	63
1.4.3 Τρυφερότητα	64
1.4.4 Χυμώδες	65

1.4.5 Οσμή	65
1.5.6 Γεύση	65
<b>2. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΕΡΕΥΝΑΣ</b>	67
<b>3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΜΕΡΟΣ</b>	68
3.1 Υλικά	68
3.2 Μέθοδοι	69
3.2.1 Μικροβιολογική ανάλυση	69
3.2.2 Φυσικοχημική ανάλυση	71
3.2.2.1. Προσδιορισμός χρώματος	71
3.2.2.2 Προσδιορισμός του pH	71
3.2.2.3 Προσδιορισμός αριθμού θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)	71
3.2.2.4 Προσδιορισμός του ολικού πτητικού αζώτου (TVB-N)	72
3.2.3 Οργανοληπτική εξέταση	73
3.2.4 Στατιστική Ανάλυση	74
<b>4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	75
4.1 Μικροβιολογική ανάλυση	75
4.1.1 Μεταβολές στην ολική μεσόφιλη χλωρίδα	76
4.1.2 Μεταβολές στις ψευδομονάδες	78
4.1.3 Μεταβολές στον <i>Brochothrix thermosphacta</i>	81
4.1.4 Μεταβολές στα γαλακτικά βακτήρια	83
4.1.5 Μεταβολές στα εντεροβακτήρια	85
4.2 Οργανοληπτική εξέταση	87
4.2.1 Μεταβολές στην οσμή	87
4.2.2 Μεταβολές στη γεύση	89
4.3.3 Μεταβολές στην υφή	90
4.3 Φυσικοχημική ανάλυση	93

4.3.1 Μεταβολή των παραμέτρων χρώματος $L^*$ , $a^*$ και $b^*$	93
4.3.2 Μεταβολές στο pH	97
4.3.3 Αριθμός θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)	99
4.3.4 Ολικό πτητικό άζωτο (TVB-N)	101
<b>5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	104
<b>6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	106
<b>7. ABSTRACT</b>	107
<b>8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	108

## 1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, έχουν δημιουργηθεί σημαντικές ανησυχίες σχετικά με την προστασία και την ασφάλεια των τροφίμων. Οι αυξανόμενες απαιτήσεις των καταναλωτών για έτοιμα προς κατανάλωση και ελάχιστα επεξεργασμένα τρόφιμα, που να περιέχουν λιγότερα συνθετικά πρόσθετα, θέτουν προκλήσεις στους επιστήμονες.

Οι πρόοδοι στην επεξεργασία και στη συσκευασία του κρέατος διαδραματίζουν πρωταρχικό ρόλο στη συντήρησή του. Η συσκευασία πρέπει να διατηρεί τα οφέλη της επεξεργασίας του κρέατος, μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας, έτσι ώστε τα κρέατα να μετακινούνται με ασφάλεια για μεγάλες αποστάσεις από το σημείο προέλευσής τους και να εξακολουθούν να είναι ασφαλή μέχρι τη στιγμή της κατανάλωσης. Η ποιότητα και η ασφάλεια του κρέατος εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα χρησιμοποιούμενα υλικά συσκευασίας και τις τεχνολογίες. Οι θεμελιώδεις λόγοι για τη συσκευασία των νωπών και μεταποιημένων προϊόντων με βάση το κρέας είναι η πρόληψη της μόλυνσης, η καθυστέρηση της αλλοίωσης, η μείωση της απώλειας βάρους, η αποφυγή της οξείδωσης και η διατήρηση του χρώματος και του αρώματος (Brody, 1997; Mondry, 1996). Με βάση τα παραπάνω, οι τρέχουσες πρακτικές συσκευασίας κρέατος κυμαίνονται από συσκευασίες που χρησιμοποιούν απλές συμβατικές μεμβράνες (π.χ μεμβράνες πολυβινυλοχλωριδίου για βραχυπρόθεσμη διατήρηση με απλή ψύξη (5-6 ημέρες)), συσκευασία σε κενό και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) για εκτενέστερη αποθήκευση με ψύξη (10-12 ημέρες) (Kerry, O'Grady, & Hogan, 2006, McMillin, 2008). Η συσκευασία σε κενό χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο για την παράταση του χρόνου ζωής και μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες, όπως βακτηριοσίνες, μπαχαρικά, αιθέρια έλαια, ένζυμα, πολυσακχαρίτες και άλλα πρόσθετα που θα παρέχουν φρέσκο προϊόν (Coma, 2008).

Ταυτόχρονα αυξάνεται το ενδιαφέρον για χρήση συσκευασίας από υλικά που προέρχονται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να συμβάλει στη μείωση της μικροβιακής ανάπτυξης και των οξειδωτικών αντιδράσεων σε προϊόντα με βάση το κρέας. Ωστόσο, η τεχνολογία συσκευασίας πρέπει να εξισορροπήσει την προστασία των τροφίμων και με άλλα ζητήματα, συμπεριλαμβανομένης της ενέργειας και του κόστους των υλικών συσκευασίας, της αυξημένης κοινωνικής και περιβαλλοντικής συνείδησης και τους αυστηρούς κανονισμούς σχετικά με τους ρύπους και τη διάθεση των αστικών απορριμμάτων.

## **A. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ**

### **1. Γενικά για το κρέας**

Ως κρέας ορίζεται το σύνολο των ζωικών ιστών που έχουν υποστεί σίτεμα, κατάλληλων για ανθρώπινη κατανάλωση. Ο κύριος ζωικός ιστός περιλαμβάνει τους σκελετικούς μύς, το λίπος, καθώς και άλλους βρώσιμους ιστούς. Γενικά με τον όρο κρέας εννοείται κυρίως το βοδινό, το χοιρινό και το κρέας των αιγοπροβάτων. Το κρέας των πουλερικών και των ψαριών εξετάζεται ξεχωριστά. Το κρέας αποτελεί μια πηγή θρεπτικών ουσιών, απαραίτητων για την ανθρώπινη ανάπτυξη και η σύστασή του φαίνεται στον παρακάτω Πίνακα 1.

**Πίνακας 1.** Μέση (%) σύσταση ωμού κρέατος (Βουδούρης και Κοντομηνάς, 1997)

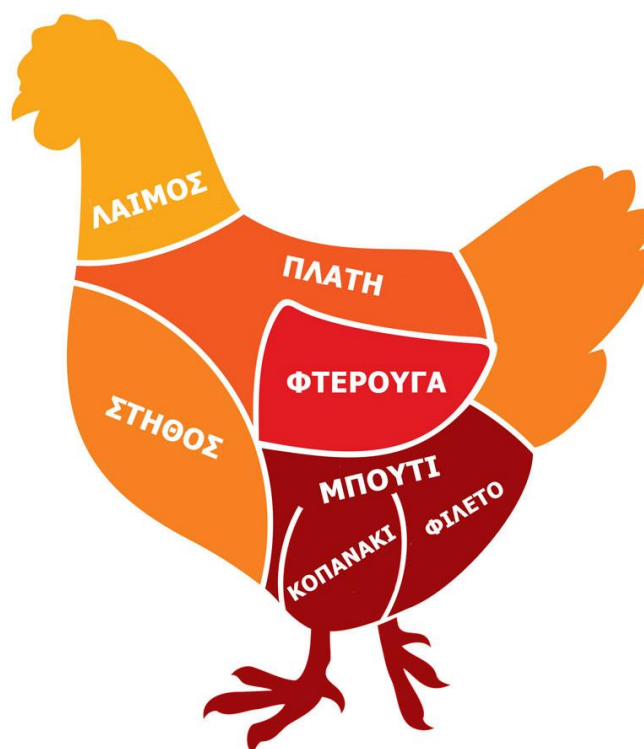
<b>ΕΙΔΟΣ</b>	<b>Υγρασία</b>	<b>Πρωτεΐνες</b>	<b>Λιπίδια</b>	<b>Θερμίδες</b>
<b>Βοδινό</b>	56	15	28	312
<b>Αρνίσιο</b>	55	13	31	331
<b>Χοιρινό</b>	47	12	40	408

#### **1.1 Κρέας των πουλερικών**

Η δημοτικότητα του κρέατος των πουλερικών αποδίδεται στο ότι είναι η φθηνότερη και η πιο προσιτή πηγή κρέατος, καθώς δεν υπάρχουν θρησκευτικοί ή πολιτιστικοί περιορισμοί για την κατανάλωσή της. Η ευκολία πρόσβασης, καθώς και η ευκολία χρήσης του κρέατος των πουλερικών σε επεξεργασμένα τρόφιμα, το καθιστούν ως προτιμώμενο στις σύγχρονες κοινωνίες (Nollet et al., 2007). Αν και το συγκεκριμένο κρέας είναι γνωστό για χαμηλές θερμίδες και χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, τα λιπίδια των μυών είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξείδωση, λόγω του υψηλού βαθμού ακορεστότητας. Η οξείδωση, όπως και το αυξημένο μικροβιακό φορτίο οδηγούν σε αλλοίωση της γεύσης, του χρώματος, της υφής και της θρεπτικής αξίας του κρέατος. Ταυτόχρονα με την οξείδωση, μείζονος σημασίας έχουν και ορισμένοι εσωτερικοί (περιεκτικότητα σε σίδηρο, αντιοξειδωτικά ένζυμα) και εξωτερικοί (τροφοδοσία με οξειδωμένες ζωοτροφές, στρες, διαδικασία σφαγής, θερμοκρασία, περαιτέρω βήματα επεξεργασίας, συνθήκες αποθήκευσης κ.α) παράγοντες (Estevez, 2015). Επιπλέον, το κρέας των πουλερικών είναι καλή πηγή πρωτεϊνών, αλλά μετά τη σφαγή, τόσο το πρωτεϊνικό όσο και το λιπαρό κλάσμα του κρέατος μπορεί να οξειδωθεί προς σχηματισμό διαφόρων προϊόντων οξείδωσης, που με τη σειρά τους προκαλούν την απώλεια των ποιοτικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών του κρέατος (Estevez, 2011; Xiao et al., 2011). Μία από τις βασικές στρατηγικές για την πρόληψη οξείδωσης και της μικροβιακής αλλοίωσης στο κρέας των πουλερικών είναι η χρήση αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών παραγόντων στις βιομηχανίες, ως προσθήκη στις ζωοτροφές, στο νωπό κρέας και σε άλλα προϊόντα με βάση αυτό (Descalzo & Sancho, 2008).

## 1.2 Ανατομία και μορφολογία

Τα τέσσερα κύρια τμήματα του σώματος ενός πτηνού, είναι το κεφάλι, ο κορμός και τα κάτω άκρα. Σε καθένα από αυτά, διακρίνονται επί μέρους περιοχές, τμήματα ή όργανα (Εικόνα 1.)



Εικόνα 1. Μέρη του κοτόπουλου

## 1.3 Σύσταση

Σε γενικές γραμμές, το κρέας του κοτόπουλου αποτελεί σημαντική πηγή αρκετών θρεπτικών ουσιών. Η τυπική σύσταση ενός ζωικού μύος είναι περίπου 75% νερό, 18% πρωτεΐνες, 3% λίπος και 3,5% μη πρωτεϊνούχες ουσίες όπως π.χ. κρεατίνη, γλυκογόνο, 6-φωσφορική γλυκόζη, γαλακτικό οξύ, αμινοξέα, φωσφορικά άλατα, κ.ά. Η περιεκτικότητά του σε βιταμίνες είναι μικρή και συναντώνται κυρίως οι βιταμίνες Β και C. Είναι ιδιαίτερα πλούσιο και σε μικροθρεπτικά συστατικά όπως σίδηρο, σελήνιο και ψευδάργυρο. Τα εντόσθια όπως το συκώτι είναι επίσης ζωτικής σημασίας πηγές βιταμίνης Α και φολικού οξέος (Biesalski, 2005).

### 1.3.1 Πρωτεϊνική σύσταση και πρωτεϊνική αξία

Η περιεκτικότητα του κοτόπουλου σε πρωτεΐνες μπορεί να ποικίλει σημαντικά. Η μυοσίνη και η ακτίνη συνιστούν τις κυριότερες πρωτεΐνες με τις οποίες δομούνται οι μύες μαζί με την τροπονίνη και την τροπομυοσίνη. Σύμφωνα με τους πίνακες



διατροφικών δεδομένων της Πορτογαλίας (INSRJ, 2006), η μέση περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες μπορεί να φτάσει το 34,5% (στήθος κοτόπουλου). Οι πρωτεΐνες αυτές είναι σε υψηλό βαθμό εύπεπτες από τον οργανισμό, όπως προσδιορίζεται και με τη μέθοδο PDCAAS (Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ποιότητας μιας πρωτεΐνης που βασίζεται τόσο στις απαιτήσεις του ανθρώπινου οργανισμού για αμινοξέα, όσο και στην ικανότητά του να τα αφομοιώνει (FAO/WHO, 1991).

Τα αμινοξέα είναι δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών. Υπάρχουν γνωστά εκατόν ενενήντα αμινοξέα αν και μόνο είκοσι είναι απαραίτητα για τη σύνθεση πρωτεϊνών (Wu, 2009). Μέσα σε αυτά τα είκοσι, οκτώ δεν μπορούν να παραχθούν από το ανθρώπινο σώμα που τα καθιστά απαραίτητα, επομένως πρέπει να τροφοδοτούνται μέσω δίαιτας. Εάν ένα συγκεκριμένο τρόφιμο παρέχει αρκετά από τα επτά από τα οκτώ βασικά αμινοξέα, το έλλειμμα αμινοξέος ορίζεται ως το "περιοριστικό αμινοξύ" (Williams, 2007). Στον Πίνακα 2. αναφέρονται τα απαραίτητα και μη, αμινοξέα.

**Πίνακας 2.** Απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα (Wu, 2009)

<b>Απαραίτητα αμινοξέα</b>	<b>Μη απαραίτητα αμινοξέα</b>
Ισολευκίνη	Αλανίνη
Λευκίνη	Ασπαραγίνη
Λυσίνη	Αργινίνη
Μεθειονίνη	Κυστεΐνη
Τρυπτοφάνη	Ασπαραγινικό οξύ
Θρεονίνη	Γλουταμινικό οξύ
Βαλίνη	Προλίνη
Φαινυλανανίνη	Ιστιδίνη
	Τυροσίνη
	Σερίνη
	Γλυκίνη

### **1.3.2 Λιπαρές ουσίες**

Η περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες διαφέρει σημαντικά στα διάφορα είδη κρέατος (βοοειδών, πουλερικών κ.α.), στα διαφορετικά σημεία τους (δέρμα, στήθος, νεφρά κτλ), καθώς και σε άλλα προϊόντα και παραπροϊόντα κρεάτων (λουκάνικα, αλλαντικά). Στον Πίνακα 3., φαίνεται η διατροφική σύσταση του κοτόπουλου.

**Πίνακας 3.** Διατροφική σύσταση σε μαγειρεμένο και ωμό κοτόπουλο (g/100g). (USDA, Food composition)

<b>ΤΙΜΕΣ ΓΙΑ ΜΑΓΕΙΡΕΜΕΝΟ ΚΟΤΟΠΟΥΛΟ</b>										
<b>Σύσταση</b>	<b>Στήθος χωρίς δέρμα και κόκκαλα</b>	<b>Στήθος με δέρμα και κόκκαλα</b>	<b>Κοπανάκι χωρίς δέρμα</b>	<b>Κοπανάκι με δέρμα</b>	<b>Μπούτι χωρίς δέρμα</b>	<b>Μπούτι με δέρμα</b>	<b>Φτερά με δέρμα</b>	<b>Φτερά χωρίς δέρμα</b>	<b>Ολόκληρο κοτόπουλο χωρίς δέρμα</b>	<b>Ολόκληρο κοτόπουλο με δέρμα</b>
<b>Θερμίδες</b>	165	197	175	216	209	229	290	203	167	239
<b>Πρωτεΐνες (g)</b>	31	30	28	27	26	25	27	30	25	24
<b>Ολικό λίπος (g)</b>	3.6	7.8	5.7	11.2	10.9	15.5	19.5	8.1	6.6	13.4
<b>Κορεσμένο λίπος (g)</b>	1	2.2	1.5	3	3	4.3	5.4	2.3	1.8	3.7
<b>Μονοακόρεστο λίπος (g)</b>	1.2	3	1.9	4.2	4.1	6.1	7.6	2.6	2.5	5.4
<b>Πολυακόρεστο λίπος (g)</b>	0.7	1.7	1.4	2.5	2.5	3.4	4.1	1.8	1.5	2.9
<b>Χοληστερόλη (mg)</b>	85	84	93	91	95	93	84	85	75	76
<b>Νάτριο (mg)</b>	74	71	95	90	88	84	82	92	75	73
<b>Σίδηρος (mg)</b>	1	1	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.2	1.3	1.3

Συνέχεια Πίνακα 3

ΤΙΜΕΣ ΓΙΑ ΩΜΟ ΚΟΤΟΠΟΥΛΟ										
Σύσταση	Στήθος χωρίς δέρμα και κόκκαλα	Στήθος με δέρμα και κόκκαλα	Κοπανάκι χωρίς δέρμα	Κοπανάκι με δέρμα	Μπούτι χωρίς δέρμα	Μπούτι με δέρμα	Φτερά με δέρμα	Φτερά χωρίς δέρμα	Ολόκληρο κοτόπουλο χωρίς δέρμα	Ολόκληρο κοτόπουλο με δέρμα
Θερμίδες	114	172	119	161	119	211	222	126	119	215
Πρωτεΐνες (g)	21.2	20.8	20.6	19.3	19.7	17.3	18.3	22	21.4	18.7
Ολικό λίπος (g)	2.6	9.3	3.4	8.7	3.9	15.3	16	3.5	3.1	15.1
Κορεσμένο λίπος (g)	0.6	2.7	0.9	2.4	1	4.3	4.5	0.9	0.8	4.3
Μονοακόρεστο λίπος (g)	0.8	3.8	1.1	3.4	1.2	6.3	6.4	0.8	0.9	6.2
Πολυακόρεστο λίπος (g)	0.4	2	0.8	1.9	1	3.3	3.4	0.8	0.8	3.2
Χοληστερόλη (mg)	64	64	77	81	83	84	77	57	70	75
Νάτριο (mg)	116	63	88	83	86	76	73	81	77	75
Σίδηρος (mg)	0.4	0.7	1	1	1	1	0.9	0.9	0.9	0.9

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

Επιπλέον, το μαγείρεμα μπορεί να επηρεάσει την περιεκτικότητα του κρέατος σε λίπος και λιπαρά οξέα. Οι Gerber et al. (2009) έδειξαν σημαντικές απώλειες λίπους σε αρκετά κομμάτια του κρέατος που υποβάλλονται σε ψήσιμο, ή τηγάνισμα.

### **1.3.3 Υδατάνθρακες**

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

### **1.3.4 Βιταμίνες και άλλα ιχνοστοιχεία**

Στα πουλερικά, το στήθος κοτόπουλου είναι μια ιδιαίτερα καλή πηγή νιασίνης ή αλλιώς βιταμίνης B3 (100g προμηθεύουν το 56% της απαιτούμενης καθημερινής πρόσληψης) και βιταμίνης B6 (100g προμηθεύουν το 27% της απαιτούμενης καθημερινής πρόσληψης) (USDA, 2011) που είναι απαραίτητες για το νευρικό σύστημα. Η βιταμίνη B12 υπάρχει σε μικρότερες ποσότητες, όπως και η θειαμίνη (B1) και είναι οι περισσότερο επηρεασμένες βιταμίνες του συμπλέγματος B σε σύγκριση με τη ριβοβλαβίνη (B2) και τη νιασίνη που παρουσιάζουν μικρότερες απώλειες (D'Enoli et al., 2009; Riccio et al., 2006). Αυτές οι απώλειες οφείλονται στο ότι οι βιταμίνες του συμπλέγματος B είναι υδατοδιαλυτές (το μαγείρεμα προκαλεί απώλεια) και θερμικά ασταθείς (Lombardi-Boccia et al., 2005).

Σημαντικό στοιχείο είναι ο Φωσφόρος (P), ο οποίος βοηθάει στην προστασία των οστών και των δοντιών και διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στο μεταβολισμό. Άλλα στοιχεία σε μικρότερα ποσοστά είναι ο σίδηρος (Fe), ο ψευδάργυρος (Zn), το κάλιο (K) και το νάτριο (Na).

## **B. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ**

### **1. Διαδικασία σφαγής-επεξεργασίας**

Τα πτηνά μεταφέρονται από τις πτηνοτροφικές μονάδες στο πτηνοσφαγείο σε κλουβιά μαζί με όλα τα συνοδευτικά έγγραφα που πιστοποιούν την καταλληλότητα τους για σφαγή, όπου ελέγχονται από τον υπεύθυνο παραλαβής και τον κτηνίατρο της αρμόδιας αρχής.

Στο επόμενο στάδιο οδηγούνται στο πλήρως αυτοματοποιημένο συγκρότημα σφαγής. Όλες οι διαδικασίες (αναισθητοποίηση, σφαγή, αφαιμάξη, απομάκρυνση πούπουλων, εκσπλαχνισμός, διαχωρισμός εντοσθίων και πλύση) πραγματοποιούνται από ειδικά μηχανήματα. Κατά μήκος της γραμμής παραγωγής (Εικόνα 2.) βρίσκεται καταρτισμένο προσωπικό που ελέγχει στο σύνολο την ορθή διεξαγωγή της διαδικασίας.



**Εικόνα 2.** Γραμμή παραγωγής πουλερικών

Στη συνέχεια επέρχεται ταξινόμηση των σφαγίων ανάλογα του βάρους τους και η πρώτη διαλογή βάσει των μακροσκοπικών χαρακτηριστικών τους (μέσω ειδικού λογισμικού φωτογραφίζονται όλα τα κοτόπουλα και αφαιρούνται όσα εντοπίζει το πρόγραμμα ότι δεν είναι κατάλληλα προς πώληση). Χρησιμοποιώντας ένα υπερσύγχρονο λογισμικό πρόγραμμα, ο κεντρικός υπολογιστής της μονάδας αποφασίζει για τη χρήση κάθε κοτόπουλου. Έτσι δίνεται η δυνατότητα παραγωγής προϊόντων σταθερής ποιότητας συνδεδεμένης με τη ταυτότητα προέλευσης του κάθε κοτόπουλου (ιχνηλασιμότητα).

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη ψύξη των σφαγίων σε θερμοκρασία μικρότερη των 4°C ώστε να διασφαλίζεται η υγιεινή και η διάρκεια ζωής των προϊόντων μας. Η τεχνολογία ψύξης που χρησιμοποιείται στο μεγαλύτερο ποσοστό είναι αυτή της αερόψυξης και σε μικρότερο η υδρόψυξη έπειτα από απαίτηση κάποιων πελατών.

Μετά την ψύξη το προϊόν οδηγείται στους χώρους μεταποίησης και τυποποίησης της μονάδος.

### **1.1 Τυποποίηση**

Τα σφάγια έχουν εσωτερική θερμοκρασία μικρότερη των 4°C και ελάχιστο ποσοστό εξωτερικής υγρασίας επιτυγχάνοντας την αποφυγή του κινδύνου μικροβιολογικής αλλοίωσης.

Τα κοτόπουλα τυποποιούνται είτε ολόκληρα, είτε τεμαχισμένα. Τα μη μειονεκτικά πτηνά συσκευάζονται συνήθως σε ατομικές ή ομαδικές συσκευασίες. Τα μειονεκτικά πτηνά συνεχίζουν προς τεμαχισμό και στη συνέχεια τυποποιούνται. Η παραπάνω διαλογή γίνεται χρησιμοποιώντας αυτόματο σύστημα διαλογής.

Σε όλους τους παραπάνω χώρους επεξεργασίας τηρούνται όλες οι απαιτήσεις της ελληνικής αλλά και ευρωπαϊκής νομοθεσίας και ορθής υγιεινής πρακτικής σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων.

Η θερμοκρασία χώρου δεν ξεπερνάει τους 10°C και το προϊόν καθ' όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας-τυποποίησης παραμένει κάτω από τους 4 °C ώστε να μην σπάσει πουθενά η ψυκτική αλυσίδα. Το προσωπικό των τμημάτων βάσει προγράμματος εκπαίδευσης καταρτίζεται σε θέματα υγιεινής και ασφάλειας τροφίμων.

Τέλος, τα κοτόπουλα συσκευάζονται και πάνω στην ετικέτα αναφέρονται όλες οι απαραίτητες και χρήσιμες πληροφορίες για τον καταναλωτή (ημερομηνία παραγωγής, ημερομηνία λήξης, πιστοποιήσεις) αλλά και χρηστικές ενδείξεις για να γνωρίζει τιμή κιλού και βάρος. Μετά τη συσκευασία, τα προϊόντα υφίστανται τον τελικό έλεγχο και οδηγούνται στο ψυγείο, προκειμένου να φορτωθούν στα αυτοκίνητα διανομής.

## **Γ. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ**

### **1. Ασφάλεια και υγιεινή των ζωικών τροφίμων**

Η ασφάλεια των ζωικών τροφίμων έχει σχέση με τον έλεγχο όλων εκείνων των παραμέτρων (ζωοτροφές, νερό, υγιεινή σφάγιου, επεξεργασία, αποθήκευση και διακίνηση προϊόντος) που συντελούν στην αποφυγή ασθενειών του καταναλωτικού κοινού προερχομένων από τα τρόφιμα.

Η υγιεινή των ζωικών τροφίμων αφορά τις προϋποθέσεις και τα μέτρα που είναι απαραίτητα για τη διασφάλιση της ασφάλειας από την παραγωγή έως την κατανάλωση. Τα τρόφιμα μπορούν να μολυνθούν σε οποιοδήποτε σημείο κατά τη σφαγή ή τη συγκομιδή, την επεξεργασία, την αποθήκευση και τη διανομή. Οι πέντε βασικές αρχές της υγιεινής των τροφίμων, σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας, είναι:

1. Αποφυγή μόλυνσης των τροφίμων με παθογόνα που προέρχονται από ανθρώπους, κατοικίδια ζώα και παράσιτα.
2. Διαχωρισμός των νωπών και μαγειρεμένων τροφίμων για την πρόληψη της μόλυνσης των μαγειρεμένων τροφίμων.
3. Μαγείρεμα των τροφίμων για κατάλληλο χρονικό διάστημα και στην κατάλληλη θερμοκρασία για τη θανάτωση των παθογόνων παραγόντων.
4. Αποθήκευση τροφίμων στη σωστή θερμοκρασία.
5. Χρήση ασφαλούς νερού και ασφαλών πρώτων υλών.

### **2. Πηγές μόλυνσης κρέατος των πουλερικών**

Φυσική μόλυνση: Η σωματική μόλυνση προκαλείται από τα ξένα αντικείμενα που ενσωματώνονται στο κρέας κατά την επεξεργασία και τη συντήρησή του, όπως γυάλινα θραύσματα από ένα ποτήρι, σκόνη από κακό καθαρισμό, ρινίσματα μετάλλων από τις κρεατομηχανές, μαχαίρια, μεταφορικές ταινίες.

Χημική μόλυνση: Η χημική δηλητηρίαση του κρέατος οφείλεται στην παρουσία τοξικών χημικών ουσιών. Παραδείγματα χημικών ουσιών που μπορεί να το μολύνουν είναι οι τοξίνες μικροβιακής προέλευσης, φυτοφάρμακα, εντομοκτόνα, βαρέα μέταλλα, καθαριστικά μέσα ή χημικές ουσίες που προκύπτουν από χημική αντίδραση μεταξύ του κρέατος και ακατάλληλων δοχείων αποθήκευσης ή τέλος από χημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στο ίδιο το κρέας, όπως π.χ. ο σχηματισμός ακρυλαμιδίου (Hospitality Institute of Australasia).

Μικροβιολογική μόλυνση: Οι κακές πρακτικές χειρισμού μπορούν να έχουν ως αποτέλεσμα τη μόλυνση του κρέατος από τα βακτήρια και μύκητες. Οι άνθρωποι, τα ζώα ή τα παράσιτα μπορούν να προκαλέσουν μικροβιολογική μόλυνση. Παραδείγματα για το πώς μπορεί να συμβεί αυτό περιλαμβάνουν: Φτωχή

προσωπική υγιεινή, όπως χειριστές τροφίμων που βήχουν ή φτερνίζονται πάνω από τα τρόφιμα, δεν πλένουν τα χέρια μετά το φαγητό ή τη χρήση τουαλέτας, προσβολές από επιβλαβείς οργανισμούς, κακές πρακτικές αποθήκευσης στις εγκαταστάσεις (Hospitality Institute of Australasia).

Το κρέας από τη σφαγή του μέχρι την κατανάλωσή του υπόκειται σε διάφορες εξωτερικές επιμολύνσεις. Βασική πηγή μόλυνσης όμως είναι το ίδιο το σφάγιο. Όλα τα ζώα φέρουν πολύ μεγάλο αριθμό βακτηρίων στο στομάχι και τα έντερα, τα οποία εκκρίνονται στα κόπρανα τους. Βακτήρια υπάρχουν επίσης στο δέρμα και τα φτερά των ζώων, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που προέρχονται από την άμεση επαφή με τα κόπρανα ή από την έμμεση επαφή με το περιβάλλον της φάρμας και τα μεταφορικά οχήματα. Τα βακτήρια μέσα ή πάνω στα ζώα μπορεί να περιλαμβάνουν αυτά που μπορούν να προκαλέσουν τροφομόλυνση στους ανθρώπους και τα οποία είναι αναγνωρισμένοι κίνδυνοι από το κρέας. Τα περισσότερα από αυτά τα βακτήρια όμως δεν προκαλούν ασθένεια στα ίδια τα ζώα. Αν και η επιθεώρηση πριν από τη σφαγή θα επιτρέψει την ανίχνευση κλινικά ασθενών ζώων, δεν είναι δυνατόν να εντοπιστούν υγιείς φορείς παθογόνων οργανισμών. Επομένως, πρέπει να υποτεθεί ότι όλα τα ζώα που εισέρχονται στο σφαγείο έχουν τη δυνατότητα να μεταφέρουν παθογόνους οργανισμούς (π.χ. *Salmonella*).

Τα βακτήρια από την επιφάνεια ή το πεπτικό σύστημα ενός ζώου μπορούν να μεταφερθούν στο σφάγιο ή σε άλλα σφάγια κατά τη διάρκεια της σφαγής. Η μεταφορά αυτή μπορεί να προκληθεί από άμεση επαφή ή από διασταυρούμενη μόλυνση από το προσωπικό, τον εξοπλισμό, τις επιφάνειες, το νερό ή τα αερολύματα του σφαγείου. Η σωστή εφαρμογή των αρχών που βασίζονται στο σύστημα HACCP έχει ως στόχο να διασφαλίσει ότι η μεταφορά αυτή ελαχιστοποιείται.

Το δέρμα αποτελεί μια από τις σημαντικότερες πηγές μόλυνσης του κρέατος, αφού έρευνες έχουν δείξει ότι τα μικρόβια που απομονώνονται από την επιφάνεια του κρέατος είναι ίδια με εκείνα που συναντώνται στο δέρμα. Ειδικότερα, το κρέας των πουλερικών μολύνεται ευκολότερα από ότι το κρέας των άλλων κρεατοπαραγωγών ζώων, κυρίως επειδή το δέρμα δεν αφαιρείται κατά την σφαγή, αλλά μένει πάνω στο κρέας. Το δέρμα λειτουργεί σαν φράγμα απέναντι στους μικροοργανισμούς κατά την επεξεργασία με αποτέλεσμα ο ιστός κάτω από το δέρμα να είναι απαλλαγμένος από μικροοργανισμούς. Σταδιακά, όμως, οι μικροοργανισμοί θα αρχίσουν να εισέρχονται στον ιστό προκαλώντας τη μόλυνσή του (food.gov.uk).

Η περαιτέρω επεξεργασία του κρέατος σε κιμά, σε παρασκευάσματα κρέατος και σε προϊόντα με βάση το κρέας προσφέρει την ευκαιρία για την εξάπλωση οποιουδήποτε επικίνδυνου βακτηρίου στην επιφάνεια του κρέατος του σφαγίου σε όλο το προϊόν και επίσης για την πρόσληψη νέων βακτηρίων από το περιβάλλον, το χειρισμό και την επεξεργασία. Συγκεκριμένα, τα βακτήρια που έχουν μολύνει όλο το



μυϊκό ιστό, θα καταστραφούν κατά τη θερμική επεξεργασία πιο εύκολα στην επιφάνεια του κρέατος και λιγότερο εύκολα στο εσωτερικό της μάζας του μυϊκού ιστού. Εάν η διαδικασία παραγωγής δεν περιλαμβάνει ένα στάδιο μείωσης των παθογόνων όπως είναι το μαγείρεμα, τότε στο σκεύασμα του κρέατος θα υπάρχει οποιοδήποτε βακτήριο που είναι και στο κρέας του σφαγίου (food.gov.uk).

## 2.1 Παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών

Υπάρχουν 3 κατηγορίες ουσιών που χρησιμοποιούνται από τους μικροοργανισμούς: 1) ενώσεις που συμβάλλουν στη γλυκολυτική οδό (π.χ. γλυκογόνο, γλυκόζη, 6-φωσφορική γλυκόζη, γαλακτικά κλπ.), 2) μεταβολικά προϊόντα (π.χ. γλυκονικό οξύ, 6-φωσφορικό γλυκονικό, πυροσταφυλικό οξύ, γαλακτικό οξύ), 3) πηγές αζώτου (π.χ., αμινοξέα, πρωτεΐνες) (Gill, 1986, Nychas et al., 1988; Nychas et al., 1998). Είναι γνωστό ότι η γλυκόζη, το γαλακτικό οξύ και ορισμένα αμινοξέα που ακολουθούνται από νουκλεοτίδια, ουρία και υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες καταβολίζονται από σχεδόν όλα τα βακτήρια της μικροχλωρίδας κρέατος (Gill, 1986; McMeekin, 1982; Nychas et al., 2007). Οι προηγούμενες ενώσεις είναι οι βασικές πηγές ενέργειας για τη μαζική ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο κρέας, παρά την αμελητέα ποσότητα τους σε σύγκριση με τις πρωτεΐνες. Αποδεικνύεται ότι η πραγματική συγκέντρωση αυτών των ενώσεων μπορεί να επηρεάσει τον τύπο (π.χ. σακχαρολυτική, πρωτεολυτική), το ποσοστό αλλοίωσης και επιπλέον, φαίνεται να είναι ο κύριος πρόδρομος των μικροβιακών μεταβολιτών που αντιλαμβανόμαστε ως αλλοίωση (Koutsoumanis & Nychas, 1999; Nychas et al., 1998; Skandamis & Nychas, 2002; Tsigarida & Nychas, 2001).

Η θερμοκρασία είναι ο σημαντικότερος παράγοντας της μικροβιακής αλλοίωσης του κρέατος. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες, γ'αυτό έχουν πραγματοποιηθεί και αρκετές μελέτες, ώστε να εκτιμηθεί η σημασία του χειρισμού χαμηλών θερμοκρασιών στα κρέατα και τα πουλερικά (Koutsoumanis & Taoukis, 2005; McMeekin et al., 2006). Ανάλογα με τη θερμοκρασία στην οποία μπορούν να αναπτυχθούν διακρίνονται σε: Θερμόφιλα (35 έως 60°C), μεσόφιλα (5 έως 40°C), ψυχρότροφα (0 έως 30°C), ψυχρόφιλα (-5 έως 20°C) (Tzia et al., 2009). Άκρως ψυχρόφιλα είναι μερικές ζύμες και μύκητες, που σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμα και σε θερμοκρασίες -10°C (ζύμες) ή και -18°C (μύκητες), μπορούν να αναπτυχθούν, προκαλώντας μελανές κηλίδες στο κατεψυγμένο κρέας και στα κατεψυγμένα πουλερικά.

Το νερό είναι ένας ακόμα παράγοντας που συνεισφέρει στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών, συνεπώς όσο περισσότερη υγρασία έχει ένα τρόφιμο, τόσο πιο εύκολη είναι και η αλλοίωσή του. Γενικά το νερό χαρακτηρίζεται ως «ελεύθερο νερό» και ως «δεσμευμένο νερό». Ελεύθερο ή απόλυτης ενεργότητας είναι το νερό στην φυσική του κατάσταση. Το νερό στα τρόφιμα και τους ζώντες οργανισμούς

βρίσκεται σε μικρότερο η μεγαλύτερο βαθμό δεσμευμένο. Το δεσμευμένο νερό μπορεί να είναι συγκρατημένο ισχυρά ή χαλαρά, και ο τρόπος συγκράτησης του νερού σε ένα τρόφιμο, έχει μεγάλη σημασία για την σταθερότητα του τροφίμου. Η ενεργότητα του νερού ορίζεται ως το κλάσμα της μερικής πίεσης του νερού στο δείγμα προς την τάση ατμών του καθαρού νερού στην ίδια θερμοκρασία. Σαν κανόνας μπορεί να τεθεί ότι η δράση των μικροοργανισμών γενικά σταματά όταν  $a_w < 0,65$ . Η περιοχή αυτή θεωρείται σαν το κριτήριο μικροβιακής σταθερότητας ενός τροφίμου (Ρηγανάκος, 2016).

- Αν  $a_w > 0,65$ , υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης ζυμών.
- Αν  $a_w > 0,75$ , υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης μυκήτων.
- Αν  $a_w > 0,84$ , υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης κάποιων βακτηρίων.
- Αν  $a_w > 0,94$ , υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης παθογόνων βακτηρίων.

Επιπλέον, το υψηλό pH ευνοεί και αυτό την ανάπτυξη μικροβίων, οδηγεί σε πρόωρη αλλοίωση του κρέατος και μειώνει τη διάρκεια ζωής. Μετά το θάνατο του ζώου, οι μύες παραμένουν μεταβολικά ενεργοί έως ότου εξαντληθούν τα αποθέματα σε αναερόβιες συνθήκες, αφού η αναπνοή έχει σταματήσει. Εάν το ζώο υποβληθεί σε παρατεταμένο στρες πριν από τη σφαγή (π.χ. μακρά μεταφορά), τα αποθέματα θα εξαντληθούν πριν από τη σφαγή, θα υπάρξει περιορισμένη παραγωγή γαλακτικού οξέος και το τελικό pH ( $pH_u$ ) μετά από 24 ώρες ψύξης θα είναι υψηλό με αποτέλεσμα το κρέας να είναι σκληρό, στεγνό και σκουρόχρωμο (Faucitano et al., 2010). Έχει αποδειχθεί ότι οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται καλύτερα σε τιμές pH γύρω στο 7.0 (6.6-7.5), ενώ είναι λίγοι εκείνοι που αναπτύσσονται κάτω από 4. Τα περισσότερα κρέατα έχουν τιμές pH από 5,6 και πάνω, κάτι το οποίο τα καθιστά ευαίσθητα σε αλλοιώσεις που προκαλούνται από βακτήρια, ζύμες και μύκητες.

Το δυναμικό οξειδοαναγωγής  $E_h$  ενός υποστρώματος είναι μέτρο της τάσης για λήψη ή απώλεια  $O_2$  που εμφανίζει ένα τρόφιμο. Εξαρτάται από την παρουσία του  $O_2$  και μπορεί να οριστεί γενικά ως η ευκολία με την οποία ένα υπόστρωμα χάνει ή αποκτά ηλεκτρόνια. Οι αερόβιοι μικροοργανισμοί απαιτούν θετικό  $E_h$  (οξειδωμένο υπόστρωμα) για την ανάπτυξή τους, ενώ οι αναερόβιοι αρνητικό  $E_h$  (ανηγμένο υπόστρωμα).

## 2.2 Μικροβιολογική χλωρίδα του κρέατος των πουλερικών

Οι μικροοργανισμοί που μπορούν να αποικίσουν το νωπό κρέας εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά του κρέατος και τον τρόπο με τον οποίο μεταποιείται και αποθηκεύεται (Huis in't Veld, 1996). Τα βακτήρια που αναπτύσσονται στο κρέας σε ψυχρές θερμοκρασίες θεωρούνται ψυχρότροφα και περιλαμβάνουν τα *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Brochothrix*, *Flavobacterium*, *Psychrobacter*, *Moraxella*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, LAB και

διαφορετικά γένη της οικογένειας *Enterobacteriaceae* (Dainty & Mackey, 1992; Labadie, 1999; Doulgeraki et al., 2012). Στην αερόβια αποθήκευση σε χαμηλές θερμοκρασίες απομονώνονται συχνά αρκετά είδη *Pseudomonas* από το αλλοιωμένο κρέας (Stanbridge & Davies, 1998; Labadie, 1999; Liao, 2006; Ercolini et al., 2007; Ercolini et al., 2010a), ενώ το είδος *Pseudomonas fragi* είναι το πιο συχνά απαντώμενο. Το *P. fragi* μπορεί επίσης να εμφανιστεί σε κρέας αποθηκευμένο σε συσκευασία κενού (VP) και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) σε μικρότερο όμως βαθμό (Ercolini et al., 2007). Το βακτήριο *Serratia (S.) liquefaciens* είναι το πιο κοινό μέλος των *Enterobacteriaceae* στο κρέας που φυλάσσεται σε διαφορετικές ατμόσφαιρες (Doulgeraki et al., 2011). Από τα γαλακτικά βακτήρια, τα είδη που κυριαρχούν είναι *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc* spp. και *Lactobacillus sakei*, τα οποία αναπτύσσονται σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, αλλά και σε κενό (Castellano et al., 2004, Pennacchia et al., 2011). Το *Br. thermosphacta* είναι ένα άλλο σημαντικό βακτήριο αλλοίωσης που βρίσκεται στο κρέας που φυλάσσεται αερόβια, σε MAP (τροποποιημένη ατμόσφαιρα) και σε VP (κενό), και συμβάλλει στην ανάπτυξη της δυσσομίας (Samelis, 2006). Τέλος, μερικά κλωστρίδια έχουν συσχετιστεί με την αλλοίωση του κρέατος σε συνθήκες αποθήκευσης κενού.

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

### **2.2.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί**

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

Γαλακτικά βακτήρια: Είναι Gram-θετικά βακτήρια, μη σπορογόνα σε σχήμα ράβδων ή κόκκων και στην πλειονότητά τους προαιρετικά αναερόβια (Adams & Moss, 2007). Τα προϊόντα ζύμωσης των γαλακτικών βακτηρίων χαρακτηρίζονται από τη συσσώρευση οργανικών οξέων, κυρίως γαλακτικού και οξικού οξέος, και την ακολουθούμενη μείωση του pH. Τα επίπεδα και οι αναλογίες των τελικών προϊόντων ζύμωσης τα οποία συσσωρεύονται, εξαρτώνται από τα είδη των οργανισμών που συμμετέχουν, τη χημική σύσταση του περιβάλλοντος καλλιέργειας και τις φυσικές συνθήκες που επικρατούν κατά τη διαδικασία της ζύμωσης. Τέλος, έχει βρεθεί ότι το γαλακτικό και το οξικό οξύ λειτουργούν συνεργιστικά ως

ανασταλτικοί παράγοντες στην ανάπτυξη της σαλμονέλλας (Lindgren & Dobrogosz, 1991).

*Brochothrix thermosphacta*: Οι αποικίες του μικροοργανισμού είναι σφαιρικές χωρίς διακλαδώσεις. Τα κύτταρα είναι αερόβια ή προαιρετικά αναερόβια, ικανά να αναπτύσσονται σε όλο το εύρος της θερμοκρασίας από 0 έως 30°C, δε σχηματίζουν σπόρια και είναι ανίκανα για κίνηση. Το συγκεκριμένο είδος είναι υπεύθυνο για ελαφρά δυσοσμία και για υπόγλυκη γεύση. Αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι είναι ψυχρότροφο και αναπτύσσεται με σχετική άνεση στους 0-5°C και μάλιστα σε pH 5,4 υπό αερόβιες συνθήκες.

### **2.2.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί**

*Salmonella*: Η σαλμονέλα είναι ένα γένος της οικογένειας *Enterobacteriaceae*. Τα συγκεκριμένα βακτήρια είναι gram- αρνητικά, συνήθως προαιρετικά αναερόβια και μη σπορογόνα. Αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες μεταξύ 8 και 45°C σε ένα εύρος pH 4-9 και απαιτούν ενεργότητες νερού ( $a_w$ ) πάνω από 0,94. Η σαλμονέλα είναι θερμοευαίσθητη και γενικά καταστρέφεται σε θερμοκρασίες των 70°C και άνω, είναι ανθεκτική στη ξήρανση και επιβιώνει για χρόνια στη σκόνη και τις ακαθαρσίες.

*Staphylococcus aureus*: Είναι gram-θετικό, προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο με τη μορφή κόκκου, σφαιρικού ή ωοειδούς σχήματος και διαμέτρου 1μm. Είναι μεσόφιλο βακτήριο με εύρος θερμοκρασίας ανάπτυξης μεταξύ 7 και 48°C με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C. Επίσης, η ανάπτυξη του μικροοργανισμού ευνοείται σε τιμές pH 6-7 και από ορισμένα στελέχη του παράγεται μια εντεροτοξίνη συνήθως όταν το τρόφιμο δεν έχει θερμανθεί αρκετά (>60°C) ή δεν έχει διατηρηθεί υπό σωστή ψύξη (< 7,2°C).

*Clostridium perfringens*: Είναι ένα gram- θετικό, ραβδόμορφο, σπορογόνο βακτήριο. Αν και αναερόβιο, το *Clostridium perfringens* μπορεί να επιβιώσει και να αναπτυχθεί σταδιακά παρουσία οξυγόνου. Η ανάπτυξή του συμβαίνει σε εύρος θερμοκρασίας από 12 έως 50°C αν και είναι ιδιαίτερα αργή κάτω από τους 20°C, ενώ η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης κυμαίνεται από 43 έως 47°C. Επίσης, το βέλτιστο pH ανάπτυξής του κυμαίνεται από 6,0 έως 7,5, ενώ αναπτύσσεται σε τιμές  $a_w$  άνω της 0,95. Μη διατήρηση των μαγειρεμένων τροφίμων πάνω από τους 60°C ή αργή μεταβολή της θερμοκρασίας των τροφίμων στη θερμοκρασία ψυγείου μπορεί να επιτρέψει στους μικροοργανισμούς να πολλαπλασιαστούν σε υψηλά επίπεδα που οδηγούν σε δηλητηρίαση (Tzia, 2010).

*Bacillus cereus*: Είναι gram- θετικό, ραβδόμορφο, σπορογόνο και προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο. Το θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξής του κυμαίνεται από 8 έως 55°C με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης γύρω στους 48-50°C, ενώ το εύρος τιμών pH στο οποίο αναπτύσσεται είναι 4,9-9,3. Τέλος, απαιτεί τιμές ενεργότητας

νερού άνω της 0,95 προκειμένου να αναπτυχθεί (Adams & Moss, 2007). Τα στελέχη του παράγουν θερμοάντοχη τοξίνη.

Shigella: Ανήκει στην οικογένεια των εντεροβακτηρίων και είναι Gram-αρνητικό, ραβδόμορφο, μη σπορογόνο και προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο. Αποτελεί μεσόφιλο μικροοργανισμό με θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξης μεταξύ 10-45°C και βέλτιστο εύρος τιμών pH 6-8, ενώ δεν επιβιώνει σε τιμές pH κάτω από 4,5. Είδη του βακτηρίου αυτού προκαλούν βακτηριακή δυσεντερία.

Listeria monocytogenes: Είναι gram-θετικό, ραβδόμορφο βακτήριο που δε σχηματίζει σπόρια. Ο μικροοργανισμός είναι ψυχρόφιλος και μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες ψυγείου, αλλά και να επιβιώσει μετά από διεργασίες παστερίωσης. Η μεγάλη διάδοσή του και η ικανότητά του να πολλαπλασιάζεται σε θερμοκρασίες ψυγείου προκαλώντας σοβαρές ασθένειες, καθιστούν τον μικροοργανισμό αυτό ως έναν ιδιαίτερα σημαντικό κίνδυνο.

Ο έλεγχος της μικροβιολογικής ποιότητας του κρέατος γίνεται με μέτρηση του μικροβιακού φορτίου που φέρει το προϊόν (Ολικής μεσόφιλης χλωρίδας ή Total viable count-TVC). Το αποτέλεσμα της αερόβιας μικροχλωρίδας εκφράζεται σε μονάδα σχηματισμού αποικιών cfu/g (colony forming units/gram).

- $<10^6$ => αποδεκτό επίπεδο
- $10^6$ - $10^7$ => οριακό επίπεδο
- $>10^7$ => μη αποδεκτό επίπεδο

Τα συνηθέστερα βακτήρια που απαντούν στο κρέας και τα πουλερικά φαίνονται στον Πίνακα 4.

**Πίνακας 4.** Γενικά βακτήρια που απαντώνται στα κρέατα και τα πουλερικά (Jay et al., 2005)

Είδος	Αντίδραση Gram	Φρέσκα Κρέατα	Φρέσκο συκώτι	Πουλερικά
<i>Acinetobacter</i>	-	XX	X	XX
<i>Aeromonas</i>	-	XX		X
<i>Alcaligenes</i>	-	X	X	X
<i>Arcobacter</i>	-	X		
<i>Bacillus</i>	+	X		X
<i>Brochothrix</i>	+	X	X	X
<i>Campylobacter</i>	-			XX
<i>Carnobacterium</i>	+	X		
<i>Caseobacter</i>	+	X		
<i>Citrobacter</i>	-	X		X
<i>Clostridium</i>	+	X		X
<i>Corynebacterium</i>	+	X	X	XX
<i>Enterobacter</i>	-	X		X
<i>Enterococcus</i>	+	XX	X	X
<i>Erysipelothrix</i>	+	X		X
<i>Escherichia</i>	-	X	X	
<i>Flavobacterium</i>	-	X	X	X
<i>Hafnia</i>	-	X		
<i>Kocuria</i>	+	X	X	X
<i>Kurthia</i>	+	X		
<i>Lactobacillus</i>	+	X		
<i>Lactococcus</i>	+	X		
<i>Leuconostoc</i>	+	X	X	
<i>Listeria</i>	+	X		XX
<i>Microbacterium</i>	+	X		X
<i>Micrococcus</i>	+	XX	XX	XX
<i>Moraxella</i>	-	XX	X	XX
<i>Paenibacillus</i>	+	X		X
<i>Pantoea</i>	-	X		X
<i>Pediococcus</i>	+	X		
<i>Proteus</i>	-	X		X
<i>Pseudomonas</i>	-	XX		XX
<i>Psychrobacter</i>	-	XX		X
<i>Salmonella</i>	-	X		X
<i>Serratia</i>	-	X		X
<i>Stewanella</i>	-	X		X
<i>Staphylococcus</i>	+	X	X	X
<i>Vagococcus</i>	+			XX
<i>Weissella</i>	+	X	X	
<i>Yersinia</i>	-	X		

**X:** γνωστό ότι υπάρχει, **XX:** πιο σύνηθες αναφερόμενο

Στον Πίνακα 5. φαίνονται οι συνηθέστεροι μύκητες και ζύμες που απαντούν στο κρέας και τα πουλερικά.

**Πίνακας 5.** Ζύμες και μύκητες που απαντώνται στα κρέατα και τα πουλερικά (Jay et al., 2005)

Είδος	Φρέσκα και κατεψυγμένα κρέατα	Πουλερικά
<b>Μύκητες</b>		
<i>Alternaria</i>	X	X
<i>Aspergillus</i>	X	X
<i>Aureobasidium</i>	X	
<i>Cladosporium</i>	XX	X
<i>Eurotium</i>	X	
<i>Fusarium</i>	X	
<i>Geotrichum</i>	XX	X
<i>Monascus</i>	X	
<i>Monilla</i>	X	
<i>Mucor</i>	XX	X
<i>Neurospora</i>	X	
<i>Penicillium</i>	X	X
<i>Rhizopus</i>	XX	X
<i>Sporotrichum</i>	XX	
<i>Thamnidium</i>	XX	
<b>Ζύμες</b>		
<i>Candida</i>	XX	XX
<i>Cryptococcus</i>	X	X
<i>Debaromyces</i>	X	XX
<i>Hanseimia</i>	X	
<i>Pichia</i>	X	X
<i>Rhodotorula</i>	X	XX
<i>Saccharomyces</i>		X
<i>Torulopsis</i>	XX	
<i>Trichosporon</i>	X	X
<i>Yarrowia</i>		XX

**X: γνωστό ότι υπάρχει, XX: πιο σύνηθες αναφερόμενο**

## Δ. ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΚΡΕΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ

### 1. Προσδιορισμός της διάρκειας διατήρησης του κρέατος των πουλερικών

Ως χρόνος διατήρησης ενός προϊόντος μπορεί να οριστεί το χρονικό διάστημα από την παραγωγή μέχρι τη στιγμή που η ποιότητα του έχει υποβαθμιστεί σε επίπεδα μη αποδεκτά για κατανάλωση (Ellis, 1994).

#### 1.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη διάρκεια διατήρησης του κρέατος των πουλερικών

Ορισμένοι αλληλένδετοι παράγοντες επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής και την ποιότητα του κρέατος και πιο συγκεκριμένα η θερμοκρασία, το ατμοσφαιρικό οξυγόνο (O<sub>2</sub>), τα ενδογενή ένζυμα, η υγρασία, το φως και κυρίως οι μικροοργανισμοί. Όλοι αυτοί οι παράγοντες, είτε ατομικά είτε σε συνδυασμό, μπορούν να προκαλέσουν επιζήμιες αλλαγές στο χρώμα (Faustmann & Cassens, 1990), την οσμή, την υφή και το φλοιό του κρέατος. Αν και η αλλοίωση μπορεί να συμβεί απουσία μικροοργανισμών (π.χ. πρωτεόλυση, λιπόλυση και οξειδωση), η μικροβιακή ανάπτυξη είναι μακράν ο σημαντικότερος παράγοντας σε σχέση με τη συντήρηση της ποιότητας του νωπού κρέατος (Lambert, Smith, & Dodds, 1991). Στον Πίνακα 6. αναφέρονται οι παράγοντες για τις κυριότερες αλλοιώσεις του κρέατος.

Πίνακας 6. Παράγοντες για τις αλλοιώσεις του κρέατος ((Rahman, 1999a)

ΕΙΔΟΣ	ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ
Ενδογενείς	Είδος του ζώου (μοσχάρι, χοίρος)
	Ράτσα του ζώου
	Ηλικία σφαγής
	Αρχικό μικροβιακό φορτίο
	Χημικές ιδιότητες (αριθμός υπεροξειδίων, pH, οξύτητα, δυναμικό οξειδοαναγωγής)
	Διαθεσιμότητα οξυγόνου
Εξωγενείς	Τρόπος κατεργασίας (π.χ. θερμική)
	Υγιεινή του προσωπικού και του εξοπλισμού παραγωγής
	Σύστημα διαχείρισης της ποιότητας (π.χ. ISO, HACCP)
	Έλεγχος της θερμοκρασίας
	Συσκευασία
	Αποθήκευση



## **1.2 Αλλοιώσεις του κρέατος των πουλερικών**

Η οξείδωση των λιπιδίων, η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών και η απώλεια άλλων πολύτιμων μορίων, έχουν ως συνέπεια την αλλοίωση του κρέατος και των πουλερικών. Οι 3 μηχανισμοί αλλοίωσης είναι α) η μικροβιακή αλλοίωση, β) η οξείδωση των λιπιδίων και των πρωτεϊνών και γ) η αυτολυτική ενζυμική οξείδωση.

### **1.2.1 Μικροβιολογικές αλλοιώσεις**

Μεταξύ των κύριων περιορισμών για την εμπορευματοποίηση των νωπών προϊόντων κοτόπουλου διαπιστώνεται η μικρή διάρκεια ζωής τους, κυρίως λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε θρεπτικά συστατικά και επιφανειακής υγρασίας, γεγονός που οδηγεί σε ταχεία ανάπτυξη μικροοργανισμών αλλοίωσης και επιμόλυνση με παθογόνους μικροοργανισμούς (Aymerich et al., 2008; Patsias et al., 2008; Zhou et al., 2010). Η μικροβιακή χλωρίδα που αναπτύσσεται κυρίως σε φρέσκο κοτόπουλο ξεκινάει στην επιφάνεια και μπορεί να εξαρτάται από τον αρχικό πληθυσμό των βακτηρίων και τις συνθήκες αποθήκευσης. Είναι γνωστό ότι αυτή η βακτηριακή ανάπτυξη και η δραστηριότητά της στην επιφάνεια του προϊόντος είναι οι κύριες αιτίες των αλλαγών στη γεύση, το άρωμα και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων κοτόπουλου, τα οποία μειώνουν την ποιότητά τους και συντομεύουν τον εμπορικό τους χρόνο ζωής (Mead, 2004; Petrou et al., 2012; Samelis, 2006). Στον πίνακα 7. φαίνονται οι κυριότερες μικροβιακές αλλοιώσεις του κρέατος και των πουλερικών.

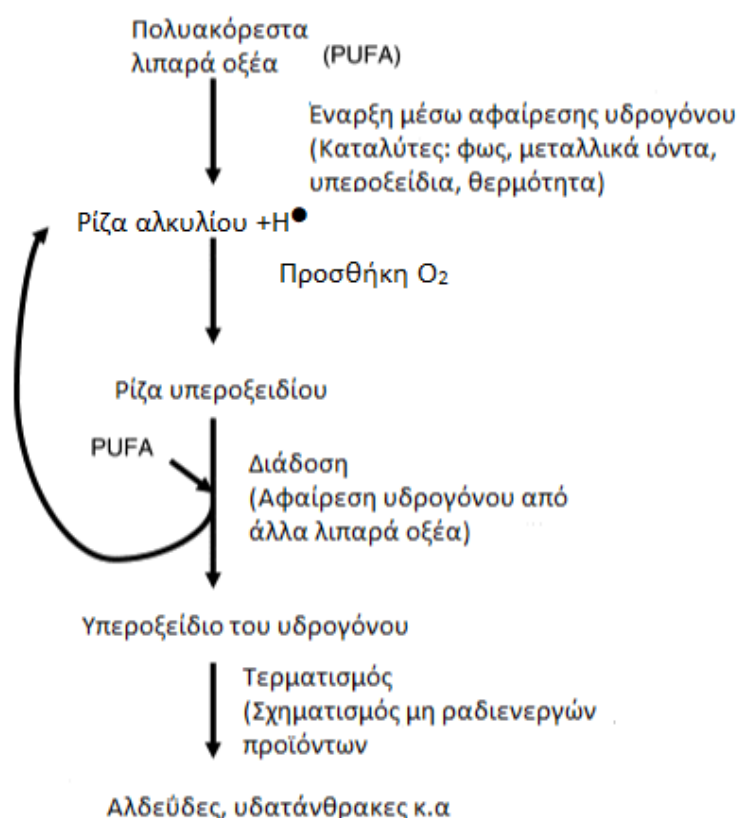
**Πίνακας 7.** Μικροβιακές αλλοιώσεις κρέατος και πουλερικών

Σήψη, αποσύνθεση	<i>Pseudomonas, Proteus, Clostridium</i>
Ξίνισμα	<i>Lactobacillus, Enterococcus, Pediococcus, B. thermosphacta</i>
Ζύμωση	<i>Yeasts (Saccharomyces), Enterobacteriaceae, Lactic acid bacteria</i>
Θόλωμα του ζωμού	<i>Lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae</i> (συσκευασμένα κρέατα, λουκάνικα κ.α.)
Αποχρωματισμός	<i>Lactic acid bacteria</i>
Σχηματισμός γλοιώδους επιχρίσματος	<i>Pseudomonas, Streptococcus, Enterobacteriaceae</i> (ελεύθερες επιφάνειες), <i>Lactic acid bacteria</i> (αεροστεγώς κλειστά τεμάχια), <i>Yeasts</i> (ζυμωμένα σκευάσματα)
Δημιουργία πράσινου χρώματος	Προκαλείται συνήθως από την παραγωγή $H_2O_2$ και $H_2S$ στα φρέσκα και επεξεργασμένα προϊόντα, από τα βακτήρια <i>Weissella viridescens, Leuconostoc, Enterococcus faecium</i> και <i>Enterococcus faecalis</i> . Είναι αποτέλεσμα της οξείδωσης των δακτυλίων της πορφυρίνης, το οποίο οδηγεί σε αλλαγή του χρώματος από κόκκινο σε πράσινο.
Ανάπτυξη μυκήτων	<i>Penicillium, Aspergillus, Mucor</i>

### 1.2.2 Οξείδωση των λιπιδίων και των πρωτεϊνών

Η αυτοοξείδωση των λιπιδίων και η παραγωγή ελεύθερων ριζών είναι χημικές διεργασίες που επηρεάζουν τα λιπαρά οξέα και οδηγούν σε οξειδωτική αλλοίωση του κρέατος και των πουλερικών (Simitzis & Deligeorgis, 2010).

Μετά τη σφαγή, τα λιπαρά οξέα στους ιστούς υφίστανται οξείδωση όταν σταματά η κυκλοφορία του αίματος και εμποδίζονται οι μεταβολικές διεργασίες (Gray & Pearson, 1994; Linares et al., 2007). Η οξείδωση είναι η αντίδραση του μοριακού οξυγόνου, στην απλή διεγερμένη του κατάσταση, με λιπίδια και άλλες ενώσεις. Ο μηχανισμός της αντίδρασης είναι ο σχηματισμός ελεύθερων ριζών. Επειδή τα λιπίδια περιέχουν πολλούς διπλούς δεσμούς, όπως τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και τα φωσφολιπίδια, είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στην αυτοοξείδωση, η οποία έχει ως επακόλουθο το σχηματισμό δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως αλδεΐδες (π.χ. μηλονική δι(αλδεΐδη)), κετόνες, αλκοόλες, υδρογονάνθρακες και άλλες ενώσεις, οι οποίες θεωρούνται υπεύθυνες για την ανάπτυξη ανεπιθύμητων αρωμάτων και οσμών και αποτελεί σημαντική αιτία υποβάθμισης του κρέατος (Cortinas et al., 2005). Στο Σχήμα 1. φαίνεται ο μηχανισμός οξείδωσης.



Σχήμα 1. Μηχανισμός οξείδωσης

Οι μύες των πουλερικών είναι πιο επιρρεπείς στην οξείδωση, λόγω των υψηλότερων επιπέδων πολυακόρεστων φωσφολιπιδίων και των χαμηλότερων επιπέδων αντιοξειδωτικών. Η οξείδωση έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση ή την απώλεια απαραίτητων λιπαρών οξέων, όπως λινελαϊκό και λινολενικό, απώλεια των λιποδιαλυτών βιταμινών και γενικότερα μείωση της θρεπτικής αξίας των λιπαρών ουσιών. Ο βαθμός της τάγγισης μπορεί να εκτιμηθεί, εξετάζοντας το σχηματισμό προϊόντων που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA), όπως η μηλονική διαλδεΰδη (MDA).

Η οξείδωση των πρωτεϊνών οδηγεί σε υποβάθμιση του χρώματος και της υφής, αλλά και σε απώλεια θρεπτικών συστατικών, όπως τα απαραίτητα αμινοξέα. Ο Estevez (2011) πρότεινε πως η οξείδωση των πρωτεϊνών μπορεί να ξεκινήσει από τη μυογλοβίνη, τα οξειδωτικά λιπίδια ή από καταλύτες μετάλλων. Οι λειτουργικές ομάδες που βρίσκονται στις πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων, είναι οι στόχοι αυτής της οξείδωσης. Περαιτέρω αντιδράσεις οδηγούν στο σχηματισμό διάφορων πρωτεϊνικών ριζών και υδροξυλικών παραγώγων και προκαλούν καρβονυλίωση της πρωτεΐνης (Fu et al., 2015). Η εξέταση της οξείδωσης των μυϊκών πρωτεϊνών μπορεί να εκτιμηθεί μετρώντας το περιεχόμενο των πρωτεϊνικών καρβονυλομάδων στους ιστούς.

### **1.2.3 Αυτολυτικές ενζυμικές αλλοιώσεις**

Οι ενζυμικές δράσεις είναι φυσική διαδικασία στα μυϊκά κύτταρα των ζώων μετά τη σφαγή και είναι αιτία αλλοίωσης του κρέατος. Τα ένζυμα έχουν την ικανότητα να συνδυάζονται χημικά με άλλες οργανικές ενώσεις και δρουν ως καταλύτες για χημικές αντιδράσεις που καταλήγουν τελικά σε αλλοίωση του κρέατος (Tauro et al., 1986). Στη διαδικασία αυτόλυσης, οι σύνθετες ενώσεις (υδατάνθρακες, λίπη και πρωτεΐνες) των ιστών διασπώνται σε απλούστερες που καταλήγουν σε μαλάκωμα και πρασινωπό αποχρωματισμό του κρέατος. Αυτές οι αυτολυτικές αλλαγές οδηγούν στην πρωτεόλυση και την υδρόλυση του λίπους που αποτελούν προϋπόθεση για τη μικροβιακή αποσύνθεση.

## **Ε. ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ**

### **1. Συντήρηση**

Η συντήρηση του κρέατος και των πουλερικών είναι απαραίτητη προκειμένου να πραγματοποιείται η μεταφορά για μεγάλες αποστάσεις εύκολα και χωρίς να υπάρχει αλλοίωση της θρεπτικής αξίας και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους. Οι παραδοσιακές μέθοδοι συντήρησης του κρέατος και των πουλερικών, όπως η ξήρανση, το κάπνισμα, το μαρινάρισμα, η ζύμωση και η κονσερβοποίηση, έχουν αντικατασταθεί με νέες τεχνικές συντήρησης, όπως φυσικά αντιμικροβιακά, βιοσυντηρητικές και μη θερμικές τεχνικές (π.χ. HHP) (Zhou et al., 2010).

#### **1.1 Μέθοδοι συντήρησης**

Οι μέθοδοι συντήρησης έχουν τους εξής στόχους:

- Επιβράδυνση ή πρόληψη της αλλοίωσης από βιολογικούς παράγοντες (μικροοργανισμοί, έντομα, τρωκτικά).
- Επιβράδυνση ή αναστολή της αυτόλυσης των συστατικών του κρέατος από τη δράση των ενζύμων που περιέχει.
- Διατήρηση της θρεπτικής αξίας στο μέγιστο δυνατό βαθμό και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του κρέατος.

##### **1.1.1 Ψύξη**

Η ψύξη είναι η αποθήκευση του κρέατος, πάνω από το σημείο πήξης των υγρών του. Είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος συντήρησης για βραχυπρόθεσμη αποθήκευση του κρέατος, καθώς η ψύξη επιβραδύνει ή περιορίζει το ρυθμό αλλοίωσης σε θερμοκρασία κάτω από το βέλτιστο εύρος ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Μπορεί να εμποδίσει την μικροβιακή ανάπτυξη, τις ενζυμικές καθώς και χημικές αντιδράσεις (Cassens, 1994; Pal, 2014). Η αποθήκευση του κρέατος γίνεται σε θερμοκρασία ψύξης 2 έως 5°C. Η ψύξη είναι σημαντική για την υγιεινή του κρέατος, την ασφάλεια, τη διάρκεια ζωής, την εμφάνιση και την ποιότητα του προϊόντος (Zhou et al., 2010). Τα σφάγια αρχικά κρέμονται σε ψυκτικούς θαλάμους (15°C) για να απομακρυνθεί η θερμότητα του σώματός τους και στη συνέχεια μεταφέρονται σε νέους ψυκτικούς θαλάμους (5°C). Χρησιμοποιείται με δύο μεθόδους: (α) Ψύξη με εμβάπτιση, στην οποία το προϊόν βυθίζεται σε ψυχρό (4°C) νερό και (β) ψύξη με αέρα, όπου τα σφάγια ψεκάζονται με νερό σε ένα δωμάτιο όπου κυκλοφορεί ψυχρός αέρας (Carroll et al., 2010). Η σχετική υγρασία διατηρείται γενικά στο 90%, για να αποφευχθεί η υπερβολική συρρίκνωση λόγω απώλειας υγρασίας.

Η διάρκεια αποθήκευσης στο ψυγείο καθορίζεται από τη ράτσα του κοτόπουλου, το αρχικό μικροβιακό φορτίο, τη συσκευασία, τη θερμοκρασία καθώς και

παράγοντες, όπως τυχόν τραυματισμός, σοκ κ.α. Τα πουλερικά ξεκινούν με συγκριτικά υψηλό μικροβιακό φορτίο και γι' αυτό πρέπει να δίνεται η μέγιστη προσοχή κατά το χειρισμό τους προκειμένου να ελεγχθεί περαιτέρω η μικροβιακή μόλυνση. Η θερμοκρασία ψύξης ευνοεί την ανάπτυξη ψυχρόφιλων και ψυχρότροφων μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοίωση του κρέατος με το χρόνο.

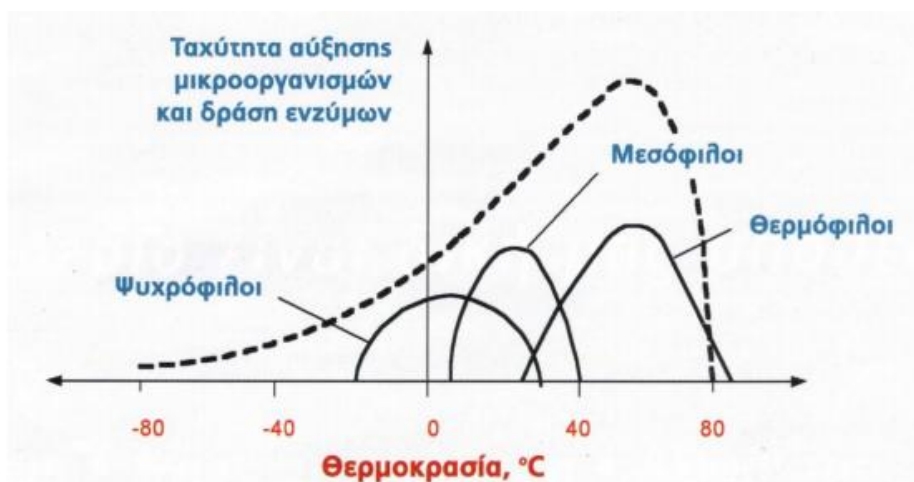
### **1.1.2 Κατάψυξη**

Η κατάψυξη είναι η ιδανική μέθοδος διατήρησης των αρχικών χαρακτηριστικών του κρέατος. Το κρέας περιέχει περίπου 50-75% κατά βάρος νερό, ανάλογα με το είδος, και η διαδικασία της κατάψυξης μετατρέπει το μεγαλύτερο μέρος του νερού σε πάγο. Σταματά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και επιβραδύνει τη δράση των ενζύμων (Heinz et al., 2007). Το σημαντικότερο πλεονέκτημα της κατάψυξης είναι η διατήρηση της θρεπτικής αξίας του κρέατος κατά την αποθήκευση, με πολύ μικρή απώλεια θρεπτικών ουσιών που εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της απόψυξης.

Η θερμοκρασία των  $-55^{\circ}\text{C}$  έχει προταθεί ως ιδανική θερμοκρασία αποθήκευσης για το κατεψυγμένο κρέας ώστε να αποφευχθεί εντελώς η υποβάθμιση της ποιότητάς του (Hansen et al., 2004). Σε αυτές τις χαμηλές θερμοκρασίες, οι ενζυμικές αντιδράσεις, η οξειδωτική τάγγιση και η ανακρυστάλλωση του πάγου μειώνονται αρκετά, επομένως θα εμφανιστούν λίγες ζημιογόνες αλλαγές κατά την αποθήκευση.

Η ποιότητα του κατεψυγμένου κρέατος καθορίζεται επίσης από το ρυθμό κατάψυξης. Στην αργή κατάψυξη, υπάρχει σχηματισμός μεγάλων κρυστάλλων πάγου που μπορεί να προκαλέσουν φυσική βλάβη στο μυϊκό ιστό. Η γρήγορη κατάψυξη παράγει μικρούς ενδοκυτταρικούς κρυστάλλους πάγου σε όλο τον ιστό του κρέατος. Οι βλάβες από τον πάγο εμφανίζονται αργότερα, κατά τη διάρκεια της φάσης απόψυξης, όπου η απώλεια υγρών αυξάνεται σε προϊόντα που καταψύχθηκαν βραδέως, επειδή οι μεγάλοι κρύσταλλοι είναι περισσότερο επιβλαβείς για τις κυτταρικές μεμβρανώδεις δομές του μυϊκού ιστού. Η ταχεία κατάψυξη αναφέρεται σε μία διαδικασία όπου η θερμοκρασία μειώνεται στους  $-20^{\circ}\text{C}$  μέσα σε μία ώρα. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με άμεση εμβάπτιση σε πολύ κρύο μέσο (π.χ. υγρό άζωτο), άμεση επαφή του κρέατος με ψυχρή πλάκα ή εκτόξευση αέρα με πολύ κρύο αέρα. Από την άλλη πλευρά, η αργή κατάψυξη αναφέρεται σε μια διαδικασία με την οποία επιτυγχάνεται η επιθυμητή θερμοκρασία μέσα σε 3-72 ώρες. Η γρήγορη κατάψυξη είναι επωφελής για τη διατήρηση της ποιότητας του κρέατος αλλά είναι ουσιαστικά ακριβότερη. Από μικροβιολογική άποψη, η ταχεία κατάψυξη δεν επιτρέπει στους μικροοργανισμούς να προσαρμοστούν στην ταχεία μείωση της θερμοκρασίας και μπορεί να προκαλέσει μεγαλύτερη θερμική καταπόνηση, σε αντίθεση με την αργή

κατάψυξη. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, η αργή κατάψυξη μπορεί να είναι πιο επιβλαβής για τους μικροοργανισμούς επειδή εκτίθενται σε ζημιογόνους παράγοντες για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Science of poultry and meat processing, Barbut, 2015). Ο ρυθμός κατάψυξης εξαρτάται όχι μόνο από τον όγκο του κρέατος και τις θερμικές του ιδιότητες (π.χ. ειδική θερμότητα και θερμική αγωγιμότητα), αλλά και από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος ψύξης, από τη μέθοδο ψύξης και από τη φύση του υλικού συσκευασίας που χρησιμοποιήθηκε. Στην Εικόνα 3. φαίνεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών συναρτήσει της θερμοκρασίας και στους Πίνακες 8. και 9. φαίνεται η διάρκεια συντήρησης διάφορων μορφών μαγειρεμένων και νωπών πουλερικών σε συνθήκες ψύξης και κατάψυξης.



**Εικόνα 3.** Ανάπτυξη οργανισμών και δράση ενζύμων συναρτήσει της θερμοκρασίας

**Πίνακας 8.** Διάρκεια συντήρησης διάφορων μορφών μαγειρεμένων πουλερικών σε ψύξη και κατάψυξη

Προϊόν (Μαγειρεμένα πουλερικά)	Ψυγείο	Καταψύκτης
Τηγανητό κοτόπουλο	3-4 ημέρες	4 μήνες
Μαγειρεμένο κοτόπουλο	3-4 ημέρες	4-6 μήνες
Απλά κομμάτια	3-4 ημέρες	4 μήνες
Κοτομπουκιές, μπέργκερ	3-4 ημέρες	1-3 μήνες
Κομμάτια καλυμμένα με ζωμό, σάλτσα	3-4 ημέρες	6 μήνες

**Πίνακας 9.** Διάρκεια συντήρησης νωπών πουλερικών σε ψύξη και κατάψυξη (40°F=4,4°C και 0°F=-17,7°C

Κατηγορία	Φαγητό	Ψυγείο (40°F και κάτω)	Καταψύκτης (40°F και κάτω)
Φρέσκα πουλερικά	Κοτόπουλο ή γαλοπούλα, ολόκληρα	1-2 ημέρες	1 χρόνος
	Κοτόπουλο ή γαλοπούλα, κομμάτια	1-2 ημέρες	9 μήνες

### 1.1.3 Ακτινοβόληση

Η ακτινοβολίες -β και -γ αλληλεπιδρούν με ένα υλικό με τη μεταφορά ενέργειας σε ιονισμένα μόρια δημιουργώντας θετικά και αρνητικά ιόντα. Η διαδικασία ακτινοβόλησης περιλαμβάνει έκθεση του κρέατος, είτε συσκευασμένο, είτε χύμα, σε ένα προκαθορισμένο επίπεδο ακτινοβολίας ιονισμού. Η ακτινοβόληση έχει ευρύ πεδίο εφαρμογής στην εξυγίανση του κρέατος και γενικότερα των τροφίμων, την παράταση του χρόνου ζωής και τη διατήρηση κατά το δυνατόν της ποιότητάς τους. Όταν χρησιμοποιείται σε υψηλή δοσολογία, υπάρχει έντονη τάση προς αλλοίωση της γεύσης και της οσμής πριν επιτευχθεί ικανοποιητική αποστείρωση. Τα πλεονεκτήματά της είναι πως είναι ασφαλής, φιλική προς το περιβάλλον και οικονομικότερη στη λειτουργία από τη συμβατική χλωρίωση (Handbook of food preservation, Rahman, 2007).

Οι πηγές που έχουν εγκριθεί για την ακτινοβόληση των τροφίμων περιλαμβάνουν ισότοπα του καισίου <sup>137</sup>Cs και του κοβαλτίου <sup>60</sup>Co, καθώς και την ακτινοβολία -β (ταχέως κινούμενα ηλεκτρόνια). Το ραδιενεργό κοβάλτιο (<sup>60</sup>Co) διασπάται σε μη ραδιενεργό νικέλιο που παράγει σωματίδια υψηλής ενέργειας και ακτίνες Χ. Οι ακτίνες Χ σκοτώνουν ταχέως αναπτυσσόμενα κύτταρα (μικρόβια), αλλά δεν καθιστούν το προϊόν ραδιενεργό. Επειδή η ακτινοβολία -γ είναι πολύ διεισδυτική, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία συσκευασμένων και ογκοδών τροφίμων (Brewer, 2009).

Στο Ηνωμένο Βασίλειο, οι κανονισμοί (1990) για τα τρόφιμα (έλεγχος της ακτινοβολίας) επιτρέπουν την ακτινοβόληση ορισμένων κατηγοριών τροφίμων μέχρι τη μέγιστη δόση (π.χ. 7 kGy για τα πουλερικά), χωρίς αλλοίωση της θρεπτικής τους αξίας. Σύμφωνα με τους Grandinson and Jennings (1993), κατόπιν ακτινοβόλησης σε δείγματα κρέατος κοτόπουλου, το ολικό μικροβιακό φορτίο ακριβώς μετά την ακτινοβόληση δόσης 1kGy, μειώθηκε κατά 1 logCFU/g.



#### **1.1.4 Αφυδάτωση**

Με την αφαίρεση του νερού από το κρέας, τα υδατοδιαλυτά συστατικά δεν είναι πλέον διαθέσιμα στους μικροοργανισμούς. Η ποσότητα του νερού στο τρόφιμο που είναι διαθέσιμη στους μικροοργανισμούς εκφράζεται ως ενεργότητα νερού. Η αφυδάτωση μειώνει σημαντικά τη δραστηριότητα του νερού για να αποφευχθεί η ανάπτυξη της αλλοίωσης που προκαλούν τα μικρόβια.

Η λυοφυλίωση του κρέατος είναι μια ικανοποιητική διαδικασία αφυδάτωσης, λόγω καλύτερων ιδιοτήτων ανασύστασης και θρεπτικής ποιότητας. Η ξήρανση με κατάψυξη συνεπάγεται την απομάκρυνση του νερού από το κρέας με εξάχνωση από την κατεψυγμένη κατάσταση, σε κατάσταση ατμών διατηρώντας το υπό κενό (Pal, 2014).

#### **1.1.5 Κάπνισμα**

Το κάπνισμα του κρέατος συντελεί στη συντήρησή του για αρκετό χρονικό διάστημα. Είναι γνωστό ότι ο καπνός περιέχει μεγάλο αριθμό προϊόντων αποικοδόμησης ξύλου, όπως αλδεΐδες, κετόνες, οργανικά οξέα, φαινόλες κ.α. Η διατήρηση του καπνιστού κρέατος οφείλεται στην αφυδάτωση της επιφάνειας, μειώνοντας την υγρασία της και την αντιμικροβιακή δράση των συστατικών του καπνού.

#### **1.1.6 Θέρμανση**

Η χρήση της θερμότητας είναι ασφαλής, χρησιμοποιείται για τη θανάτωση των μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοίωση και δε χρησιμοποιεί χημικές ουσίες. Προσθέτει οσμή και γεύση στο κρέας ανάλογα με τη συγκεκριμένη θερμική κατεργασία που εφαρμόζεται (ψήσιμο, τηγάνισμα κτλ.) Στους θερμικούς τρόπους κατεργασίας συγκαταλέγονται η παστερίωση και η αποστείρωση.

Η παστερίωση γίνεται σε μέτρια θέρμανση στην περιοχή θερμοκρασιών 58-75°C και σκοτώνεται ένα μέρος των μικροοργανισμών. Μπορεί να γίνει σε υψηλή θερμοκρασία για μικρότερο χρονικό διάστημα (υψηλή παστερίωση), ή σε χαμηλότερη θερμοκρασία για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (χαμηλή παστερίωση). Η υψηλή παστερίωση προσφέρει μεγαλύτερη παράταση του χρόνου ζωής σε σχέση με τη χαμηλή παστερίωση. Η αποστείρωση γίνεται σε θερμοκρασίες 100°C και πάνω και σκοτώνονται όλοι οι μικροοργανισμοί. Και οι 2 τρόποι κατεργασίας, συντελούν στην παράταση του χρόνου ζωής του κρέατος, αλλά έχουν το μειονέκτημα ότι χάνονται ορισμένα θρεπτικά συστατικά και υπάρχει υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του.

### **1.1.7 Υψηλή υδροστατική πίεση (HHP)**

Η υψηλή υδροστατική πίεση (HHP) ως μέθοδος επεξεργασίας κρέατος είναι μια μέθοδος μη θερμικής παστερίωσης που συνίσταται στην υποβολή του προϊόντος σε υψηλές τιμές πίεσης που εφαρμόζονται για την απενεργοποίηση των ενζύμων αλλοίωσης και τη μείωση του πληθυσμού των αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Η HPP χρησιμοποιείται επί του παρόντος για τη μείωση του μικροβιακού φορτίου και την παράταση της διάρκειας ζωής του κρέατος (Rendueles et al., 2011; Simonin et al., 2012). Σε αντίθεση με τη συμβατική θερμική επεξεργασία, η κατάλληλη εφαρμογή HPP μπορεί να προάγει τη διατήρηση της φρεσκάδας, των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και της θρεπτικής αξίας του κρέατος (Campos, Dosualdo, & Cristianini, 2003).

Η επεξεργασία υψηλής πίεσης μπορεί να εξαλείψει την επιμόλυνση από *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* και άλλων παθογόνων μικροοργανισμών που προέρχονται από το κρέας σε τελικά συσκευασμένα προϊόντα (Patterson et al., 1996). Η HHP έχει αρνητικές συνέπειες στο χρώμα του φρέσκου κρέατος, γεγονός που δεν είναι αντιληπτό σε μεγάλο βαθμό στο κοτόπουλο, λόγω της μικρής περιεκτικότητας σε μυογλοβίνη (Hansen et al., 2003).

### **1.1.8 Ζυμώσεις**

Η ζύμωση του κρέατος προκύπτει από την παραγωγή γαλακτικού οξέος από ορισμένα είδη γαλακτικών βακτηρίων που υπάρχουν σε αναερόβιο περιβάλλον και στη συνέχεια ακολουθεί το στάδιο της ξήρανσης για περαιτέρω σταθεροποίηση και ωρίμανση του κρέατος (Leroy et al., 2016; Ravyts et al., 2012). Το αλάτισμα, η γέμιση, η ζύμωση και η ξήρανση, δημιουργούν μια συσσώρευση αντιμικροβιακών εμποδίων με αποτέλεσμα την παράταση του χρόνου ζωής για αρκετούς μήνες. Εκτός από τα γαλακτικά βακτήρια, επιλέγονται και οι αρνητικοί στην κοαγκουλάση (πηκτάση) σταφυλόκοκκοι, οι οποίοι συμβάλλουν στη διατήρηση της γεύσης, του χρώματος και της οξειδωτικής σταθερότητας των κρεάτων που έχουν υποστεί ζύμωση (Ordonez et al., 2007). Τα ζυμωμένα κρέατα είναι κατάλληλα για άμεση κατανάλωση, έχουν υψηλή θρεπτική αξία και είναι σταθερά όσον αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

### **1.1.9 Χημικά πρόσθετα**

#### Χλωριούχο άλας (NaCl)

Το χλωριούχο νάτριο (NaCl) είναι ένα από τα παλαιότερα μέσα που χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση του κρέατος. Η συντήρηση επιτυγχάνεται μειώνοντας την ενεργότητα του νερού και κατά συνέπεια μειώνοντας το διαθέσιμο νερό για την ανάπτυξη μικροβίων. Οι υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων μπορούν επίσης να επηρεάσουν τον μεταβολισμό των κυττάρων, καθώς το άλας αντλεί νερό

από το κύτταρο. Η συγκέντρωση του αλατιού σε ένα ζωντανό κύτταρο είναι περίπου 0,90% και όταν η εξωτερική συγκέντρωση είναι περίπου η ίδια, τα κύτταρα εμφανίζουν ισότονη κατάσταση. Όταν προστίθεται περισσότερο αλάτι στον περιβάλλοντα χώρο, το νερό κινείται έξω από το κύτταρο σε μια προσπάθεια να διατηρηθεί ισορροπία. Αυτό με τη σειρά του, καταλήγει σε μια κατάσταση γνωστή ως πλασμόλυση, και η απουσία νερού αναστέλλει την ανάπτυξη και πιθανώς σκοτώνει το κύτταρο. Προκειμένου να διατηρηθεί σταθερό στο ράφι ένα προϊόν, πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια συγκέντρωση 10-15% άλατος. Αυτό το επίπεδο είναι πολύ υψηλότερο από το άλας 1,0-2,5% που χρησιμοποιείται συνήθως στα περισσότερα προϊόντα με βάση το κρέας (Barbut & Findlay, 1989; Sindelar & Milkowski, 2011), η οποία είναι ανεπαρκής για τη συντήρηση του προϊόντος, αλλά μαζί με άλλα πρόσθετα και θέρμανση μπορεί να επιτευχθεί σημαντική παράταση του χρόνου ζωής του προϊόντος. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί αναστέλλονται στην πραγματικότητα από μια συγκέντρωση άλατος 2,0%, αλλά η υψηλή ενεργότητα νερού (περίπου 0,98-0,99) είναι ανεπαρκής για να αναστείλει τα περισσότερα βακτήρια, μύκητες και ζύμες.

#### Φωσφορικά άλατα

Διαφορετικοί τύποι φωσφορικών αλάτων χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία και το συνηθέστερο είναι το τριπολυφωσφορικό νάτριο (STPP). Τα φωσφορικά μπορούν να μεταβάλουν το pH, να κατακρατήσουν υγρασία, να προστατέψουν τη γεύση και να γαλακτωματοποιήσουν το λίπος, δηλαδή να επηρεάσουν τις κυτταρικές μεμβράνες. Λόγω της δραστηρότητάς τους, που προκύπτει από την υδρόφιλη/υδρόφοβη δομή τους, έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς ως αντιμικροβιακοί παράγοντες για την αντιμετώπιση βακτηρίων στο κρέας, συμπεριλαμβανομένου και του δέρματος πουλερικών. Για παράδειγμα, το 1992, στις ΗΠΑ, εγκρίθηκε εμπορικό μίγμα STPP και μερικών άλλων συστατικών για την απολύμανση και την επανεπεξεργασία του δέρματος πουλερικών (η απαιτούμενη συγκέντρωση είναι περίπου 10% φωσφορικό) (Barbut, 2015).

#### Νιτρώδη άλατα

Τα νιτρώδη άλατα μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τη βιομηχανία κρέατος ως νιτρώδες νάτριο ( $\text{NaNO}_2$ ), νιτρικό νάτριο ( $\text{NaNO}_3$ ) ή ως άλατα καλίου. Τα νιτρώδη χρησιμοποιούνται στη διαδικασία σκλήρυνσης διάφορων προϊόντων κρέατος. Τα νιτρώδη/νιτρικά προστίθενται για τρεις κύριους λόγους:

- 1) Αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών όπως το *Clostridium botulinum*.
- 2) Σταθεροποιούν το ροζ χρώμα του κρέατος σε ωριμασμένα κρέατα σχηματίζοντας το σύμπλοκο νιτροσοαιμοχρώματος.

3) Συμβάλλουν στην ανάπτυξη γεύσης και αναστέλλουν την οξείδωση.

Ο κύριος λόγος για την προσθήκη νιτρωδών είναι η παρεμπόδιση της ανάπτυξης σπορίων *C. botulinum*, επειδή δεν καταστρέφονται σε θερμοκρασία <math> < 100 \text{ }^\circ \text{C}</math> (τα περισσότερα προϊόντα με βάση το κρέας, π.χ. αλλαντικά δεν μαγειρεύονται >math> > 100 \text{ }^\circ \text{C}</math>). Η δραστική ένωση σε νιτρώδη άλατα είναι το οξείδιο του αζώτου (NO), το οποίο αναστέλλει το *C. botulinum* παρεμβαίνοντας με ένζυμα σιδήρου/θείου όπως η φερρεδοξίνη (πρωτεΐνη), που εμποδίζουν τη σύνθεση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) από το πυροσταφυλικό οξύ.

Όταν χρησιμοποιείται το νιτρικό νάτριο πρέπει πρώτα να αναχθεί σε νιτρώδες, από τους μικροοργανισμούς. Συνήθως προστίθεται νιτρικό νάτριο σε προϊόντα κρέατος που έχουν υποστεί ζύμωση και τα οποία χρειάζονται βραδεία απελευθέρωση νιτρωδών για περισσότερο χρονικό διάστημα. Τα επίπεδα νιτρώδους που χρησιμοποιούνται στα μεταποιημένα προϊόντα με βάση το κρέας είναι χαμηλά και συνήθως κυμαίνονται από 100-200 μέρη ανά εκατομμύριο (ppm). Τα επίπεδα ρυθμίζονται από κυβερνητικές υπηρεσίες λόγω της πιθανότητας σχηματισμού νιτροζαμίνης, που είναι καρκινογόνα ένωση. Οι νιτροζαμίνες μπορούν να σχηματιστούν με την αντίδραση νιτρωδών και δευτεροταγών/τριτοταγών αμινών υπό όξινες συνθήκες σε υψηλές θερμοκρασίες. Σε προϊόντα κρέατος τα οποία υποβάλλονται σε επεξεργασία αμέσως μετά την προσθήκη νιτρωδών χρησιμοποιείται συνήθως ένας αναγωγικός παράγοντας (π.χ. ασκορβικό σε συγκέντρωση περίπου 500 ppm) για να μετατρέψει γρήγορα το μεγαλύτερο μέρος των νιτρωδών σε νιτρικό οξείδιο και να μειώσει την πιθανότητα σχηματισμού νιτροζαμίνης. Σε ορισμένα προϊόντα, όπου αναμένεται έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες (π.χ. τηγανητό χοιρινό/κοτόπουλο) επιτρέπονται χαμηλότερα επίπεδα νιτρωδών (Barbut, 2015).

### Οξέα

Μπορούν να προστεθούν απευθείας οργανικά οξέα που βρίσκονται στα τρόφιμα (π.χ. κιτρικό οξύ σε εσπεριδοειδή) ή να παραχθούν εντός του τροφίμου κατά τη ζύμωση (π.χ. γαλακτικό οξύ κατά τη ζύμωση λουκάνικων). Μερικά οξέα μπορούν να μειώσουν αποτελεσματικά το pH και να εμποδίσουν την ανάπτυξη μικροβίων. Η αναστολή εξαρτάται από τον τύπο και τη συγκέντρωση του χρησιμοποιούμενου οξέος.

Το μαρινάρισμα κομματιών κρέατος με συστατικά όπως ο χυμός λεμονιού και το ξίδι είναι ανασταλτικό σε πολλά παθογόνα και μπορεί επίσης να συμβάλει στην επέκταση της διάρκειας ζωής. Η μικροβιακή αναστολή από οργανικά οξέα οφείλεται τόσο στη μείωση του pH (κάτω από το εύρος ανάπτυξης των μικροοργανισμών), αλλά και στα μη δισταμάμενα μόρια οξέος (Theron & Lues, 2007). Συνολικά, προσδιορισμός του ανασταλτικού αποτελέσματος ενός συγκεκριμένου οργανικού

οξέος μπορεί να μετρηθεί καλύτερα με προσδιορισμό της οξύτητας από ό,τι με προσδιορισμό του pH. Το τελευταίο είναι ένα μέτρο συγκέντρωσης ιόντων υδρογόνου, καθώς τα οργανικά οξέα δεν ιονίζονται πλήρως. Στην περίπτωση ζύμωσης/οξίνισης προϊόντων με βάση το κρέας, το γαλακτικό οξύ παράγεται εντός του προϊόντος από βακτήρια γαλακτικού οξέος ή προστίθεται ως ενθυλακωμένο οξύ για τη μείωση του pH και τη συντήρηση του προϊόντος. Το γαλακτικό οξύ και τα άλατά του χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία κρέατος για την αναστολή παθογόνων όπως η *Salmonella*, η *Listeria* και η *E. coli* σε ακατέργαστα και μαγειρεμένα προϊόντα (Aymerich et al., 2008).

### Σάκχαρα

Τα σάκχαρα συντηρούν τα τρόφιμα με τον ίδιο τρόπο όπως το NaCl, δηλαδή μειώνουν την ενεργότητα του νερού), αλλά η κύρια διαφορά μεταξύ τους είναι η απαιτούμενη σχετική συγκέντρωση. Για να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα αναστολής, απαιτείται περίπου έξι φορές περισσότερη σακχαρόζη από το NaCl (Jay et al., 2005). Τα περισσότερα προϊόντα με βάση το κρέας δεν διατηρούνται με υψηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη, αλλά υπάρχουν κάποια ειδικά προϊόντα όπου χρησιμοποιείται η ζάχαρη ως συντηρητικό. Συνηθέστερα, το σάκχαρο όπως η δεξτρόζη προστίθεται σε προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, ως υπόστρωμα βακτηρίων γαλακτικού οξέος και, ως εκ τούτου, βοηθά έμμεσα στη μικροβιακή αναστολή.

#### **1.1.10 Φυσικά πρόσθετα**

### Άμυλο

Στα μεταποιημένα προϊόντα κρέατος πουλερικών, το άμυλο χρησιμοποιείται συνήθως ως πυκνωτικό μέσο, καθώς και ως παράγοντας πήξης, κατακράτησης νερού και διογκώσεως για τη βελτίωση των χαρακτηριστικών υφής. Τα φυσικά άμυλα από διάφορες φυτικές ρίζες περιέχουν διαφορετικές αναλογίες αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης, οι οποίες παρέχουν διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες για κάθε τύπο αμύλου. Τα είδη αμύλου που χρησιμοποιούνται συχνότερα στα πουλερικά είναι το άμυλο από πατάτα και ταπιόκα (Feiner, 2006).

### Πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης

Οι πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης χρησιμοποιούνται για την αύξηση της κατακράτησης νερού σε προϊόντα κρέατος. Οι διαλυτές φυτικές πρωτεΐνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενίσχυση της ικανότητας γαλακτωματοποίησης του λίπους και οι συνηθέστερες πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται στα πουλερικά προέρχονται από σόγια ή από σιτάρι.

## Υδροκολλοειδή

Τα υδροκολλοειδή μπορούν να εφαρμοστούν σε περιπτώσεις όπου δεν είναι απαραίτητος ο έλεγχος της μεταφοράς υγρασίας. Αποτελούν εξαιρετικό εμπόδιο στη μεταφορά O<sub>2</sub>, του CO<sub>2</sub> και των λιπαρών υλών και η πλειονότητα αυτών διαθέτει ικανοποιητικές μηχανικές ιδιότητες. Η διαλυτότητα των υδροκολλοειδών είναι το μεγάλο πλεονέκτημα στην περίπτωση όπου το τρόφιμο θερμαίνεται πριν την κατανάλωση. Μεταξύ των υδροκολλοειδών που διατίθενται στην αγορά, οι καρραγενάνες και τα αλγινικά είναι τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα σε προϊόντα κρέατος και πουλερικών.

## Πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης

Πολλοί τύποι ζωικών πρωτεϊνών που προέρχονται από το ίδιο το ζώο (κρέας, δέρμα, αίμα) ή από τα προϊόντα του (αυγά, γάλα) διατίθενται στην αγορά ως λειτουργικά συστατικά (κολλαγόνο, ζελατίνη, πρωτεΐνη ορού γάλακτος, καζεΐνη κ.α.) για να προσθέσουν τεχνολογικές και οργανοληπτικές ιδιότητες σε προϊόντα κρέατος (Xiong, 2009). Η ζελατίνη, το κολλαγόνο και οι πρωτεΐνες αίματος είναι αυτές που χρησιμοποιούνται ευρέως.

## Αιθέρια έλαια

Πολλά αιθέρια έλαια έχουν αντιμικροβιακή δράση ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα τροφιμογενών παθογόνων και συνεπώς, έχουν χρησιμοποιηθεί ως "φυσικά" αντιμικροβιακά (Zhang et al, 2015). Τα αιθέρια έλαια είναι πτητικά ελαιώδη υγρά που έχουν εκχυλιστεί από διάφορα μέρη του φυτού και χρησιμοποιούνται ευρέως ως αρωματικά τροφίμων (Alboofetileh et al., 2014). Τα αιθέρια έλαια και τα μπαχαρικά είναι πλούσιες πηγές βιολογικώς δραστικών ενώσεων όπως τερπενοειδή και φαινολικά οξέα (Zinoniyadou et al., 2011). Γενικά, τα αιθέρια έλαια με τις ισχυρότερες αντιμικροβιακές ιδιότητες κατά παθογόνων μικροοργανισμών, προέρχονται κυρίως από φυτά που περιέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε φαινολικές ενώσεις όπως η καρβακρόλη, ευγενόλη και θυμόλη. Ο αντιμικροβιακός μηχανισμός οφείλεται στη διατάραξη της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, διαταράσσοντας έτσι την κινητήρια δύναμη των πρωτονίων, την ενεργό μεταφορά και την πήξη του περιεχομένου των κυττάρων.

### **1.1.11 Συσσκευασία** (αναφέρεται εκτενέστερα παρακάτω)

## **2. Συσσκευασία**

Ως συσκευασία κρέατος ορίζεται το σύνολο των δραστηριοτήτων που περιλαμβάνουν τον σχεδιασμό, και την τοποθέτηση του κρέατος σε κατάλληλο περιέκτη ο οποίος το προστατεύει από εξωτερικούς παράγοντες που μπορεί να το

επηρεάσουν δυσμενώς, ενημερώνει αποτελεσματικά τον καταναλωτή και συμβάλλει στην εμπορία του.

Γενικά, ο κυριότερος σκοπός της συσκευασίας του κρέατος είναι να προστατεύει τα κρέας από τη χημική και μικροβιακή μόλυνση, την υγρασία, τους ατμούς, το οξυγόνο, το φως και έχει σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής του (Oles & Yalcin, 2008). Η συσκευασία οφείλει επιπλέον να διασφαλίζει την υγεία του καταναλωτικού κοινού, να προστατεύει και να διατηρεί φρέσκο το κρέας καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησής του, και να προσελκύει το ενδιαφέρον του καταναλωτή.

Η αποφυγή της μικροβιακής επιμόλυνσης του κρέατος από το εξωτερικό περιβάλλον είναι μία από τις σημαντικότερες λειτουργίες της συσκευασίας. Η συσκευασία λοιπόν μπορεί να επηρεάσει την μικροβιολογική σταθερότητα με δύο τρόπους:

- Αποτρέπει την επιμόλυνση του κρέατος με μικροοργανισμούς που δύναται να το αλλοιώσουν και να δημιουργήσουν δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.
- Εξασφαλίζει κατάλληλες συνθήκες εντός του εσωτερικού της συσκευασίας που θα εμποδίζουν την ανάπτυξη και την αύξηση των μικροοργανισμών (όπως η υγρασία και το οξυγόνο) (Μπλούκας, 2004).

## **2.1 Υλικά συσκευασίας του κρέατος των πουλερικών**

Υπάρχουν πολλές επιλογές συσκευασίας για νωπό και επεξεργασμένο κρέας. Αν και όλοι οι τύποι συσκευασίας θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τα περισσότερα προϊόντα με βάση το κρέας, οι επιλογές συσκευασίας για συγκεκριμένα τεμάχια ή προϊόντα, εξαρτώνται συνήθως από τα επιθυμητά χαρακτηριστικά αποθήκευσης και εμφάνισης και από τις προσδοκίες των αγοραστών. Οι τύποι συσκευασίας κυμαίνονται από συσκευασίες που έχουν διαπερατότητα στον αέρα για βραχυπρόθεσμη αποθήκευση ακατέργαστου κρέατος μέχρι συσκευασίες με υλικά φραγμού, όπως συσκευασία υπό κενό και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας για εκτενέστερη αποθήκευση (Kerry, O'Grady & Hogan, 2006).

Η ποιότητα των συσκευασμένων κρεάτων επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις ιδιότητες των υλικών συσκευασίας. Αυτά ποικίλλουν ανάλογα με παράγοντες όπως ο τύπος του υλικού, η χρήση προσθέτων και η μέθοδος παρασκευής. Για παράδειγμα, οι ιδιότητες των πλαστικών μεμβρανών εξαρτώνται κυρίως από τη σύνθεση, την κρυσταλλικότητα και τη μορφολογία τους. Παραδοσιακά, οι πλαστικές μεμβράνες που χρησιμοποιήθηκαν για το κενό και τη MAP αναπτύχθηκαν για να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα του φραγμού τους στα αέρια και την υγρασία,

τις ιδιότητες συρρίκνωσης, τα χαρακτηριστικά σφράγισης, τις δυνατότητες μαγειρέματος και ποικιλία επιλογών εκτύπωσης και χρώματος (Sebranek et al., 2006). Οι βελτιώσεις στην ποιότητα και στη διάρκεια ζωής των προϊόντων με βάση το κρέας επιτεύχθηκαν κυρίως με τον έλεγχο της διαπερατότητας αερίων ή υδρατμών (παθητική συσκευασία) και εν μέρει με την εφαρμογή βιοδραστικών παραγόντων μέσα ή επάνω στα υλικά συσκευασίας (ενεργή συσκευασία).

Οι μεμβράνες φραγμού με διαπερατότητα στο  $O_2$  μικρότερη από  $100 \text{ cm}^3 / \text{m}^2 / 24 \text{ h} / \text{atm}$  (στους  $23^\circ\text{C}$  και  $0\% \text{ Rh}$ ) γενικά χρησιμοποιούνται για συσκευασία κρέατος κενού ή MAP στη βιομηχανία. Σε πλαστικές μεμβράνες, το  $CO_2$  έχει 4-5 φορές και 13 φορές μεγαλύτερη διαπερατότητα από το  $O_2$  και το  $N_2$ , αντίστοιχα, επειδή ο συντελεστής διαλυτότητας του  $CO_2$  είναι πολύ μεγαλύτερος από τα άλλα αέρια (Gill, 1992, Robertson, 2006, Stiles, 1990). Τα πολυαμίδια (PA) και ο πολυτερεφθαλικός αιθυλεστέρας (PET) χρησιμοποιούνται συνήθως ως στρώματα φραγμού. Σε αυτά, η αιθυλενοβινυλική αλκοόλη (EVOH), η πολυβινυλική αλκοόλη (PVOH) ή το πολυβινυλιδενοχλωρίδιο (PVDC) ενσωματώνονται στην πολυστρωματική δομή με λαμινάρισμα ή συνεχώθηση (Lange & Wyser, 2003) των οποίων οι διαπερατότητες σε  $O_2$  είναι κανονικά μικρότερες από  $1 \text{ cm}^3 / \text{m}^2 / \text{atm}$  (Stiles, 1990). Άλλα κοινά πολυμερή που χρησιμοποιούνται στη συσκευασία είναι το πολυαιθυλένιο (PE), το πολυπροπυλένιο (PP) και ο αιθυλενοξικός βινυλεστέρας (EVA).

Πολυαιθυλένιο (PE): Είναι ένα απλής δομής πολυμερές που παρασκευάζεται με πολυμερισμό του αιθυλενίου. Ανάλογα με τον τρόπο πολυμερισμού μπορεί να ληφθεί το πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας (HDPE) το οποίο έχει ευθεία αλυσίδα, το χαμηλής πυκνότητας (LDPE) με διακλαδισμένη αλυσίδα και το γραμμικό χαμηλής πυκνότητας (LLDPE) το οποίο δεν περιέχει διακλαδώσεις μεγάλης αλυσίδας αλλά πολλές μικρές πλευρικές αλυσίδες. Η γραμμικότητα στο μακρομόριο παρέχει αντοχή ενώ οι διακλαδώσεις σκληρότητα. Το LDPE είναι σχετικά χημικά αδρανές, ελάχιστα διαπερατό στους υδρατμούς αλλά πολύ διαπερατό στο οξυγόνο, τα αέρια και τις οσμές. Το HDPE έχει άριστο φραγμό στους υδρατμούς και έχει καλύτερες ιδιότητες φραγμού στα αέρια σε σχέση με το LDPE. Και τα δύο έχουν πολύ καλές ιδιότητες θερμοσυγκόλλησης.

Πολυπροπυλένιο (PP): Παρασκευάζεται με πολυμερισμό του προπυλενίου. Σε σύγκριση με το πολυαιθυλένιο είναι σκληρότερο υλικό, έχει μεγαλύτερη ελαστικότητα και είναι ακριβότερο. Οι ιδιότητες φραγμού αερίων και υδρατμών είναι παρόμοιες με αυτές του πολυαιθυλενίου αλλά μπορούν να βελτιωθούν με τη διαδικασία του προσανατολισμού. Επίσης η διαδικασία αυτή οδηγεί στην αύξηση της σκληρότητας της μεμβράνης και στη βελτίωση της διαύγειας του υλικού η οποία φτάνει στο επίπεδο του γυαλιού. Το PP θερμοσυγκολλάται ενώ η ικανότητα θερμοσυγκόλλησης αυξάνεται κατόπιν επίστρωσης με ένα πολυμερές χαμηλότερου σημείου τήξης (PE, συμπολυμερή του PVdC και ακρυλικά πολυμερή).



Πολυστυρόλιο (PS): Παρασκευάζεται με πολυμερισμό του στυρολίου. Είναι εξαιρετικά διαυγές αλλά, επειδή είναι εύθραυστο για να χρησιμοποιηθεί σε εφαρμογές συσκευασίας τροφίμων, συμπολυμερίζεται με βουταδιένιο ή και ακρυλονιτρίλιο, οπότε αντίστοιχα προκύπτουν τα ABS και SAN. Το PS παρέχει μέτριο φραγμό στα αέρια αλλά φτωχό στους υδρατμούς και για αυτό το λόγο παρασκευάστηκαν πολυστρωματικά πολυμερή όπως το Bafex ή το Lorac που έχουν καλύτερες ιδιότητες φραγμού συνδυαζόμενες με διαφάνεια και σκληρότητα του υλικού.

Πολυβινυλική αλκοόλη (PVOH): Η πολυβινυλική αλκοόλη (PVOH) παράγεται από την αλκοόλυση του PVA. Είναι άμορφο υλικό, αλλά μπορεί να κρυσταλλοποιηθεί. Οι μεμβράνες της PVOH παρέχουν φτωχό φραγμό στους υδρατμούς αλλά πολύ καλό στο οξυγόνο και τα λίπη. Η PVOH έχει καλή αντοχή σε ξηρές συνθήκες ενώ χάνει την αντοχή της όταν υγρανθεί. Επειδή είναι διαλυτή στο νερό είναι δύσκολη στην επεξεργασία.

Πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC): Είναι σκληρό, εύθραυστο, διαυγές, με καλή αντίσταση στην υγρασία, μέτρια διαπερατότητα αερίων, καλή αντίσταση στα λίπη και έλαια και αντοχή στα οξέα και βάσεις. Η ενσωμάτωση πλαστικοποιητών έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεμβράνης πολύ πιο μαλακής, εύκαμπτης που επεξεργάζεται με ευκολία.

Πολυβινυλιδενοχλωρίδιο (PVDC): Το πολυμερές παρασκευάζεται με πολυμερισμό του βινυλιδενοχλωριδίου. Το υλικό που παράγεται είναι σκληρό με υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητας. Το πλέον χρησιμοποιούμενο συμπολυμερές στα τρόφιμα είναι το συμπολυμερές βινυλιδενοχλωριδίου σε ποσοστό 85% με βινυλοχλωρίδιο (15%), το οποίο είναι γνωστό με το εμπορικό όνομα Saran. Έχει άριστο φραγμό στην υγρασία, τα αέρια και τις οσμές.

Οξικός αιθυλενοβινυλεστέρας (EVA): Είναι συμπολυμερές του αιθυλενίου και οξικού βινυλεστέρα. Είναι ελαστικό σε χαμηλές θερμοκρασίες. Το βασικό πλεονέκτημά του σε σχέση με το πλαστικοποιημένο PVC είναι η απουσία του πλαστικοποιητή. Το πλεονέκτημά τους σε σχέση με το LDPE είναι: (α) έχει χαμηλότερη θερμοκρασία θερμοσυγκόλλησης, (β) έχει καλύτερο φραγμό και (γ) έχει εξαιρετική αντοχή. Χρησιμοποιείται με τη μορφή εύκαμπτων συρρικνούμενων μεμβρανών και τείνει να αντικαταστήσει το PVC για την περιτύλιξη των τροφίμων. Επίσης χρησιμοποιείται στην κατασκευή πολυστρωματικών υλικών (ως εσωτερικό στρώμα για θερμοσυγκόλληση) με τη μέθοδο της συνεξώθησης.

Αιθυλενοβινυλική αλκοόλη (EVOH): Είναι συμπολυμερές του αιθυλενίου με τη βινυλική αλκοόλη. Αποτελεί άριστο φραγμό στα αέρια και τις οσμηρές ενώσεις. Το κυριότερο μειονέκτημά του είναι ότι ο φραγμός του στο οξυγόνο ελαττώνεται σημαντικά σε υψηλά επίπεδα υγρασίας. Επίσης, εξαιτίας των υδροξυλομάδων στον

πολυμερικό σκελετό η EVOH τείνει να είναι εξαιρετικά διαλυτή στο νερό. Χρησιμοποιείται κυρίως ως εσωτερικό στρώμα πολυστρωματικών υλικών τύπου sandwich μεταξύ στρωμάτων PE ή PP που αποτελούν άριστο φραγμό στην υγρασία.

Πολυεστέρες: Παρασκευάζονται με πολυμερισμό συμπύκνωσης διαλκοολών με αρωματικά διβασικά οξέα. Ο ευρύτερα χρησιμοποιούμενος πολυεστέρας είναι ο πολυαιθυλενοτερεφθαλικός εστέρας (PET) που παρασκευάζεται με πολυμερισμό της αιθυλενογλυκόλης με το τερεφθαλικό οξύ. Έχει πολύ καλές μηχανικές ιδιότητες, πολύ καλή χημική αντίσταση, μικρό βάρος, εξαιρετη διαφάνεια, πολύ χαμηλή διαπερατότητα στα αέρια και σταθερότητα σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (-60 έως 220°C).

Πολυαμίδια (PA): Παρασκευάζονται με συμπύκνωση διβασικών οξέων και διαμινών. Υπάρχουν πολλά διαφορετικά πολυαμίδια που χρησιμοποιούνται στη συσκευασία τροφίμων αλλά, εξαιτίας του κόστους τους, χρησιμοποιούνται, κυρίως, σε μορφή μεμβράνης και όχι ως περιέκτες. Είναι υλικά με καλές μηχανικές ιδιότητες, με υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητας, έχουν υψηλά σημεία τήξης και μαλακώματος και χαμηλή διαπερατότητα στα αέρια (Μπαδέκα, 2012).

Στον Πίνακα 10. φαίνονται οι τιμές διαπερατότητας οξυγόνου και υδρατμών σε διάφορα υλικά συσκευασίας.

**Πίνακας 10.** Τιμές διαπερατότητας οξυγόνου και υδρατμών διαφόρων υλικών πάχους 25μm (Μπαδέκα, 2012)

Υλικό	O <sub>2</sub> (cm <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> day atm) 25°C & 50% RH	Υγρασία (g/m <sup>2</sup> day) 25°C & 75% RH)
PVDC	2	1
EVOH	0,5-10*	40
PVDC-PVC	15	9
NYLON 6	50-150*	40
POLYESTER	80	8
PVC	200	20
HDPE	1400	2
OPP	1500	2
LDPE	8000	5
HIPS	4500	30

\* η διαπερατότητα εξαρτάται από τη σχετική υγρασία, OPP: προσανατολισμένο προπυλένιο, HIPS: πολυστυρένιο υψηλής αντοχής στην κρούση

## **2.2 Τεχνικές συσκευασίας των πουλερικών**

Οι σύγχρονες τεχνολογίες συσκευασίας κρέατος περιλαμβάνουν την αερόβια συσκευασία, την ενεργή συσκευασία, την έξυπνη συσκευασία, τη συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, τη συσκευασία σε κενό κλπ., που προσπαθούν να ενισχύσουν την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων όσο το δυνατόν πιο φυσικά.

### **2.2.1 Αερόβια συσκευασία**

Η μη ερμητική αερόβια συσκευασία επιτρέπει στον αέρα και στο οξυγόνο να εισέλθουν στη συσκευασία και να αντιδράσουν με το προϊόν μέσω μη ερμητικών σφραγίσεων, μέσω υλικών διαπερατών στο οξυγόνο ή και των δύο. Αντίστοιχα, επιτρέπει στην υγρασία να εξατμιστεί από το προϊόν και να διεισδύσει από τη συσκευασία στο εξωτερικό περιβάλλον. Η ερμητική αερόβια συσκευασία χαρακτηρίζεται από ερμητικό κλείσιμο και από υλικά που είναι διαπερατά στο οξυγόνο, αλλά όχι στην υγρασία. Οι συσκευασίες αυτού του είδους περιλαμβάνουν συνήθως το πολυαιθυλένιο (PE), τον πολυαιθυλενοτερεφθαλικό εστέρα (PET), το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC), το πολυπροπυλένιο (PP) και άλλα υλικά με φτωχό φραγμό στο οξυγόνο.

### **2.2.2 Ενεργή συσκευασία**

Η ενεργή συσκευασία είναι ένα σύστημα στο οποίο το προϊόν του κρέατος, η συσκευασία και το περιβάλλον συσκευασίας αλληλεπιδρούν για να δώσουν ένα θετικό χαρακτηριστικό στο κρέας. Συχνά αυτό επιτυγχάνεται με την ενσωμάτωση δραστικών ενώσεων στα υλικά συσκευασίας για την απορρόφηση ουσιών από το κρέας ή το περιβάλλον ή για την απελευθέρωση παραγόντων από τη συσκευασία στο περιβάλλον ή στα προϊόντα κρέατος (Yam et al., 2005).

Οι λειτουργίες και τεχνολογίες της ενεργής συσκευασίας περιλαμβάνουν τον έλεγχο της υγρασίας, τον έλεγχο της διάχυσης οξυγόνου στις συσκευασίες, τον έλεγχο διάχυσης διοξειδίου του άνθρακα και αιθυλενίου από τις συσκευασίες, προσροφητές και απορροφητές οξυγόνου, έλεγχο των οσμών, ενίσχυση της γεύσης, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ουσίες (Brody, 2005). Σε μια έρευνα χρησιμοποιήθηκε απορροφητής οξυγόνου σε μπιφτέκια κοτόπουλου, ο οποίος είτε μόνος του, είτε σε συνδυασμό με εκχύλισμα εσπεριδοειδών, είχε ως αποτέλεσμα την επέκταση της διάρκειας ζωής, τουλάχιστον κατά τρεις μέρες (Kontominas et al., 2012).

### **2.2.3 Έξυπνη συσκευασία**

Η έξυπνη συσκευασία παρακολουθεί την κατάσταση των συσκευασμένων κρεάτων και παρέχει πληροφορίες σχετικά με την ποιότητα και την ασφάλεια τους κατά τη

μεταφορά και την αποθήκευσή τους. Αν και είναι διαφορετική από την ενεργή συσκευασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ελέγξει την αποτελεσματικότητα και την ακεραιότητα της ενεργής συσκευασίας (Kerry et al., 2006). Έχει τη δυνατότητα να παρέχει πληροφορίες για την υπολειπόμενη διάρκεια ζωής του κρέατος με βάση τις πραγματικές συνθήκες διατήρησής του (θερμοκρασία περιβάλλοντος, χρόνος αποθήκευσης). (Μπλούκας 2004).

Αισθητήρες και δείκτες χρησιμοποιούνται σε συστήματα έξυπνης συσκευασίας, με παραδείγματα τη μέτρηση O<sub>2</sub> με βάση το φθορισμό, ανίχνευση αερίων, παρακολούθηση θερμοκρασίας, τοξικές ενώσεις, έλεγχος φρεσκότητας με παρακολούθηση συγκεκριμένων συστατικών και ακεραιότητα συσκευασίας (de Kruijf et al., 2002; Kerry et al., 2006; Yam et al, 2005). Οι κύριες τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται είναι οι δείκτες (χρονοθερμοκρασιακοί δείκτες TTIs, οξυγόνου, διοξειδίου του άνθρακα, χρώματος, φρεσκότητας, δείκτες ανάπτυξης παθογόνων παραγόντων), οι ετικέτες αναγνώρισης ραδιοσυχνοτήτων RFID και οι αισθητήρες (αερίων, βιοαισθητήρες, έξυπνοι αισθητήρες, αισθητήρες οξυγόνου) που βασίζονται στον φθορισμό (Ogles & Yalcin, 2008). Ως δείκτης ορίζεται μια ουσία που υποδεικνύει την ύπαρξη ή απουσία μιας άλλης ένωσης μέσω μίας χαρακτηριστικής αλλαγής, όπως το χρώμα (Αρβανιτογιάννης & Στρατάκος, 2011). Οι Ellouze και ο Augustin (2010) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα δύο εμπορικών βιολογικών πρωτοτύπων TTI για την πρόβλεψη της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών (*L. monocytogenes*, *Salmonella* και *S. aureus*) σε φέτες βοδινού και κοτόπουλου που συσκευάστηκαν σε MAP. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι σε περίπτωση κακών συνθηκών αποθήκευσης, οι δείκτες TTI θα μπορούν να ενημερώσουν τον καταναλωτή για την έκθεσή του σε αλλοιωμένα ή επικίνδυνα τρόφιμα.

#### **2.2.4 Συσκευασία υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP)**

Η συσκευασία σε MAP περιλαμβάνει την αφαίρεση του εσωτερικού αέρα της συσκευασίας και αντικατάστασή του με αέριο διαφορετικής σύστασης από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Βέβαια, η σύσταση της ατμόσφαιρας στο εσωτερικό της συσκευασίας συνεχώς μεταβάλλεται μέσω της ανταλλαγής αερίων, της αναπνοής ορισμένων τροφίμων και των βιοχημικών αντιδράσεων (Αρβανιτογιάννης & Στρατάκος, 2011).

Τα κοινά αέρια που χρησιμοποιούνται στη MAP είναι το διοξείδιο του άνθρακα (για την αναστολή της βακτηριακής και μυκητιακής ανάπτυξης και τη μείωση του pH), το οξυγόνο (για την πρόληψη της αναερόβιας ανάπτυξης και για να διατηρηθεί το χρώμα του κρέατος, αν και γενικά αποφεύγεται η χρήση του για την πρόληψη ανάπτυξης αερόβιων μικροοργανισμών) και το άζωτο (για να αποφευχθεί η οξείδωση των λιπών και η κατάρρευση της συσκευασίας, λόγω περιορισμένης διαλυτότητάς του στο νερό και τα λίπη) (Παπαδάκης, 2012). Αυτά τα αέρια μπορούν

να εφαρμοστούν μεμονωμένα ή σε συνδυασμό για να επιτευχθεί βέλτιστο αποτέλεσμα, ανάλογα με τις συγκεκριμένες ανάγκες του προϊόντος που συντηρείται (Narasimha & Sachindra, 2002). Οι ατμόσφαιρες εμπλουτισμένες με διοξείδιο του άνθρακα είναι ικανές να καταστέλλουν τους μικροοργανισμούς αερόβιας αλλοίωσης, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις οσμές και τα αρώματα στο κρέας πουλερικών (Zhao et al., 1994). Η καλύτερη ενδεδειγμένη αναλογία αερίων για τα κόκκινα κρέατα είναι 60-80% O<sub>2</sub>, 20- 30% CO<sub>2</sub> και μέχρι 20% N<sub>2</sub>, σε αντίθεση με το κρέας των πουλερικών που η συνιστώμενη αναλογία αερίων είναι 20-35% CO<sub>2</sub> και 65-80% N<sub>2</sub>. (Μπλούκας, 2007). Η συσκευασία φιλέτων κοτόπουλου κάτω από τροποποιημένη ατμόσφαιρα (30%CO<sub>2</sub>/70%N<sub>2</sub>) παρέτεινε τη διάρκεια ζωής τους κατά 6 μέρες και ο συνδυασμός MAP και ριγανέλαιου 0,1% παρέτεινε τη διάρκεια ζωής κατά 9 μέρες. Η συσκευασία σε MAP (70CO<sub>2</sub>/30%N<sub>2</sub>) διατήρησε τα μπιφτέκια κατά 9 μέρες περισσότερο, όπως και ο συνδυασμός MAP με 0,1% ριγανέλαιο (Chouliara et al., 2007).

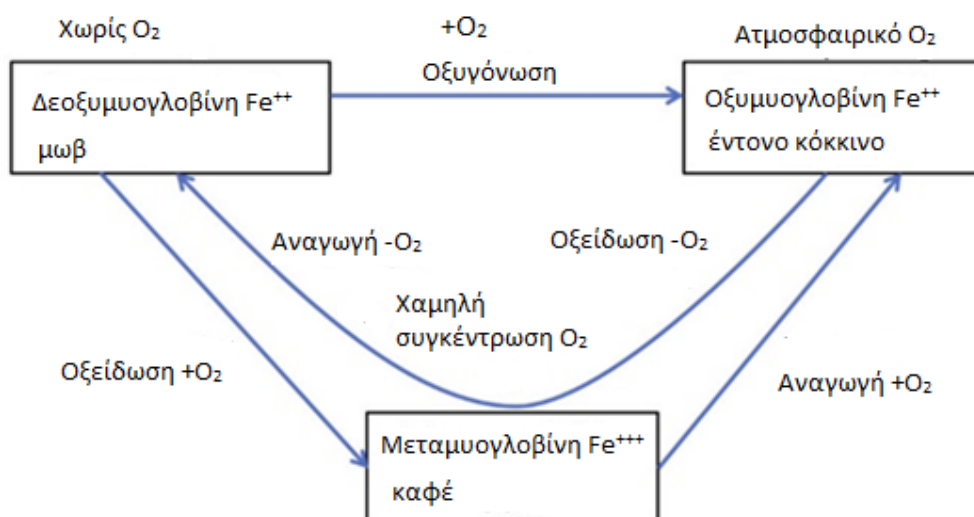
### **2.2.5 Συσκευασία υπό κενό (VP)**

Η συσκευασία υπό κενό συνήθως περιγράφεται ως συσκευασία σε δοχείο, άκαμπτο ή εύκαμπτο, από το οποίο έχει αφαιρεθεί ουσιαστικά όλος ο αέρας πριν από τη σφράγιση της συσκευασίας. Πρόκειται για ένα καλό σύστημα διανομής και μακρύτερης αποθήκευσης νωπού κρέατος. Παρέχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής του προϊόντος και αν το προϊόν ψύχεται σωστά, επιτρέπει την επιστροφή του χρώματος στο κρέας σε έντονο κόκκινο ή ροζ όταν το κρέας αφαιρεθεί από τη συσκευασία κενού και εκτεθεί στο οξυγόνο του περιβάλλοντος. Με καλή συσκευασία κενού, το πολύ χαμηλό επίπεδο οξυγόνου που επιτυγχάνεται, αποτρέπει την ανάπτυξη αερόβιων μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιωμένες γεύσεις και ανεπιθύμητες οσμές. Αυτές οι συνθήκες ενθαρρύνουν επίσης την ανάπτυξη αναερόβιων μικροοργανισμών με την παραγωγή γαλακτικού οξέος.

**1 Torr = 99,9% Κενό = 1,33mbar = 133,3Pa**

Προκειμένου να επιτευχθούν καλύτερα αποτελέσματα από τη συσκευασία κενού, πρέπει να κατανοηθούν οι 3 χημικές μορφές της μυογλοβίνης. Η πρώτη μορφή με την οποία συναντάται αυτή η πρωτεΐνη είναι η δεοξυμυογλοβίνη, όπου το μόριο της αίμης περιέχει ένα άτομο δισθενούς σιδήρου και εμφανίζει ένα σκούρο πορφυρό χρώμα. Το κρέας που βρίσκεται συσκευασμένο σε κενό, συχνά έχει την υπεροχή της μυογλοβίνης σε αυτή τη μορφή. Με την έκθεση του κρέατος στον αέρα ή άλλη πηγή οξυγόνου, η δεοξυμυογλοβίνη αντιδρά με το οξυγόνο για να σχηματίσει την οξυμυογλοβίνη, όπου το μόριο της αίμης περιέχει ένα άτομο δισθενούς σιδήρου και το χρώμα του κρέατος είναι λαμπερό κόκκινο-ροζ. Αυτή η αντίδραση ονομάζεται οξυγόνωση ή "ανθοφορία". Ο βαθμός οξυγόνωσης και συνεπώς το λαμπερό χρώμα του κρέατος, θα πρέπει να διατηρηθούν στο ελάχιστο πριν συσκευαστεί το κρέας, έτσι ώστε σε μεταγενέστερο στάδιο να υπάρχει η δυνατότητα να διατηρηθεί για

μεγαλύτερο χρονικό διάστημα το λαμπερό αυτό χρώμα. Γι' αυτό το λόγο, με την αφαίρεση οξυγόνου, η οξυμογλοβίνη μετατρέπεται πάλι σε δεοξυμογλοβίνη και το κρέας είναι έτοιμο να συσκευαστεί. Η δεοξυμογλοβίνη σε χαμηλά επίπεδα οξυγόνου, μετατρέπεται με αργό ρυθμό σε μεταμογλοβίνη που έχει καστανό χρώμα, δεν μπορεί να δεσμεύσει οξυγόνο και είναι σταθερή. Στο Σχήμα 2. φαίνονται οι μεταβολές της μυογλοβίνης (Kropf, 2004).



**Σχήμα 2.** Μεταβολές της μυογλοβίνης (Kropf, 2004)

Η εμφάνιση της μεταμογλοβίνης σε σύντομο χρονικό διάστημα από την ημερομηνία της συσκευασίας, υποδεικνύει ότι ο βαθμός της αντλίας κενού δεν ήταν επαρκής, ή ότι το υλικό συσκευασίας δεν είχε καλές ιδιότητες φραγμού στο οξυγόνο. Επίσης, μπορεί το κρέας να είχε εκτεθεί για αρκετό χρονικό διάστημα στον ατμοσφαιρικό αέρα μετά την κοπή του και πριν τη συσκευασία του.

Το λευκό κρέας, όπως είναι τα πουλερικά, έχει περισσότερες λευκές μυϊκές ίνες, περιέχει λιγότερη μυογλοβίνη, σχετικά λιγότερα μιτοχόνδρια και λιγότερο αναπτυγμένο αγγειακό σύστημα από ότι το κόκκινο κρέας.

Οι συσκευασίες κενού πρέπει να έχουν καλές ιδιότητες φραγμού τόσο στα αέρια, όσο και στην υγρασία. Τα υλικά είναι συνήθως εύκαμπτα και θερμοσυγκολλώνται. Επιπλέον, πρέπει να είναι ανθεκτικά στις διάφορες μορφές μηχανικής καταπόνησης (διατρήσεις, τριβές, τσακίσματα), να έχουν ιδιότητες εκτύπωσης, να είναι φτηνά και να είναι φιλικά προς το περιβάλλον.

Η συσκευασία υπό κενό μπορεί να επιτευχθεί με διάφορες τεχνικές. Η απλούστερη μέθοδος περιλαμβάνει τη μηχανική κατάρρευση της μεμβράνης γύρω από το προϊόν, χωρίς την επίτευξη ικανοποιητικού κενού στη συσκευασία του προϊόντος.

Στην περίπτωση πλήρωσης του περιέκτη με θερμό προϊόν δημιουργείται επιπλέον κενό όταν το προϊόν ψυχθεί και ο ατμός συμπυκνωθεί (Kropf, 2004).

Η διάρκεια ζωής των συσκευασμένων σε κενό προϊόντων βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στη μικροβιολογική κατάσταση του κρέατος και το πότε αυτό συσκευάστηκε. Οι συνθήκες κενού περιορίζουν σημαντικά την ανάπτυξη αερόβιων μικροβίων, συνεπώς μειώνεται η ανάπτυξη των ψευδομονάδων, που είναι υπεύθυνα για την αλλοίωση του κρέατος υπό αερόβιες συνθήκες και κυριαρχούν τα βακτήρια γαλακτικού οξέος. Οι χαμηλές θερμοκρασίες σε συσκευασία κενού ευνοούν την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων περισσότερο από αυτά του *Brochothrix thermosphacta* και των *Enterobacteriaceae*, τα οποία μπορούν επίσης να αναπτυχθούν και σε αναερόβιες συνθήκες (Kropf, 2004).

Σε μία μελέτη, το βοδινό κρέας από διάφορα σφάγια έδειξε ότι το ποσοστό των στελεχών που αναγνωρίστηκαν ως *Carnobacterium*, είχε μεγάλη διάρκεια αποθήκευσης σε συνθήκες κενού (  $-1,5^{\circ}\text{C}>160$  μέρες,  $2^{\circ}\text{C}>120$  μέρες) (Youssef et al., 2014a). Σε μια άλλη μελέτη αποδείχτηκε πως ο *Lactobacillus* είναι ο κύριος μικροοργανισμός αλλοίωσης σε χοιρινό κρέας συσκευασμένο σε κενό (Blixt & Borch, 2002).

Απουσία των λακτοβάκιλλων, ο *B. thermosphacta* αναπτύσσεται καλά σε συσκευασίες κενού, και υπό συνθήκες όπου η ανάπτυξη των ανταγωνιστικών μικροοργανισμών είναι αργή, τα ψυχρότροφα εντεροβακτήρια αποτελούν σημαντικό τμήμα της μικροχλωρίδας (Roth et al., 1975). Οι Jaaskelainen et al., το 2016 βρήκαν ότι ο *B. thermosphacta* βρισκόταν σε μεγαλύτερο ποσοστό σε υψηλότερα επίπεδα οξυγόνου συσκευασίας MAP σε σχέση με τη VP σε βοδινό κρέας.

Στον Πίνακα 11., φαίνονται οι κύριοι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε κρέας συσκευασμένο σε διαφορετική σύσταση αερίων.

**Πίνακας 11.** Κύριοι μικροοργανισμοί που εμφανίζονται σε συσκευασμένο κρέας με διάφορες αναλογίες αερίων σε  $0-4^{\circ}\text{C}$  (Nychas et al., 2008)

Σύσταση αερίων	Κρέας και πουλερικά
Αέρας	<i>Pseudomonas</i> spp.
>50% CO <sub>2</sub> και O <sub>2</sub>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>
50% CO <sub>2</sub>	<i>Enterobacteriaceae</i> , Οξυγαλακτικά βακτήρια
<50% CO <sub>2</sub> και O <sub>2</sub>	<i>Brochothrix thermosphacta</i> , Οξυγαλακτικά βακτήρια
100% CO <sub>2</sub>	Οξυγαλακτικά βακτήρια
Υπό κενό	<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Shewanella putrefaciens</i>

### 2.3 Εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις

Οι **εδώδιμες επικαλύψεις** αποτελούνται από ένα λεπτό στρώμα βρώσιμου υλικού που τοποθετείται απευθείας στο τρόφιμο, με ψεκασμό, επάλειψη ή με εμπάπτιση του τροφίμου σε αυτό, και θεωρείται μέρος του τελικού προϊόντος (Sanchez-Ortega et al., 2014). Οι **εδώδιμες μεμβράνες** θεωρούνται ως ένα λεπτό στρώμα βρώσιμου υλικού, το οποίο όμως επικαλύπτει το τρόφιμο. Οι βρώσιμες επικαλύψεις εφαρμόζονται σε υγρή μορφή, ενώ οι βρώσιμες μεμβράνες λαμβάνονται ως στερεά φύλλα και στη συνέχεια εφαρμόζονται σε προϊόντα (Falguera et al., 2011). Η ιδέα της χρήσης τους προέκυψε από τις φυσικές μεμβράνες που διαθέτουν κάποια τρόφιμα, όπως φρούτα και κηπευτικά (Αρβανιτογιάννης & Στρατάκος, 2011).

Μια ιδανική εδώδιμη μεμβράνη σχηματίζει ένα λεπτό στρώμα στην επιφάνεια του τροφίμου και παρέχει έναν αποτελεσματικό φραγμό σε υγρασία, αέρια και οσμές. (Tavassoli-Kafrani et al., 2016). Αποτελεί εναλλακτική μέθοδο για την παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων, δρώντας ως εμπόδιο στους παραπάνω παράγοντες, αλλά και για τη δράση των αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Επιπλέον, οι εδώδιμες μεμβράνες διατηρούν την υγρασία στα νωπά κρέατα και μειώνουν την οξείδωση της μυογλοβίνης (Sanchez-Ortega et al., 2014). Στις εδώδιμες μεμβράνες μπορούν να ενσωματωθούν και άλλες ουσίες, όπως ενώσεις αρώματος, αντιοξειδωτικά, αντιμικροβιακοί παράγοντες, χρωστικές, βιταμίνες (Evageliou et al., 2015).

Τα συστατικά που χρησιμοποιούνται ως επί το πλείστον για τη σύνθεση των βρώσιμων μεμβρανών ή επικαλύψεων μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες, οι οποίες περιλαμβάνουν πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες και λιπίδια (Cutter, 2006).

#### Πρωτεΐνες:

Οι πρωτεΐνες τυπικά εμφανίζονται είτε ως ινώδεις πρωτεΐνες είτε ως σφαιρικές πρωτεΐνες. Οι ινώδεις πρωτεΐνες είναι αδιάλυτες στο νερό και λειτουργούν ως πρωταρχικά δομικά υλικά των ζωικών ιστών, ενώ οι σφαιρικές πρωτεΐνες είναι υδατοδιαλυτές και διαλυτές σε υδατικά διαλύματα οξέων, βάσεων ή αλάτων και εκτελούν διάφορες λειτουργίες σε ζώντα συστήματα. Διαφορετικά είδη σφαιρικών πρωτεϊνών όπως, πρωτεΐνη σόγιας, γλουτένη σίτου, πρωτεΐνη ορού γάλακτος και ζεΐνη αραβοσίτου έχουν μελετηθεί για τις ιδιότητές τους στο σχηματισμό μεμβρανών/επικαλύψεων. Η χρήση πρωτεϊνών παρουσιάζει αρκετά σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως καλές μηχανικές (αντοχή και ευκαμψία) και οπτικές (διαφάνεια) ιδιότητες, και σημαντικό φραγμό στα αρώματα, το οξυγόνο και τους οργανικούς ατμούς και επιλεκτική διαπερατότητα σε άλλα αέρια (Gómez-Estaca et al., 2016). Στην πραγματικότητα, ορισμένοι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα φιλμ που βασίζονται σε πρωτεΐνες έχουν ιδιότητες φραγμού, φυσικά,



μηχανικά και θερμικά χαρακτηριστικά παρόμοια με μερικά πλαστικά φιλμ, όπως το πολυβινυλοχλωρίδιο (Kaewprachu et al., 2016; McMillin, 2017). Ωστόσο, όλες αυτές οι ιδιότητες μπορούν να υποβαθμιστούν σε περιβάλλον υψηλής υγρασίας, αφού οι πρωτεΐνες είναι εξαιρετικά υγροσκοπικές (Ribeiro-Santos et al., 2018).

Αντιμικροβιακές μεμβράνες ζελατίνης/αμύλου (1:1) που περιείχαν μονοϋδροχλωρικό αιθυλεστέρα N-α-λαυροϋλ-1-αργινίνης (LAE) (10% κ.β.) χρησιμοποιήθηκαν ως ενεργή συσκευασία σε επαφή με φιλέτα στήθους κοτόπουλου συσκευασμένα σε κενό σε σακούλες πολυαμιδίου/πολυαιθυλενίου. Οι ενεργές επικαλύψεις είτε προστέθηκαν στο στερεό πολυμερές σε πρέσα θερμομορφοποίησης (TP) είτε επιστρώθηκαν στην επιφάνεια εμπορικών πολυμερικών μεμβρανών (OC). Και οι TP-LAE και οι OC-LAE μεμβράνες παρέτειναν τη διάρκεια ζωής των φιλέτων, αλλά οι OC-LAE ήταν πιο αποτελεσματικές (Moreno et al., 2018).

#### Πολυσακχαρίτες:

Οι πολυσακχαρίτες είναι φυσικά πολυμερή, που χρησιμοποιούνται ευρέως για την παρασκευή βρώσιμων μεμβρανών ή επικαλύψεων περιλαμβανομένου του αμύλου, της κυτταρίνης, της πηκτίνης και των παραγώγων όλων αυτών (Krochta, 1997). Οι πολυσακχαρίτες είναι επικαλύψεις που βασίζονται κυρίως στην πρόβλεψη ότι είναι ένας αποτελεσματικός φραγμός οξυγόνου εξαιτίας του καλώς διατεταγμένου δικτύου τους με δεσμούς υδρογόνου, αλλά δεν συμπεριφέρονται καλά ως φραγμός της υγρασίας, επειδή είναι υδρόφιλοι (Yang, 2000). Επιπλέον, είναι ανθεκτικοί στα λίπη και τα έλαια. Οι επικαλύψεις πολυσακχαριτών είναι άχρωμες, έχουν μια ελαιώδη εμφάνιση και μπορούν να εφαρμοστούν για να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής των φρούτων, των λαχανικών, των οστρακοειδών ή των προϊόντων με βάση το κρέας, μειώνοντας σημαντικά την αφυδάτωση, το σκουρόχρωμα της επιφάνειας και την οξειδωτική τάγγιση. Οι Ravishankar et al. (2009), χρησιμοποιώντας πηκτίνη μήλου με υψηλό βαθμό μεθυλίωσης σε στήθος κοτόπουλου μελέτησαν την επίδραση των συνδυασμών πηκτίνης/καρβακρόλης (0,5-3%) και πηκτίνης/κινναμαλδεΐδης (0,5-3%) στην ανάπτυξη των βακτηρίων *Salmonella enterica*, *Serovar enteritidis* και *E. coli* στους 4°C. Αποδείχθηκε ότι η επικάλυψη πηκτίνης/καρβακρόλης (0,5-3%) μείωσε το φορτίο της *S. enteritidis* σε σχέση με το δείγμα αναφοράς κατά 1,6-3 log cfu/g και το φορτίο της *E. coli* κατά 1-3 log cfu/g. Ο συνδυασμός πηκτίνης/κινναμαλδεΐδης (0,5-3%) μείωσε τους παραπάνω πληθυσμούς κατά 1,2-2,8 log cfu/g και 0,2-1,2 log cfu/g αντίστοιχα.

#### Λιπίδια:

Σε αντίθεση με ό, τι συμβαίνει με πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες, η χρήση λιπιδίων για την παρασκευή βιοπολυμερών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση τους. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα λιπίδια είναι μια μεγάλη ομάδα ενώσεων που διαφέρουν σημαντικά στις χημικές τους (υδροφοβικότητα) και στις φυσικές

(στερεές ή υγρές) ιδιότητες, στη δομή τους και στις αλληλεπιδράσεις τους με άλλες ενώσεις (Rhim & Shellhammer, 2005). Επιπλέον, τα λιπίδια έχουν σοβαρούς περιορισμούς για χρήση στην παραγωγή μεμβρανών, λόγω των κακών μηχανικών τους ιδιοτήτων και της λιπαρής εμφάνισής τους (Surut et al., 2015).

Αν και τα λιπίδια δεν χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή μεμβρανών από μόνα τους, είναι συνηθισμένο να συνδυάζονται με άλλους τύπους πολυμερών, όπως πρωτεΐνες ή υδατάνθρακες, που αυξάνουν σημαντικά την αντοχή στη διαπερατότητα στην υγρασία (Mehyar, Al-Ismail, Han, & Chee, 2012).

Στον Πίνακα 12. φαίνονται ορισμένα λειτουργικά συστατικά για την παρασκευή προϊόντων με βάση το κρέας των πουλερικών

**Πίνακας 12.** Κύριες κατηγορίες λειτουργικών συστατικών για την παρασκευή προϊόντων με βάση το κρέας των πουλερικών (Petracci et al., 2013)

<b>Συστατικά για την ενίσχυση της λειτουργικότητας των μυϊκών πρωτεϊνών</b>	<b>Συστατικά με άμεση λειτουργική επίδραση στο σύστημα κρέατος</b>
Χλωριούχο άλας	Φυτικές ενώσεις (φλαβονοειδή, καροτενοειδή)
Φωσφορικά άλατα	Άμυλο (πατάτα, ταπιόκα)
Κιτρικά άλατα	Αλεύρι (δημητριακά)
Ανθρακικά άλατα	Ίνες (κυτταρίνη, λιγνίνη)
	Υδροκολλοειδή (καραγενάνες, αλγινικά)
	Ζωικές ενώσεις (ζελατίνη)
	Παράγωγα κολλαγόνου, πρωτεΐνες αίματος
	Πρωτεΐνες γάλακτος
	Αλβουμίνη αβγού

### 3. Χιτίνη και Χιτοζάνη

#### 3.1 Ιστορική αναδρομή

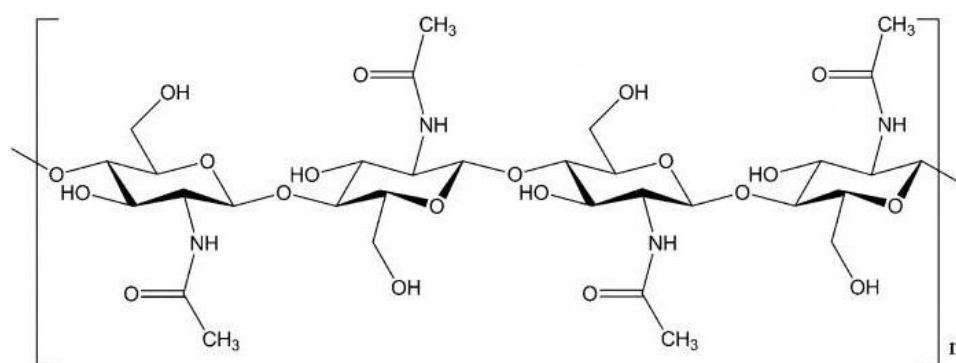
Η πρώτη ιστορική αναφορά για τη χιτίνη έγινε το 1811, όταν ο Henri Braconnot, καθηγητής Χημείας στη Γαλλία, Διευθυντής του Βοτανικού Κήπου και μέλος της Ακαδημίας Επιστημών, κατά τη διάρκεια ερευνών του σε μανιτάρια, απομόνωσε και περιέγραψε μια ουσία (ως το αδιάλυτο κλάσμα του τοιχώματος των μανιταριών), την οποία ονόμασε μυκητίνη (fungine). Ιστορικά, είναι η πρώτη απομόνωση πολυσακχαρίτη. Το 1823, ο Odier βρήκε ένα υλικό με τις ίδιες γενικά ιδιότητες στο έλυτρο των σκαθαριών. Το ονόμασε χιτίνη από την ελληνική λέξη «χιτώνας». Ακολούθως, ο χημικός χαρακτήρας της χιτίνης άρχισε να αποσαφηνίζεται, αφού η

χημική δομή προσδιορίστηκε με περίθλαση ακτίνων Χ και με ενζυμικές αντιδράσεις απαμίνωσης στο πρώτο μισό του 20ου αιώνα.

Η ανακάλυψη της χιτοζάνης αποδόθηκε στον Rouget το 1859, ο οποίος βρήκε ότι βρασμός της χιτίνης με υδροξείδιο του καλίου την καθιστά διαλυτή σε οργανικά οξέα. Ο Γερμανός Χημικός Felix Horpe-Seyler το 1884 ονόμασε την ουσία αυτή χιτοζάνη. Χρειάστηκαν περίπου 100 χρόνια από την πρώτη της εργαστηριακή παρασκευή, για να αποσαφηνιστεί τελικά η δομή της και για να βρεθεί από τον Kieger, το 1954, ότι η χιτοζάνη υπάρχει στη φύση ως συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων του ζυμομύκητα *Phycomyces blakeslecanus* (Qiu, 2008).

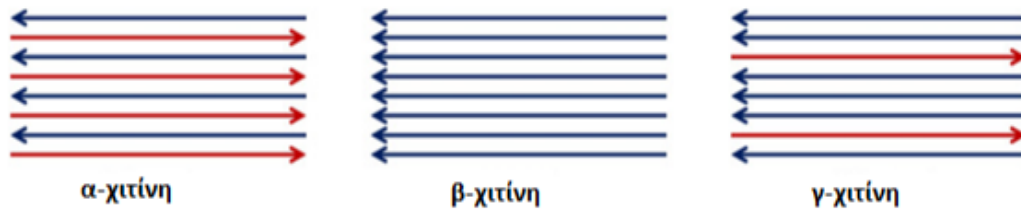
### 3.2 Χιτίνη

Η χιτίνη είναι ένα γραμμικό πολυμερές (πολυ-β-(1,4)- N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης), που μοιάζει με την β-1,4-D-ανυδρογλυκοκυραζονική αλυσίδα της κυτταρίνης, εκτός από την ομάδα ακεταμιδίου στη θέση C-2 υπολείμματος ανυδρογλυκοκυρανοσίδης. (Εικόνα 4.)



**Εικόνα 4.** Χημική δομή της χιτίνης

Η χιτίνη είναι το δεύτερο σε αφθονία βιοπολυμερές στη φύση μετά την κυτταρίνη και η βιοσύνθεσή της έχει υπολογιστεί με  $10^9$  -  $10^{11}$  τόνους ετησίως. Παρόμοια με την κυτταρίνη, η φυσική χιτίνη εμφανίζεται σε ινώδεις κρυσταλλικές δομές, δηλαδή μικροϊνίδια (Ogawa et al., 2010). Αυτό το φυσικό βιοπολυμερές (χιτίνη) μπορεί να παρουσιαστεί σε διαφορετικά δομικά σχήματα, ανάλογα με τη βιολογική του λειτουργία και τη φυσική του προέλευση. Οι μορφές αυτές διαφοροποιούνται ανάλογα με τη διάταξη των υδατανθρακικών αλυσίδων. Η α-μορφή έχει αλυσίδες διατεταγμένες εναλλάξ αντιπαράλληλα. Η β-μορφή έχει όλες τις αλυσίδες παράλληλα και η γ-μορφή έχει δύο αλυσίδες προς μια κατεύθυνση και μια επιπλέον ανεστραμμένη αλυσίδα (Faria et al., 2015). (Εικόνα 5.)



**Εικόνα 5.** Σχηματική αναπαράσταση της πολυμορφικής χιτίνης

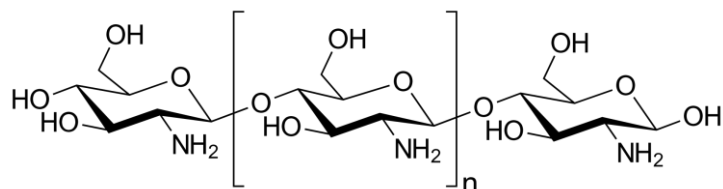
Η α-χιτίνη είναι με διαφορά η πιο άφθονη και βρίσκεται στον εξωσκελετό και τους τένοντες των καρκινοειδών, κυρίως στους αστακούς, στα καβούρια, στις γαρίδες και στο κριλ, στα κυτταρικά τοιχώματα μυκήτων και ζυμών, καθώς και στην επιδερμίδα των εντόμων. Ακόμα, απαντάται και σε άλλους θαλάσσιους οργανισμούς, όπως τα κωνικά σαλιγκάρια και στο φύκι *Phaeocystis*. Οι τελευταίες χιτίνες παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον σε μελέτες κρυσταλλικής δομής, καθώς σε αντίθεση με τις χιτίνες των καρκινοειδών, παρουσιάζουν υψηλή κρυσταλλικότητα και καθαρότητα. Η σπανιότερη β-χιτίνη απαντάται μαζί με πρωτεΐνες, στα καλαμάρια και στους σωλήνες που συντίθενται από τα θαλάσσια σκουλήκια *Pogonophoran* και *Vestimentiferan*. Ακόμα, βρίσκεται στο σκουλήκι *Chaetae* και σε προστατευτικές κατασκευές διαφόρων φυκιών και πρωτόζωων. Μέχρι σήμερα, δεν έχει καταστεί δυνατό να απομονωθεί η β-χιτίνη από διάλυμα ή in vitro βιοσύνθεση (Rinaudo, 2006).

Η χιτίνη μπορεί να βρεθεί με ποικίλους βαθμούς ακετυλίωσης (DA), που κυμαίνονται από πλήρως ακετυλιωμένο έως τελείως αποακετυλιωμένο. Η ακετυλίωση είναι πολύ σημαντική, λόγω των επιδράσεών της στις φυσικές ιδιότητες της χιτίνης. Για παράδειγμα, καθώς αυξάνεται ο βαθμός ακετυλίωσης, ο βαθμός διαλυτότητας στους διαλύτες μειώνεται (Taylor, 2005).

### 3.3 Χιτοζάνη

Η χιτοζάνη είναι ένας ψευδοφυσικός κατιονικός πολυσακχαρίτης υψηλού μοριακού βάρους που αποτελείται από (1-4) -2-αμινο-2-δεοξυ-β-γλυκάνη (Yuan et al., 2016) (Εικόνα 6.) και συνήθως αναφέρεται σε μία οικογένεια παραγώγων χιτίνης που έχουν ληφθεί μετά από μερική αποακετυλίωση, δηλαδή απομάκρυνση των ακετυλομάδων και αντικατάστασή τους με άτομα υδρογόνου (Younes et al., 2014). Ο βαθμός ακετυλίωσης της χιτοζάνης χαρακτηρίζεται από το μοριακό κλάσμα των N-ακετυλιωμένων μονάδων (DA) ή ως ποσοστό ακετυλίωσης (DA%). Όταν ο βαθμός ακετυλίωσης είναι μικρότερος από 0,5 (50%), η χιτοζάνη γίνεται διαλυτή σε όξινα υδατικά διαλύματα λόγω της πρωτονίωσης της ομάδας  $NH_2$  στη θέση C-2 των μονάδων γλυκοζαμίνης (Tolaimate et al., 2006; Younes et al., 2014). Η

αποακετυλίωση της χιτίνης για την παραγωγή χιτοζάνης επιτυγχάνεται γενικά με τρεις διαφορετικές μεθόδους: χημικές (θερμές αλκαλικές), μικροβιακές και ενζυμικές μεθόδους. Στις ενζυμικές και μικροβιακές μεθόδους, ένζυμα και μικροοργανισμοί, αντίστοιχα, η αποακετυλιώνουν τη χιτίνη (Tan et al., 2015).



Εικόνα 6. Χημική δομή της χιτοζάνης

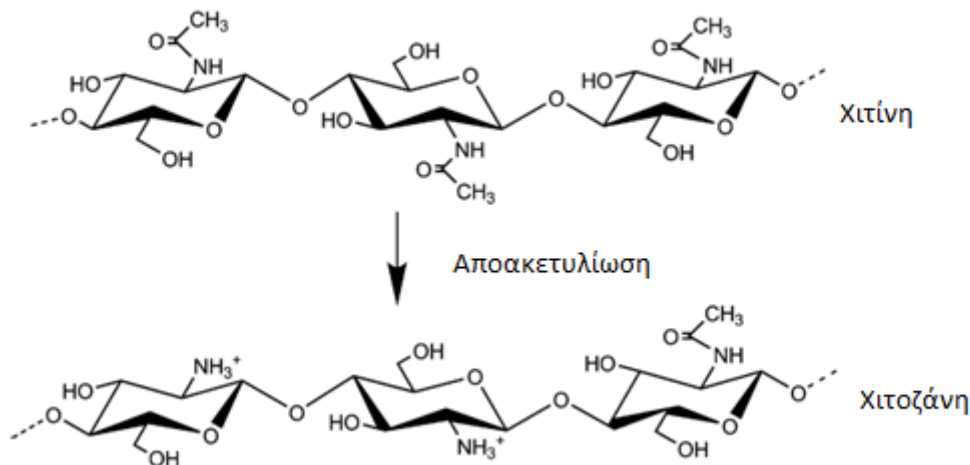
### 3.3.1 Παραγωγή της χιτοζάνης

Η διαδικασία εκχύλισης της χιτοζάνης περιλαμβάνει τρία σημαντικά στάδια όπως αφαλάτωση, αποπρωτονίωση και αποακετυλίωση. Μπορεί να προστεθεί ένα προαιρετικό στάδιο αποχρωματισμού για την εξάλειψη της χρωστικής, κυρίως της ασταξανθίνης και του β-καροτινίου, χρησιμοποιώντας διάφορους οργανικούς και ανόργανους διαλύτες, όπως υποχλωριώδες νάτριο, ακετόνη και υπεροξείδιο του υδρογόνου (Kumirska et al., 2010; Kumari et al., 2015; Srinivasan et al., 2017).

Αφαλάτωση: αυτό το βήμα πραγματοποιείται σε αραιό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl), συνίσταται στην εξάλειψη του ανθρακικού ασβεστίου και χλωριούχου ασβεστίου, που αποτελούν τις κύριες ανόργανες ενώσεις του εξωσκελετού των καρκινοειδών. Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης πέψης, η εκπομπή αερίου CO<sub>2</sub> είναι περισσότερο ή λιγότερο ένας σημαντικός δείκτης της περιεκτικότητας σε ιχνοστοιχεία. Τα προκύπτοντα υλικά στη συνέχεια διηθούνται, πλένονται με αποσταγμένο νερό και στη συνέχεια ξηραίνονται σε φούρνο για 24 ώρες.

Αποπρωτονίωση: η αποπρωτονίωση διεξάγεται με αλκαλική επεξεργασία χρησιμοποιώντας αραιό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες. Το μίγμα διηθείται, πλένεται αρκετές φορές με απιονισμένο νερό για να απομακρυνθεί η περίσσεια NaOH και στη συνέχεια ξηραίνεται σε φούρνο για 24 ώρες. Το προϊόν που λαμβάνεται χαρακτηρίζεται ως καθαρισμένη χιτίνη.

Αποακετυλίωση: αυτό το βήμα συνίσταται στη μετατροπή της χιτίνης σε χιτοζάνη με απομάκρυνση της ακετυλομάδας. Η παρασκευή της χιτοζάνης γενικά επιτυγχάνεται με επεξεργασία με πυκνό διάλυμα NaOH ή KOH σε αυξημένη θερμοκρασία. Μετά την αντίδραση, το παραγόμενο υλικό πλένεται αρκετές φορές με αποσταγμένο νερό και κατόπιν ξηραίνεται σε φούρνο για 24 ώρες. (Εικόνα 7.)



**Εικόνα 7.** Αποακετυλίωση της χιτίνης και παραγωγή χιτοζάνης

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η χιτοζάνη λαμβάνεται με χημικές, μικροβιακές και ενζυμικές μεθόδους εκχύλισης. Οι χημικές μέθοδοι περιλαμβάνουν τη χρήση ισχυρών οξέων και βάσεων για τη διάλυση ανθρακικού ασβεστίου και πρωτεϊνών αντίστοιχα. Παρά τα πολλά μειονεκτήματα των χημικών μεθόδων, ο σύντομος χρόνος εκχύλισης, τις καθιστά εμπορικώς χρησιμοποιούμενες διαδικασίες.

Για να αποφευχθούν όξινες και αλκαλικές συνθήκες εκχύλισης, οι οποίες είναι επικίνδυνες για το περιβάλλον, οι βιολογικές συνθήκες προσφέρουν έναν εναλλακτικό τρόπο για να εξαχθεί η χιτίνη και η χιτοζάνη. Τα βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ και οι πρωτεάσες από βακτήρια έχουν χρησιμοποιηθεί για τα στάδια της αφαλάτωσης και της αποπρωτονίωσης. Η αποακετυλίωση της χιτίνης πραγματοποιείται με ενζυμικές μεθόδους, με τη χιτινική αποκετυλάση.

### **3.3.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της χιτοζάνης**

Τα χαρακτηριστικά της εκχυλισμένης χιτοζάνης διαφέρουν ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης και την πηγή από την οποία απομονώθηκε η χιτίνη. Στις χημικές μεθόδους απαιτείται υψηλή θερμοκρασία, η οποία τείνει να αυξήσει το βαθμό αποακετυλίωσης και τη διαλυτότητα, ενώ παράλληλα συμβαίνει θερμική αποικοδόμηση της χιτοζάνης και οι μοριακές αλυσίδες αποσυντίθενται γρήγορα κι έτσι μειώνεται το μοριακό βάρος της.

Στη στερεή κατάσταση, η χιτοζάνη είναι ημικρυσταλλική και έχει πολλούς τύπους ενδομοριακών και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου. Οι δεσμοί αυτοί δημιουργούνται μεταξύ της υδροξυλομάδας σε ένα υπόλειμμα αμινογλυκόζης και ενός ατόμου οξυγόνου στο γλυκοσιδικό δεσμό (Ogawa et ., 2004). Η κρυσταλλικότητα της χιτοζάνης εξαρτάται από το βαθμό αποακετυλίωσης (DD). Επιπλέον, όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός αυτός, τόσο μεγαλύτερη είναι και η διαλυτότητα της χιτοζάνης υπό όξινες συνθήκες. Το θετικό φορτίο είναι υψηλότερο

και έτσι η χιτοζάνη αποκτά μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση (Tolaimate et al., 2003).

Η χιτοζάνη στην κρυσταλλική της μορφή είναι αδιάλυτη σε υδατικό διάλυμα με τιμή pH μεγαλύτερη του 7, ενώ είναι διαλυτή υπό όξινες συνθήκες και παραμένει διαλυτή, αρκεί το pH να διατηρείται κάτω από 6-6,5. Με την αύξηση του pH, οι περισσότερες μορφές της χιτοζάνης είναι αδιάλυτες και ξεκινάει η καθίζηση. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η διαλυτότητα της χιτοζάνης εξαρτάται από το βαθμό αποεκυλίωσης, αλλά και από την κατανομή των ακετυλομάδων κατά μήκος της κύριας αλυσίδας και του μοριακού βάρους (Kubota et al., 1997). Σε μια έρευνα εξετάστηκε ο ρόλος της πρωτονίωσης της χιτοζάνης, παρουσία οξικού και υδροχλωρικού οξέος στην υδροφοβικότητα και βρέθηκε πως ο βαθμός ιονισμού εξαρτάται από το pH και το pKa του οξέος (Rinaudo et al., 1999). Η διαλυτότητα της χιτοζάνης δοκιμάζεται συνήθως σε οξικό οξύ 0,1M. Το pKa των αμινομάδων της γλυκοζαμίνης είναι περίπου 6,5, πράγμα που σημαίνει ότι η πλειονότητά τους θα πρωτονιωθεί και ότι το πολυμερές της χιτοζάνης θα έχει καθαρό θετικό φορτίο.

Η μείωση του μοριακού βάρους μπορεί να βελτιώσει τη διαλυτότητα. Με ισχυρή επεξεργασία το μοριακό βάρος ελαττώνεται και κυμαίνεται συνήθως από 100 kDa έως 1500 kDa (Beaulieu, 2005). Συνήθως κυμαίνεται από 300 kDa έως και πάνω από 1000 kDa, με βαθμό αποακετυλίωσης 30-95%.

### **3.3.3 Αντιμικροβιακές ιδιότητες της χιτοζάνης**

Η χιτοζάνη αναστέλλει την ανάπτυξη ζυμών, βακτηρίων και μυκήτων, με λιγότερο αποτελεσματική δράση στους μύκητες (Ziani et al., 2009). Έχει δράση σε θετικά κατά Gram βακτήρια (π.χ. *S. aureus*, *L. innocua* και σε βακτήρια γαλακτικού οξέος), καθώς και σε αρνητικά κατά Gram (π.χ. *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella spp.*) (Wang et al., 2018).

Οι πιθανοί μηχανισμοί της δράσης της χιτοζάνης έχουν ως εξής:

1. Τα θετικά φορτισμένα μόρια της χιτοζάνης παρεμβαίνουν στα αρνητικά φορτισμένα μόρια των μακρομορίων στην κυτταρική μεμβράνη και η αλληλεπίδραση αυτή μεταβάλλει τη διαπερατότητα του κυττάρου (Severino et al., 2015)
2. Η χιτοζάνη χαμηλού μοριακού βάρους μπορεί να εισέλθει στον πυρήνα του κυττάρου και να εμποδίσει τη μεταγραφή του RNA από το DNA, λόγω της προσρόφησης σε μόρια DNA.
3. Η χιτοζάνη αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροβίων, καθώς λειτουργεί ως χηλικός παράγοντας δεσμεύοντας τα μέταλλα στα κύτταρα των μικροοργανισμών (Yuan et al., 2016).

Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα της χιτοζάνης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως το pH, το είδος των μικροοργανισμών, τα γειτονικά στοιχεία (μεταλλικά ιόντα, όπως  $MgCl_2$ , ανόργανα κατιόντα, όπως  $Na^{2+}$ ) το μοριακό βάρος, ο βαθμός αποακετυλίωσης, η μορφή της χιτοζάνης (παράγωγο της χιτοζάνης με αλκυλιωμένους δισακχαρίτες, υδατοδιαλυτό παράγωγο της χιτοζάνης με μαλτόζη), η αρχική πηγή (κελύφη καρκινοειδών) και η συγκέντρωση (Hosseinnejad et al., 2016).

Όσον αφορά το pH, η χιτοζάνη έχει καλύτερη δράση όταν αυτό είναι χαμηλό, γεγονός που οφείλεται στο ότι οι αμινομάδες της ιονίζονται όταν το pH είναι χαμηλότερο από 6 και η χιτοζάνη γίνεται διαλυτή, ενώ σε μεγαλύτερο pH, καθιζάνει (Chen et al., 1998). Σε μια μελέτη, οι Chang et al., (2015), διαπίστωσαν πως με αύξηση της θερμοκρασίας και μείωση του pH, αυξήθηκε η αντιμικροβιακή δραστηριότητα και οι μακριές αλυσίδες της χιτοζάνης ήταν πιο αποτελεσματικές. Επίσης, όταν το μοριακό βάρος της χιτοζάνης είναι μικρότερο (κάτω από 10kD), αυξάνεται και η αντιμικροβιακή της δράση, καθώς γίνεται πιο εύκολη η προσρόφηση της χιτοζάνης στην κυτταρική μεμβράνη. Οι Ye et al., το 2008, ανέφεραν πως οι μεμβράνες με χιτοζάνη χαμηλού μοριακού βάρους ήταν πιο αποτελεσματικές ενάντια στη *L. monocytogenes* έναντι των μεμβρανών με μεσαίο μοριακό βάρος. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, η χιτοζάνη δεσμεύεται στα αρνητικά φορτισμένα μακρομόρια της κυτταρικής επιφάνειας, προκαλείται η λύση του κυττάρου και η διαρροή των ενδοκυτταρικών συστατικών, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις, δρα σαν επικάλυψη και έτσι εμποδίζει τη διαρροή των συστατικών (Lim, 2004). Επιπρόσθετα, όταν η χιτοζάνη συνδυάζεται και με άλλους παράγοντες, όπως για παράδειγμα αιθέρια έλαια, αυξάνεται η αντιμικροβιακή της δράση. Οι Higuera et al., (2015), ενσωμάτωσαν το σύμπλοκο υδροξυπροπυλ-β-κυκλοδεξτρίνης και καρβακρόλης σε μεμβράνες χιτοζάνης και διαπιστώθηκε η αντιβακτηριακή δράση έναντι του *S. aureus* και *E. coli* μετά από 20 μέρες αποθήκευσης στους 25°C και 43% σχετική υγρασία. Ένας άλλος τρόπος ενίσχυσης της αντιμικροβιακής δράσης είναι η ενίσχυση του θετικού φορτίου με άλλα πιο θετικά φορτισμένα μόρια και παράγωγα χιτοζάνης όπως καρβοξυμεθυλο-χιτοζάνη, υδροχλωρίδιο της χιτοζάνης και άλλα. Όσο αφορά το είδος των μικροοργανισμών, στα θετικά κατά Gram βακτήρια, η χιτοζάνη δεσμεύεται μη ομοιοπολικά με τα ανιονικά τειχοϊκά οξέα που ενσωματώνονται στο στρώμα πεπτιδογλυκάνης (Raafat et al., 2008). Τα τειχοϊκά οξέα διαθέτουν φωσφορικές ομάδες και ελέγχουν την ενζυμική δραστηριότητα και τη συγκέντρωση των κατιόντων στην επιφάνεια του κυττάρου (Xia et al., 2010). Η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση που δημιουργείται μεταξύ της θετικά φορτισμένης χιτοζάνης και των αρνητικά φορτισμένων οξέων, διαταράσσει τη λειτουργία τους και συνεπώς και τη λειτουργία του κυττάρου. Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια πιστεύεται πως στην εξωτερική μεμβράνη υπάρχει το φαινόμενο της δέσμευσης της χιτοζάνης με κατιόντα, όταν το pH είναι πάνω από το



pKa (Bassi et al., 1999) και δημιουργείται μεμβράνη, η οποία παρεμποδίζει την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και ιχνοστοιχείων (Goy et al., 2009). Επίσης, υπάρχει και η πιθανότητα της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης της χιτοζάνης με τον αρνητικά φορτισμένο λιποπολυσακχαρίτη στην εξωτερική μεμβράνη (Helander et al., 2001). Κανένας όμως από τους δύο μηχανισμούς δεν είναι βέβαιος. Οι Goy et al., (2016) έκαναν μια μελέτη στην οποία χρησιμοποίησαν εμπορική χιτοζάνη υποβάλλοντάς την σε διαδικασία τεταρτοταγοποίησης και αξιολόγησαν το αρχικό πολυμερές, καθώς και το παράγωγό του σε μορφή πηκτής, έναντι του *S. aureus* (θετικό κατά Gram) και *E. coli* (αρνητικό κατά Gram). Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγαλύτερη μείωση στο θετικό κατά Gram *S. aureus*. Ο βαθμός αποακετυλίωσης είναι ακόμα μία ένδειξη της αντιμικροβιακής δραστηριότητας της χιτοζάνης, δηλαδή όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός, τόσο αυξάνεται και η δράση του πολυσακχαρίτη. Οι Takashashi et al., (2008) βρήκαν πως η χιτοζάνη με υψηλότερο βαθμό αποακετυλίωσης ανέστειλε επιτυχώς την ανάπτυξη του *S. aureus* που διερευνήθηκε με δύο μεθόδους (χρήση άγαρ άλατος μαννιτόλης και αγωγιμετρικά). Τέλος, η πηγή της χιτοζάνης επηρεάζει και αυτή την αντιμικροβιακή της δραστηριότητα. Οι Chien et al., (2016) βρήκαν πως η χιτοζάνη που προερχόταν από το μανιτάρι shiitake παρουσίασε εξαιρετικές αντιμικροβιακές δραστηριότητες έναντι οχτώ ειδών Gram θετικών και αρνητικών παθογόνων βακτηρίων, ενώ η χιτοζάνη από τα κελύφη καβουριού, παρουσίασε πιο ήπια δραστηριότητα.

### **3.3.4 Βιολογικές και βιομηχανικές εφαρμογές**

Η χιτοζάνη είναι βιοαποικοδομήσιμη, μη τοξική και μη αλλεργιογόνα, και έχει καλές ιδιότητες σχηματισμού μεμβρανών και επικαλύψεων σε υλικά συσκευασίας τροφίμων, καθώς έχει χαμηλή διαπερατότητα στο οξυγόνο και στους υδρατμούς (Surut et al., 2015). Επιπλέον, οι βρώσιμες επικαλύψεις μειώνουν την αναπνοή, επιβραδύνουν την παραγωγή αιθυλενίου, συγκρατούν τα πτητικά αρώματα και μπορούν να συνδυαστούν και με άλλα λειτουργικά πρόσθετα που καθυστερούν την ανάπτυξη μικροβίων και τον αποχρωματισμό των φυτικών τροφίμων (Coma, 2008).

Το γεγονός ότι η δομή των πολυσακχαριτών είναι γραμμική, καθιστά τις μεμβράνες τους σκληρές, εύκαμπτες και διαφανείς (Tharanathan, 2003). Οι μεμβράνες παρουσιάζουν αντοχή στα λίπη και στα έλαια και επιλεκτική διαπερατότητα στα αέρια, αλλά δεν έχουν αντοχή στη μεταφορά του νερού (Bordenave et al., 2007). Για τη βελτίωση των ιδιοτήτων φραγμού στην υγρασία, η χιτοζάνη συνδυάζεται με λιπαρά οξέα. Για παράδειγμα η μεμβράνη χιτοζάνης με λαυρικό οξύ παρουσίασε καλύτερο φραγμό στην υγρασία από ότι η χιτοζάνη με παλμιτικό ή στεατικό οξύ (Wong et al., 1992). Επίσης, οι μεμβράνες που παράγονται με χρήση διαλύματος οξικού οξέος, σε σύγκριση με τα διαλύματα γαλακτικού, μηλικού ή κιτρικού οξέος, παρουσιάζουν καλύτερη αντοχή σε εφελκυσμό (Kerch et al., 2011). Η ενσωμάτωση ελαιόλαδου ή αραβοσιτέλαιου ως πλαστικοποιητές στη χιτοζάνη, αύξησε τις

ιδιότητες φραγμού στην υγρασία και το οξυγόνο σύμφωνα με τους Giannakas et al., (2017).

Εκτός από τις εφαρμογές στα τρόφιμα, η χιτοζάνη εφαρμόζεται και στη βιοϊατρική, στη φαρμακευτική, στα καλλυντικά, στην επεξεργασία λυμάτων και τη γεωπονία (Πίνακας 13).

**Πίνακας 13.** Εφαρμογές της χιτοζάνης ανά πεδίο

<b>Πεδίο</b>	<b>Εφαρμογές</b>
Βιοϊατρική	-Ελεγχόμενη αποδέσμευση δραστικών ουσιών -Χειρουργικά ράμματα -Οδοντικά μοσχεύματα -Τεχνητό δέρμα -Επανοικοδόμηση ιστού -Υποκατάστατο δακρύων στην οφθαλμολογία
Φαρμακευτική	-Ανοσοποιητικό -Αντικαρκινικό -Βακτηριοστατικό -Αιμοστατικό -Αντιθρομβωτικό
Καλλωπισμός	-Ενυδάτωση δέρματος -Αντιμετώπιση ακμής -Βελτίωση ελαστικότητας μαλλιών -Στοματική φροντίδα (οδοντόκρεμα)
Τρόφιμα	-Δέσμευση λιπιδίων (μείωση χοληστερόλης) -Διαιτητική ίνα -Συντηρητικό -Γαλακτωματοποιητής -Σταθεροποιητής για σάλτσες -Αντιμικροβιακές συσκευασίες
Επεξεργασία λυμάτων	-Κροκιδωτικό μέσο για τον καθαρισμό του νερού -Απομάκρυνση μεταλλικών ιόντων -Απομάκρυνση οσμών
Γεωργία	-Φυσικό φυτοφάρμακο -Επίστρωση σπόρων για προστασία από παγετό -Υποκίνηση ανάπτυξης φυτών -Ελεγχόμενη απελευθέρωση λιπασμάτων και θρεπτικών συστατικών από το έδαφος

## **ΣΤ. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

### **1. Ποιότητα του κρέατος των πουλερικών**

Η ποιότητα του κρέατος είναι ένα άθροισμα από διάφορα γνωρίσματα που δηλώνουν ότι ένα δείγμα κρέατος είναι καλύτερο από ένα άλλο. Η ποιότητα του κρέατος επηρεάζεται από την προέλευση του (ράτσα, τρόπο εκτροφής), τη μεταχείρισή του πριν τη σφαγή, τη θρεπτική του αξία, τον τρόπο επεξεργασίας, τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, τον τρόπο συντήρησης και συσκευασίας. Την ποιότητα του κρέατος προσδιορίζουν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (pH, οξύτητα, περιεκτικότητα σε λίπος, υγρασία, πρωτεΐνες κ.α.), τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά (Ο.Μ.Χ., ψευδομονάδες κ.α.) και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση, χρώμα κ.α.).

#### **1.1 Φυσικοχημικός έλεγχος**

##### **1.1.1 Καρβονυλικό περιεχόμενο (CC)**

Η καρβονυλίωση των πρωτεϊνών και ο σχηματισμός βάσεων Schiif ή προϊόντων από την αντίδραση Michael προκύπτουν από αντιδράσεις των πρωτεϊνών με τις αλδεΐδες που προκύπτουν από την οξείδωση των λιπιδίων (Gatellier et al., 2010). Ο σχηματισμός των καρβονυλίων θεωρείται χρήσιμος γενικός δείκτης για την αξιολόγηση του επιπέδου οξείδωσης των πρωτεϊνών στο κρέας. Οι καρβονυλικές ενώσεις ανιχνεύονται μετά από αντίδραση με 2,4 δινιτροφαινυλδραζίνη (DNPH) για το σχηματισμό 2,4-δινιτροφαινυλδραζονών (Grossi et al., 2014). Οι υδραζόνες ποσοτικοποιούνται φασματοφωτομετρικά με μέτρηση της απορρόφησης του DNPH στα 370nm.

##### **1.1.2 Αριθμός υπεροξειδίων (PV)**

Ο αριθμός υπεροξειδίων (PV) είναι ένα μέτρο των ολικών υπεροξειδίων που είναι υπεύθυνα για τις αρνητικές οσμές που προκαλούνται από την οξείδωση των λιπιδίων και είναι σημαντικός για τον προσδιορισμό του επιπέδου οξείδωσής τους (Gotoh et al., 2011). Η ανίχνευση γίνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 500nm.

##### **1.1.3 Αριθμός θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)**

Η μέθοδος θειοβαρβιτουρικού οξέος είναι ένα μέτρο της οξείδωσης των λιπιδίων στις μυϊκές τροφές (Gomez et al., 2003). Η δοκιμή TBA προσδιορίζει την περιεκτικότητα του τροφίμου σε μηλονική διαλδεΐδη (MDA), η οποία ανιχνεύεται φασματοφωτομετρικά στα 532-538nm.

#### **1.1.4 Ολικό πτητικό άζωτο (TVB-N)**

Το ολικό πτητικό άζωτο χρησιμοποιείται ως δείκτης αλλοίωσης του κρέατος και αποτελείται κυρίως από αμμωνία, πρωτοταγείς, δευτεροταγείς και τριτοταγείς αμίνες (Kuswandi & Nurfawaidi, 2017). Η παραγωγή του οφείλεται στη δράση αλλοιογόνων μικροοργανισμών και ενδογενών ενζύμων. Προσδιορίζεται κατόπιν απόσταξης, με τιτλοδότηση διαλύματος HCl.

#### **1.1.5 Τριμεθυλαμίνη (TMA)**

Η τριμεθυλαμίνη είναι παράγωγο της αποκαρβοξυλίωσης των αμινοξέων με τη δράση αλλοιογόνων μικροοργανισμών και ενδογενών ενζύμων. Προσδιορίζεται κατόπιν απόσταξης, με τιτλοδότηση οξέος.

### **1.2 Μικροβιολογικός έλεγχος**

Όπως έχει αναφερθεί στο Κεφάλαιο Γ, ο έλεγχος της μικροβιολογικής ποιότητας του κρέατος γίνεται με μέτρηση του μικροβιακού φορτίου που φέρει το προϊόν (Ολική μεσόφιλη χλωρίδα, γαλακτικά βακτήρια, ψευδομονάδες κ.α.).

### **1.3 Οργανοληπτικός έλεγχος**

Η οργανοληπτική αξιολόγηση περιλαμβάνει ένα σύνολο τεχνικών για την ακριβή μέτρηση των προτιμήσεων των καταναλωτών (Lawless & Heymann, 1998). Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν την εμφάνιση, την οσμή, τη γεύση και την υφή, τα οποία και εκτιμώνται με βάση τις αισθήσεις των ανθρώπων. Υπάρχει ένας περιορισμένος αριθμός διεθνώς αποδεκτών προτύπων για τις γενικές μεθόδους οργανοληπτικής ανάλυσης, όπως: γενικές οδηγίες (ISO 6658, 1985), διαδικασίες επιλογής δοκιμαστών και καταρτισμένων ομάδων (ISO 8586, 1993) και οργανοληπτικές δοκιμές (ISO 1036, 1994). Αυτά τα πρότυπα επιτρέπουν την επιλογή, τη βασική κατάρτιση των αξιολογητών και την εφαρμογή οργανοληπτικών μεθόδων, έτσι ώστε να περιγραφούν οι διαφορές μεταξύ των προϊόντων διατροφής και να αξιολογηθεί η ποιότητά τους.

#### **1.3.1 Τρόπος διεξαγωγής οργανοληπτικού ελέγχου**

Οι δοκιμές που αξιολογούν το προϊόν χωρίζονται σε υποκειμενικές και αντικειμενικές. Οι αντικειμενικές δοκιμές εκτιμούν διαφορές ή ομοιότητες συγκεκριμένων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του προϊόντος χρησιμοποιώντας συγκεκριμένη οργανολογία (αέρια χρωματογραφία, φασματομετρία μάζας κ.α.). Οι υποκειμενικές δοκιμές διακρίνονται σε δοκιμές αποδοχής, διαφοροποίησης και περιγραφής. Στις δοκιμές αποδοχής απαιτούνται πάνω από 50 μη εκπαιδευόμενοι δοκιμαστές-καταναλωτές. Στις δοκιμές διαφοροποίησης χρειάζονται 15-25 ημι-εκπαιδευόμενοι κριτές, ενώ στις περιγραφικές δοκιμές χρειάζονται 7-11 πολύ εκπαιδευμένοι κριτές. Οι δοκιμές αποδοχής παρέχουν πληροφορίες σχετικά με το

βαθμό αποδοχής ενός προϊόντος από τους καταναλωτές και χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων για να καθορίσουν: α) εάν αρέσει στους καταναλωτές ένα προϊόν, β) εάν προτιμούν κάποιο προϊόν έναντι κάποιου άλλου και γ) εάν σκοπεύουν να χρησιμοποιήσουν κάποιο προϊόν. Οι δοκιμές διαφοροποίησης χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση μικρών διαφορών στα τρόφιμα και απαντούν στις ακόλουθες ερωτήσεις: α) υπάρχει κάποια διαφορά ή ομοιότητα;, β) θα παρατηρούσαν οι καταναλωτές τη διαφορά; και γ) πως θα περιγράφατε τη διαφορά; Τέλος, οι περιγραφικές δοκιμές χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν τα αισθητήρια χαρακτηριστικά των προϊόντων. Απαντούν στις ερωτήσεις: α) ποια είναι η γεύση του προϊόντος;, β) ποια είναι τα αντιληπτά αισθητήρια χαρακτηριστικά του; και γ) πως μια αλλαγή στη μεταποίηση/συσκευασία/αποθήκευση επηρεάζει την ποιότητα του προϊόντος;

Κατά τη δοκιμή με τους καταναλωτές, είναι σημαντικό να αποφασιστεί ο πληθυσμός πάνω στον οποίο η μελέτη θα βγάλει τα συμπεράσματά της. Τα εξεταζόμενα δείγματα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικά του πληθυσμού για τον οποίο προορίζεται το προϊόν. Τα προϊόντα που καταναλώνονται συνήθως μπορούν να δοκιμαστούν από το γενικό πληθυσμό, χωρίς να έχει μείζων σημασία το φύλο, η ηλικία, ή η μάρκα, ενώ με εξειδικευμένα προϊόντα, απαιτείται και συγκεκριμένος πληθυσμός δοκιμαστών (Civille et al., 2012). Ένα από τα πιο σημαντικά θέματα σχετικά με τις δοκιμές είναι ότι πρέπει να διασφαλιστεί πως οι δοκιμαστές δε γνωρίζουν την ταυτότητα των προϊόντων, γεγονός που συνεπάγεται την απαραίτητη κωδικοποίηση των προϊόντων. Οι δοκιμαστές πρέπει να υπακούουν στις οδηγίες που τους παρέχονται για την οργανοληπτική εξέταση. Δηλαδή να μην καπνίζουν κατά τη δοκιμασία, να μην έχουν καταναλώσει τις προηγούμενες 2 ώρες φαγητό, να είναι συγκεντρωμένοι στην ανάλυση, όχι αγχωμένοι ασθενείς κ.τ.λ. Για την καλύτερη αξιοπιστία και εγκυρότητα των αποτελεσμάτων, στις βιομηχανίες γίνεται επαλήθευση των δοκιμών. Οι δοκιμαστές συνήθως ξεπλένουν το στόμα τους μεταξύ διαδοχικών δειγμάτων με νερό θερμοκρασίας δωματίου ή με τρόφιμα ουδέτερης γεύσης (π.χ. ανάλατα κράκερ).

Η δεύτερη πτυχή που πρέπει να αξιολογηθεί είναι ο χώρος που θα διεξαχθεί η δοκιμή (Εικόνα 8). Ωστόσο, ο ερευνητής πρέπει να δοκιμάσει το τελικό προϊόν, τόσο σε ελεγχόμενο όσο και σε οικιακό περιβάλλον. Στον εργαστηριακό χώρο, θα πρέπει να υπάρχει ένας χώρος προετοιμασίας και σερβιρίσματος των προϊόντων, μια αποθήκη όπου βρίσκονται τα υπό εξέταση προϊόντα, ένας θάλαμος εκπαίδευσης, δορυφορικές εγκαταστάσεις, ελεγχόμενος κλιματισμός και ένα διοικητικό γραφείο. Στο χώρο προετοιμασίας βρίσκονται συνήθως το ψυγείο, η κουζίνα, ο φούρνος μικροκυμάτων, μίξερ κ.α. Κατά το σερβίρισμα υπάρχει κατάλληλος εξοπλισμός, όπως πλαστικά πιάτα, πιρούνια/κουτάλια και ποτήρια για να γίνει η δοκιμή. Η θερμοκρασία θα πρέπει να διατηρείται στους 20-25°C, όπως και η σχετική υγρασία RH=50-55%, ο φωτισμός να είναι συγκεκριμένος και ο χώρος καλά αεριζόμενος

απαλλαγμένος από οσμές. Η τοποθεσία πρέπει να πληροί τις συνθήκες υγιεινής και επιπλέον είναι καλό να υπάρχει ησυχία κατά τη διάρκεια της εξέτασης για να μην αποσπά την προσοχή από τους δοκιμαστές.



**Εικόνα 8.** Χώρος του οργανοληπτικού ελέγχου από τους δοκιμαστές

Η τρίτη πτυχή που εξετάζεται είναι το είδος του προϊόντος που θα δοκιμαστεί και πόση προετοιμασία απαιτείται πριν τη δοκιμή. Τα δείγματα που παρουσιάζονται πρέπει να προσφέρονται στην ίδια θερμοκρασία και να είναι επαρκή ως προς την ποσότητα. Επιπλέον, είναι απαραίτητο να έχουν ομοιόμορφο χρώμα, σχήμα και μέγεθος.

#### **1.4 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά**

##### **1.4.1 Χρώμα και εμφάνιση**

Το χρώμα και η εμφάνιση του κρέατος δημιουργούν τις πρώτες εντυπώσεις και είναι από τις κυριότερες παραμέτρους με τις οποίες ο υποψήφιος αγοραστής αξιολογεί την ποιότητα του και αποφασίζει αν θα το αγοράσει.

Σαν εμφάνιση χαρακτηρίζεται η κατάσταση στην οποία προσφέρεται το κρέας στον αγοραστή. Βελτιώνεται με σωστό κόψιμο του κρέατος και καθάρισμα από τα περιττά λίπη, τις μυϊκές περιτονίες και το συνδετικό ιστό.

Το χρώμα του κρέατος οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μυοσφαιρίνη και διάφορες άλλες χρωστικές ουσίες που περιέχει σε μικρότερες ποσότητες. Η μυοσφαιρίνη είναι μία σαρκοπλασματική πρωτεΐνη και μαζί με την αιμοσφαιρίνη ανήκει στις χρωμοπρωτεΐνες είναι δηλαδή σύνθετες πρωτεΐνες αποτελούμενες από ένα πρωτεϊνικό τμήμα (σφαιρίνη) και μια έγχρωμη προσθετική ομάδα. Η συνολική περιεκτικότητα του μυϊκού ιστού σε μυοσφαιρίνη και η χημική μορφή με την οποία βρίσκεται η αίμη στο μόριο της μυοσφαιρίνης επηρεάζει το κόκκινο χρώμα του κρέατος και τις αποκλίσεις που παρουσιάζει. Το μόριο της αίμης περιέχει ένα άτομο

δισθενούς σιδήρου που μπορεί να ενωθεί με άτομα ή μόρια που μπορούν να προσφέρουν ένα ζεύγος ηλεκτρονίων.

Σε υψηλή συγκέντρωση  $O_2$  στο περιβάλλον, η αίμη της μυοσφαιρίνης προσλαμβάνει ένα μόριο  $O_2$  και αυτή μετατρέπεται γρήγορα σε οξυμυοσφαιρίνη (λαμπερό κόκκινο χρώμα του φρεσκοκομένου κρέατος). Όταν το  $O_2$  αφαιρεθεί, η οξυμυοσφαιρίνη μετατρέπεται πάλι σε μυοσφαιρίνη με βαθύ κόκκινο-μωβ χρώμα. Σε χαμηλή συγκέντρωση  $O_2$  στο περιβάλλον, ο δισθενής Fe της μυοσφαιρίνης οξειδώνεται με αργό ρυθμό σε τρισθενή και παράγεται μεταμυοσφαιρίνη (καστανό χρώμα) που δεν μπορεί να δεσμεύσει  $O_2$  και είναι σταθερή. Με δράση αναγωγικών ενζύμων αυτή ανάγεται πολύ αργά σε μυοσφαιρίνη. Ως παράγωγα μυοσφαιρίνης θεωρείται η πρασίνου χρώματος χρωστική (σουλφο – μυοσφαιρίνη). Η χρωστική αυτή οφείλεται στην πρόσληψη υδρόθειου από τη μυοσφαιρίνη (6η θέση του σιδήρου της αίμης), το οποίο παράγεται από βακτηριακές δράσεις. Το γεγονός αυτό αποτελεί πρόβλημα κυρίως στα κοτόπουλα, στο έντερο των οποίων παράγεται υδρόθειο και το οποίο στη συνέχεια διαχέεται στο κρέας. Όμως παραγωγή υδρόθειου λόγω βακτηριακών δράσεων μπορεί να συμβεί και σε κρέατα τα οποία έχουν συσκευασθεί σε κενό.

Το χρώμα του κρέατος επηρεάζεται από το pH, δηλαδή σε χαμηλές τιμές το χρώμα είναι πιο φωτεινό-ερυθρό, ενώ σε μεγαλύτερες τιμές, το χρώμα γίνεται πιο σκούρο. Όταν ο μυϊκός ιστός δεν μπορεί να συγκρατήσει νερό στο εσωτερικό της μάζας, το φως ανακλάται, διαχέεται πολύ ισχυρά επί των ινιδίων και μικρό μέρος μόνο απορροφάται από τη μυοσφαιρίνη, με συνέπεια το χρώμα να είναι ανοιχτό κόκκινο. Όταν η δομή είναι κλειστή, συγκρατείται το νερό στο εσωτερικό της μάζας και το φως απορροφάται ισχυρά από τη μυοσφαιρίνη, με συνέπεια το χρώμα να γίνεται σκούρο κόκκινο, ανεξάρτητα από το ποσοστό της μυοσφαιρίνης που υπάρχει. Επιπλέον, το είδος του ζώου, η φυλή του, η ηλικία του (τα νεαρά ζώα έχουν πιο λευκό χρώμα), το φύλο του (η τεστοστερόνη αυξάνει την ποσότητα της μυοσφαιρίνης), η κατάσταση της υγείας του (τα άρρωστα ζώα έχουν σκοτεινό χρώμα), η κακή αφαιμάξη (σκούρο χρώμα), οι διατροφικές συνήθειες, η έκθεση του φρέσκου κρέατος σε θερμοκρασία δωματίου (δημιουργία μεταμυοσφαιρίνης), η θέρμανσή του κατά το μαγείρεμα (μετουσίωση του πρωτεϊνικού τμήματος) και η απουσία από το κρέας αναγωγικών ενζύμων είναι άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το χρώμα του κρέατος (Παπαβέργου, 2014).

#### **1.4.2 Υφή**

Συνήθως με τον όρο υφή χαρακτηρίζονται εκείνες οι ιδιότητες των τροφίμων, οι οποίες γίνονται αντιληπτές με το μάσημα (χωρίς να λαμβάνονται υπόψη η γεύση και η θερμοκρασία) και με την πίεση με τα δάχτυλα. Σύμφωνα με έναν άλλο ορισμό υφή είναι ο τρόπος με τον οποίο τα διάφορα δομικά στοιχεία και τα άλλα συστατικά του τροφίμου είναι διαταγμένα και συνδυασμένα, ώστε να αποτελέσουν τη μικρο-

και μακρο- δομή του, καθώς και οι εξωτερικές μαρτυρίες των δομών αυτών που αποδίδονται με όρους ρευστότητας και παραμορφώσεων. Κατά τη διατύπωση του ορισμού αυτού της υφής, λήφθηκαν υπόψη η φύση και η δομή των συστατικών των τροφίμων, η συμπεριφορά των τροφίμων τόσο κατά την κατανάλωση τους (οργανοληπτική εξέταση), όσο και κατά τις μηχανικές δοκιμασίες τους σε ειδικές συσκευές . Τα περισσότερα τρόφιμα αποτελούν πολύπλοκα φυσικοχημικά συστήματα , στα οποία υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ χημικής σύστασης, της φυσικής δομής και των φυσικών ιδιοτήτων (Βουδούρης και Κοντομηνάς, 1997).

### **1.4.3 Τρυφερότητα**

Σαν τρυφερό κρέας ορίζεται το μαγειρεμένο κρέας που είναι μαλακό, κόβεται εύκολα και είναι εύθρυπτο κατά τη μάσηση, γιατί δεν περιέχει ανθεκτικές χορδές από το περιμύιο και ενδομύιο, δηλαδή από τον παχύ συνδετικό ιστό και το χαλαρό συνδετικό ιστό και δίνει την αίσθηση ότι διαλύεται πάνω στη γλώσσα. Ένα μαλακό κρέας όμως δεν είναι απαραίτητα τρυφερό, γιατί εξαρτάται από την ποσότητα του συνδετικού ιστού μεταξύ των μυϊκών ινών και του βαθμού ωρίμανσης.

Οι παράγοντες που συμβάλλουν στην τρυφερότητα του κρέατος κατά την ωρίμανση είναι η εξασθένιση ή η διάσπαση των μυϊκών ινιδίων που είναι και οι μονάδες των μυϊκών ινών με δράση πρωτεολυτικών ενζύμων (καλπαΐνες), η ενυδάτωση και πρωτεόλυση των μυϊκών πρωτεϊνών, καθώς και η διάσπαση των μυϊκών νηματίων των ινιδίων. Επίσης, η εξασθένιση ή η καταστροφή του σαρκοπλασματικού δικτύου και η θερμοκρασία διατήρησης (σε μεγαλύτερη θερμοκρασία, πιο τρυφερό κρέας). Εκτός από την ωρίμανση, συμβάλλουν οι μεταβολές στον ιστό από τη σφαγή μέχρι την ακαμψία, ο σχηματισμός του συμπλόκου της ακτινομυοσίνης, που προκαλεί συστολή του μυός και σμίκρυνση του μήκους των σαρκομεριδίων. Όσο μεγαλύτερη είναι η συστολή, τόσο πιο σκληρό θα είναι και το κρέας. Επιπλέον, το είδος του ζώου, το γένος, η φυλή, η ηλικία, ο τρόπος διατροφής και το μέρος όπου ανήκει ο αντίστοιχος μυς του ζώου. Η θερμοκρασία, η διάρκεια και ο τρόπος μαγειρέματος επηρεάζουν και αυτά στην τρυφερότητα.

Βελτίωση της τρυφερότητας επιτυγχάνεται με μηχανική διάσπαση της δομής του κρέατος, με προσθήκη ενζύμων (παπαΐνη, φυκίνη) που προκαλούν υδρόλυση των πρωτεϊνών κατά τη θέρμανση, με προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου μετά τη μυϊκή ακαμψία για ενεργοποίηση των καλπαϊνών και με προσθήκη οργανικών οξέων (γαλακτικό, τρυγικό, οξικό) τα οποία καταστρέφουν τους ενδομοριακούς δεσμούς στο κολλαγόνο (Παπαβέργου, 2014).



#### **1.4.4 Χυμώδες**

Το χυμώδες, δηλαδή η ιδιότητα του κρέατος να αποδίδει τους χυμούς του κατά τη μάζηση (ποσότητα νερού που διατηρείται μετά την ολοκλήρωση του μαγειρέματος) συνδέεται με την ξηρότητα του κρέατος. Υπάρχουν δύο τύποι χυμώδους: ο πρώτος αναλογεί στην ποσότητα νερού που διαφεύγει στο στόμα κατά τις πρώτες κινήσεις μάζησης και ο δεύτερος με τη σιελόρροια που προκαλείται από τα λιπαρά συστατικά του κρέατος.

Η ικανότητα συγκράτησης νερού επηρεάζεται από τη θερμοκρασία μαγειρέματος, από τη μεταβολή του pH, την κοπή του κρέατος, το είδος των μυϊκών ινών και την περιεκτικότητα σε λίπος, το είδος, την ηλικία, το φύλο, την κατάσταση υγείας του και του κάματου πριν τη σφαγή του ζώου. Για παράδειγμα η κάθετη τομή και το αργό ψήσιμο, δε συντελούν στη συγκράτηση νερού, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται και το χυμώδες (Παπαβέργου, 2014).

#### **1.4.5 Οσμή**

Το άρωμα και η οσμή αποτελούν χαρακτηριστικές ιδιότητες του κρέατος, οι οποίες γίνονται αντιληπτές από τον καταναλωτή, μαζί με το χρώμα. Με την πρόοδο της νεκρικής ακαμψίας και μετά την πλήρη ψύξη, το σφάγιο αποκτά τη δική του οσμή που είναι χαρακτηριστική του είδους του σφαγίου. Κατά την ωρίμανση, γίνεται αποσύνθεση των νουκλεοτιδίων και σχηματίζονται μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP), η οποία τελικά σχηματίζει ριβόζη και υποξανθίνη. Η υποξανθίνη θεωρείται ότι συμβάλλει σημαντικά στο άρωμα του κρέατος. Κύριες ενώσεις που συμβάλλουν όμως στο άρωμα, είναι αυτές που παράγονται κατά το μαγείρεμα και είναι τα πεπτίδια, αμινοξέα, ζάχαρα, μονοκαρβονυλικές ενώσεις, θειούχες ενώσεις κ.α. Εκτός από τα ευχάριστα αρώματα, αναπτύσσονται και δυσάρεστες οσμές που οφείλονται στην τάγγιση του λίπους, στην οξείδωση λιπελαϊκού οξέος, την παραγωγή αλδεϋδων και τη δράση μικροοργανισμών.

Όπως και τα υπόλοιπα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, έτσι και την οσμή, επηρεάζουν η ηλικία, το είδος του ζώου, το φύλο, το είδος της διατροφής (τα ζώα ελευθέρως βοσκής, έχουν καλύτερα αρώματα), η μεταχείριση των ζώων, οι συνθήκες συντήρησης, το είδος θέρμανσης, η διάρκεια και η θερμοκρασία μαγειρέματος (Γεωργάκης, 2005).

#### **1.5.6 Γεύση**

Η γεύση, όπως και η οσμή οφείλεται σε διάφορες χημικές ενώσεις, όπως η μονοφωσφορική ινοσίνη, η ινοσίνη και η υποξανθίνη, οι οποίες ερεθίζουν τους γευστικούς κάλυκες. Το γλουταμινικό οξύ που προκύπτει από την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών ενισχύει και αυτό τη γεύση του κρέατος.

Η γεύση του κρέατος επηρεάζεται από τους ίδιους παράγοντες που επηρεάζεται και η οσμή. Επιπλέον, επηρεάζεται από την αιμάτωση του μυός και την περιεκτικότητα σε ATP, δηλαδή οι μύες που εργάζονται πιο γρήγορα, είναι πιο νόστιμοι. Η λιποπερικτικότητα επηρεάζει και αυτή τη γεύση και καλύτερο κρέας θεωρείται αυτό που έχει ποσότητα λίπους ίση προς το ένα τρίτο του βάρους του (Γεωργάκης, 2005).

## **2. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΕΡΕΥΝΑΣ**

Το αντικείμενο της παρούσας έρευνας ήταν η μελέτη της επίδρασης του κενού, της χιτοζάνης 1% w/v και του συνδυασμού τους, στην παράταση του χρόνου ζωής κιμά κοτόπουλου που συντηρήθηκε υπό ψύξη για 12 ημέρες.

### 3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 3.1 Υλικά

Έγινε προμήθεια φρέσκων φιλέτων κοτόπουλου από τον Αγροτικό Πτηνοτροφικό Συνεταιρισμό Ιωαννίνων ΠΙΝΔΟΣ, τα οποία κόπηκαν σε κομμάτια και μετέπειτα περάστηκαν από αποστειρωμένη κρεατομηχανή για την παραγωγή κιμά. Ακολούθως, παρασκευάστηκαν μπιφτέκια κοτόπουλου, περίπου 90 g το κάθε δείγμα και συσκευάστηκαν σε πολυστρωματικές σακούλες φραγμού πολυαιθυλενίου χαμηλής πυκνότητας/πολυαμιδίου (LDPE/PA/LDPE) 29.5x29.5 cm σε διαστάσεις, πάχους 90 μm, με διαπερατότητα στο οξυγόνο  $<15 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ , σε 75% σχετική υγρασία (RH) στους 23°C (Method DIN 53380-2) και διαπερατότητα στους υδρατμούς  $<1 \text{ gm}^{-2} \text{ day}^{-1}$ , σε 85% σχετική υγρασία στους 23°C (Method DIN 53122-2). Οι σακούλες προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Kapelis Pacaging SA, Αθήνα. Τα μπιφτέκια υποβλήθηκαν στις εξής 4 μεταχειρίσεις: α) δείγματα σε αερόβια συσκευασία (control), β) δείγματα σε συσκευασία κενού, γ) δείγματα αερόβιας συσκευασίας στα οποία έγινε διπλή εμφάπτιση σε διάλυμα χιτοζάνης διάρκειας 60 sec για την κάθε εμφάπτιση και δ) δείγματα στα οποία έγινε διπλή εμφάπτιση σε διάλυμα χιτοζάνης σε συνδυασμό με κενό. Οι σακούλες στη συνέχεια σφραγίστηκαν σε κλειστικό κενού BOSS μοντέλο NE 48 (Bad Homburg, Germany) (Εικόνα 9.) και αποθηκεύτηκαν στο ψυγείο στους 4°C για 12 ημέρες. Δειγματοληψία γινόταν στις ημέρες 0, 2, 4, 6, 8, 10 και 12. Για την εξασφάλιση αεροβίων συνθηκών στο δείγμα 'μάρτυρα' η σακούλα LDPE/PA/LDPE τρυπήθηκε με βελόνα 22 gauge σε όλη την επιφάνεια της. Για την παρασκευή του διαλύματος χιτοζάνης χρησιμοποιήθηκε χιτοζάνη χαμηλού μοριακού βάρους MWt = 50.000-190.000 Da και βαθμού αποακετυλίωσης 75-85% (Sigma Aldrich Co., USA). Το διάλυμα περιείχε 1g χιτοζάνη σε 1ml οξικού οξέος/99 ml απιονισμένου νερού.

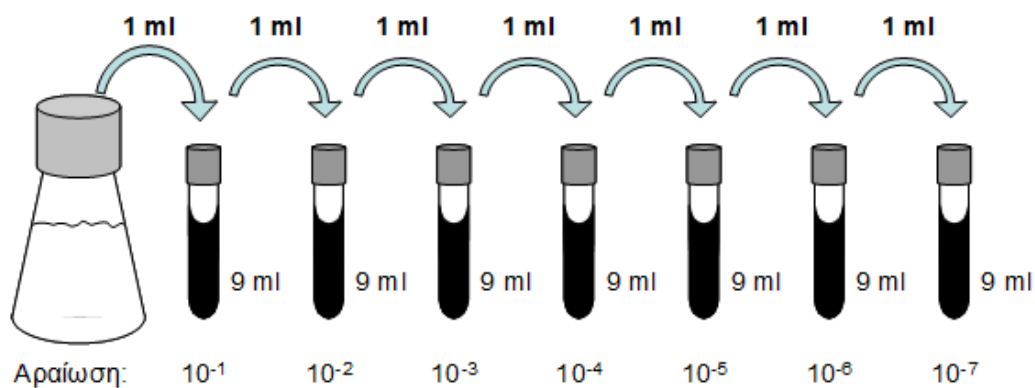


Εικόνα 9. Συσκευή κενού BOSS μοντέλου NE 48

### 3.2 Μέθοδοι

#### 3.2.1 Μικροβιολογική ανάλυση

Όσον αφορά την προετοιμασία των δειγμάτων, έγινε ασηπτική δειγματοληψία 10g από κάθε συσκευασία και η ποσότητα αυτή μεταφέρθηκε σε σακούλα Stomacher (Seward Medical, London, UK) που περιείχε 90ml πεπτονόχου διαλύματος (BPW, Merck 1.07228.0500, Darmstadt, Germany) (0,1g/100ml απιονισμένου νερού). Έπειτα, έγινε ομογενοποίηση για 90sec σε Lab Blender 400 Stomacher (Seward Medical, UK) και μετά έγιναν διαδοχικές αραιώσεις των δειγμάτων 1:10 σε πεπτονόχα διαλύματα 0,1% (Εικόνα 10.).



Εικόνα 10. Μέθοδος διαδοχικών αραιώσεων

Για την *Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.)* χρησιμοποιήθηκε θρεπτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA, LAB010, Heywood, UK), έγινε επίστρωση 0,1ml δείγματος, σε όλη τη επιφάνεια του τρυβλίου, και τα τρυβλία επώαστηκαν για 2 ημέρες στους 30°C.

Για τις *Ψευδομονάδες* χρησιμοποιήθηκε το Ceftrimide Fusidin Cephaloridine Agar (CFC, Oxoid CM0559, Basingstoke, UK), έγινε επίστρωση 0,1ml δείγματος και ακολούθως επώαση για 2 ημέρες στους 30°C. Στην προετοιμασία του θρεπτικού υλικού προστέθηκε αντιβιοτικό (Pseudomonas C-N supplement, Oxoid SR0102E, Basingstoke, England), ενώ στην καταμέτρηση των αποικιών έγινε έλεγχος της αντίδρασης οξειδάσης (Bactident Oxidase, Merck, 1.13300.0001, Darmstadt, Germany).

Για τον *Brochothrix thermosphacta* χρησιμοποιήθηκε το υπόστρωμα Streptomycin Thallous Acetate Agar (STAA, Oxoid CM0881, Basingstoke, UK), έγινε επίστρωση 0,1ml δείγματος και επώαση για 2 ημέρες στους 30°C. Όπως και στις ψευδομονάδες, έτσι και εδώ, προστέθηκε αντιβιοτικό (STAA Selective Supplement, Oxoid SR0151E, Basingstoke, UK).

Για τα *Εντεροβακτηριοειδή* χρησιμοποιήθηκε λιωμένο Violet Red Bile Glucose Agar (VRGBA, LAB088, Heywood, UK) στους 45°C αφού προηγουμένως είχε ενσωματωθεί στο τρυβλίο 1ml δείγματος. Μετά τη στερεοποίηση των 10-15 ml θρεπτικού υλικού, προστέθηκαν ακόμα 10-15ml, έτσι ώστε να επιτευχθούν αναερόβιες συνθήκες. Κατόπιν, τα τρυβλία επώαστηκαν για 1 ημέρα στους 37°C και καταμετρήθηκαν οι αποικίες με τη χαρακτηριστική ρόδινη άλω.

Για τα *Γαλακτικά Βακτήρια* χρησιμοποιήθηκε Man Rogosa Sharpe Agar (MRS, LAB223, Heywood, UK), μετά την ενσωμάτωση 1ml δείγματος, όπως και στα εντεροβακτήρια. Και εδώ προστέθηκαν δύο στρώσεις θρεπτικού υλικού για την επίτευξη αναερόβιων συνθηκών. Έγινε επώαση των τρυβλίων για 3 ημέρες στους 37°C και καταμετρήθηκαν οι αποικίες που είχαν ωοειδές σχήμα.

Σε όλες τις περιπτώσεις, λήφθηκαν υπόψη τα τρυβλία που είχαν αριθμό αποικιών 10-300, ενώ αυτά που είχαν αποικίες πάνω από 300, απορρίφθηκαν.

### 3.2.2 Φυσικοχημική ανάλυση

#### 3.2.2.1. Προσδιορισμός χρώματος

Η μέτρηση του χρώματος έγινε με τη βοήθεια χρωματόμετρου Hunter Lab μοντέλου DP-9000 optical sensor colorimeter (Reston, Virginia, USA) (Εικόνα 11.). Περίπου 70g κιμά τοποθετήθηκαν σε γυάλινη πλάκα στο χρωματόμετρο και πάρθηκαν 5 διαφορετικές τιμές για τις παραμέτρους  $L^*$  (φωτεινότητα),  $a^*$  (ερυθρότητα) και  $b^*$  (ωχρότητα) και μετά υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση. Για κάθε τιμή, γινόταν περιστροφή της πλάκας, έτσι ώστε να προσδιοριστεί το χρώμα από όλες τις πλευρές της μάζας του κιμά.



Εικόνα 11. Χρωματόμετρο Hunter Lab μοντέλου DP-9000 optical sensor colorimeter

#### 3.2.2.2 Προσδιορισμός του pH

10g δείγματος αραιώθηκαν με 100ml απιονισμένου νερού σε σακούλα Stomacher και στη συνέχεια ομογενοποιήθηκαν σε Lab Blender 400 Stomacher (Seward Medical, UK) για 90sec. Το pH προσδιορίστηκε με χρήση πεχάμετρου Delter OHM μοντέλο HD3456.2 (Delta OHM s.r.l. Caselle di Selvazzano, Italy) σε θερμοκρασία δωματίου.

#### 3.2.2.3 Προσδιορισμός αριθμού θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)

Για την παρασκευή του διαλύματος, ζυγίστηκαν 0,67g TBA (Merck, 1.08180.0025, Darmstadt, Germany) και προστέθηκαν σε ένα ποτήρι ζέσεως μαζί με 80ml

απιονισμένου νερού. Αφέθηκαν για λίγα λεπτά στην ανάδευση και τη θέρμανση, μέχρι να διαλυτοποιηθεί το μίγμα. Στη συνέχεια προστέθηκαν άλλα 20ml νερού μέχρι ο όγκος να φτάσει τα 100ml. Από το διάλυμα, 25ml μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη, όπου προστέθηκαν και 25ml οξικού οξέος και η φιάλη κλείστηκε με αλουμινόφυλλο και parafilm.

Για τον προσδιορισμό του TBA, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Kirk και Sawyer, (1991), όπου ζυγίστηκαν 10g κιμά και ομογενοποιήθηκαν μαζί με 50ml απιονισμένου νερού. Το προκύπτον μίγμα, τοποθετήθηκε σε μακρύλαιμη, σφαιρική, εσφυρισμένη φιάλη απόσταξης υπό θέρμανση μαζί με πέτρες βρασμού. Εφαρμόστηκε απόσταξη μεθ' υδρατμών και μόλις συλλέχθηκαν 47ml, προστέθηκαν 2,5ml 4M HCl. Στη συνέχεια, 5ml από το διάλυμα τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα, όπου προστέθηκαν και 5ml διαλύματος TBA, ενώ μετά αφέθηκαν για θέρμανση στους 90° για 35 λεπτά. Ακολούθως, έγινε ψύξη των δοκιμαστικών σωλήνων για 10 λεπτά και τέλος, μετρήθηκε η απορρόφηση σε μήκος κύματος 532 και 538nm. Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάστηκε και τυφλό δείγμα (5ml TBA+5ml νερό). Ο αριθμός θειοβαρβιτουρικού οξέος εκφράστηκε σε mg μηλονικής διαλδεΐδης ανά κιλό δείγματος (mg MDA/kg).

#### **3.2.2.4 Προσδιορισμός του ολικού πτητικού αζώτου (TVB-N)**

Ο προσδιορισμός του TVB-N προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του AOAC (2002) 999-01. Έγινε ομογενοποίηση 10g κιμά με 100ml απιονισμένου νερού με τη βοήθεια μίξερ για 10 λεπτά και στη συνέχεια ακολούθησε φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 3000 στροφές. Το διάλυμα υπέστη διήθηση και συλλέχτηκαν 5ml διηθήματος, τα οποία μαζί με 5ml οξειδίου του μαγνησίου MgO 5% (M=40,3, Carl Roth 8280.2, Karlsruhe, Germany) και 10ml βορικού οξέος H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 10% (M=61,83, Merck, 1.00165.1000, Darmstadt, Germany) τοποθετήθηκαν σε σφαιρική φιάλη απόσταξης υπό θέρμανση μαζί με πέτρες βρασμού. Τέλος, 5ml αποστάγματος που προέκυψαν από απλή απόσταξη μέσα σε 5 λεπτά, τιτλοδοτήθηκαν με διάλυμα 0,01M HCl με δείκτη ισομοριακού μίγματος 0,1g ερυθρό του μεθυλίου και 0,05g κυανό του μεθυλίου σε 100ml αιθανόλης και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg N<sub>2</sub> ανά 100g δείγματος. Επίσης, έγινε τιτλοδότηση τυφλού δείγματος που περιείχε δείκτη και νερό.



### **3.2.3 Οργανοληπτική εξέταση**

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των χαρακτηριστικών πραγματοποιήθηκε σε μαγειρεμένα μπιφτέκια κοτόπουλου στις μέρες 0, 2, 4, 6, 8, 10 και 12, αφού προηγουμένως είχαν αποψυχθεί. Από την κάθε μεταχείριση, 70g κιμά τοποθετήθηκαν σε υάλους ωρολογίου και θερμάνθηκαν για 100 sec σε φούρνο μικροκυμάτων. Τα χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν ήταν η οσμή, η γεύση και η υφή. Στην οργανοληπτική εξέταση συμμετείχαν 7 άτομα, εκ των οποίων 4 ήταν γυναίκες και 3 άντρες που είχαν εκπαιδευτεί στην αξιολόγηση κρέατος κοτόπουλου. Στο κάθε άτομο δόθηκαν 10g δείγματος για κάθε μεταχείριση, ένα ποτήρι νερό και κρακεράκια για να ξεπλύνουν το στόμα τους μεταξύ των δοκιμών. Όλα τα δείγματα προσφέρθηκαν στην ίδια θερμοκρασία και η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε σε χώρο ελεγχόμενων συνθηκών.

Για τη βαθμολόγηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε πενταβάθμια αριθμητική κλίμακα, όπου:

5-Άριστο, 4-Καλό, 3-Αποδεκτό, 2-Υποβαθμισμένο, 1-Αλλοιωμένο

### **3.2.4 Στατιστική Ανάλυση**

Το πείραμα επαναλήφθηκε εις διπλούν με διαφορετικά δείγματα κοτόπουλου ( $n=2 \times 2=4$ ). Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των μικροβιολογικών, φυσικοχημικών και οργανοληπτικών δεδομένων. Τα μικροβιολογικά δεδομένα μετατράπηκαν σε δεκαδικούς λογαρίθμους των σχηματιζόμενων αποικιών (cfu/g).

Η ανάλυση ANOVA χρησιμοποιήθηκε για να αναδειχθούν οι όποιες διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων κατά τη διάρκεια της συντήρησης στις μικροβιολογικές, φυσικοχημικές και οργανοληπτικές παραμέτρους. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε σε  $p=0.05$ .

- Για  $p < 0.05$ , υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές των δεδομένων στις μεταχειρίσεις.
- Για  $p > 0.05$ , δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές των δεδομένων στις μεταχειρίσεις.

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 4.1 Μικροβιολογική ανάλυση

Προσδιορίστηκαν τα παρακάτω είδη μικροοργανισμών:

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.)

Ψευδομονάδες (*Pseudomonas spp.*)

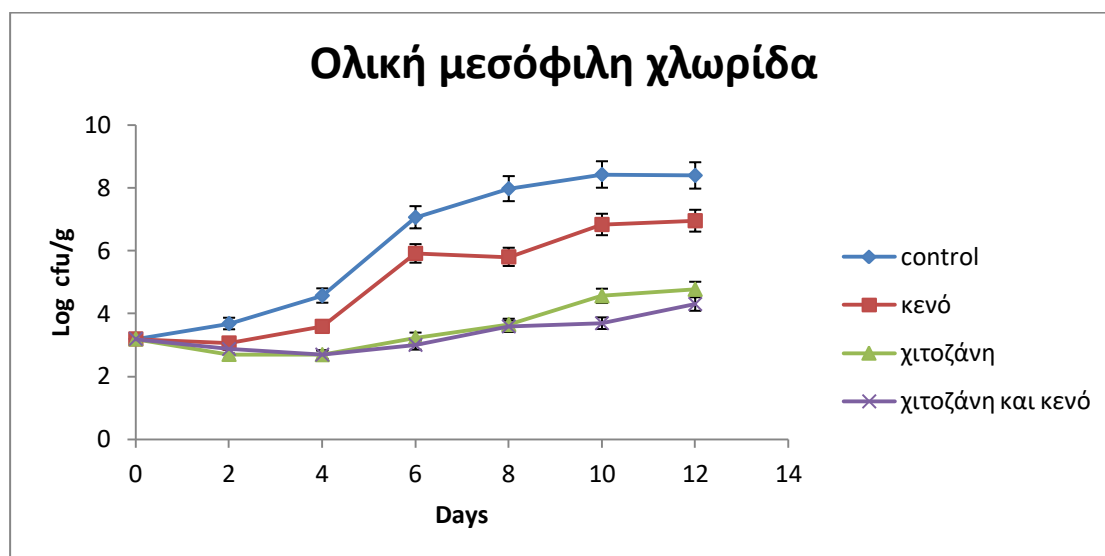
*Brochothrix thermosphacta*

Γαλακτικά βακτήρια (*Lactic Acid Bacteria, L.A.B.*)

Εντεροβακτήρια (*Enterobacteriaceae*)

#### 4.1.1 Μεταβολές στην ολική μεσόφιλη χλωρίδα

Η ολική μεσόφιλη χλωρίδα αναφέρεται σε βακτήρια που έχουν τη δυνατότητα να σχηματίζουν ορατές αποικίες. Η πλειονότητα των μικροοργανισμών που εμφανίζονται στο κοτόπουλο, είτε ως μέρος της φυσικής μικροχλωρίδας, είτε ως επιμολύνσεις από άλλες πηγές, είναι αερόβιοι μικροοργανισμοί και ο πληθυσμός τους αποτελεί δείκτη της μικροβιολογικής ποιότητας. Στο Σχήμα 3. φαίνονται οι μεταβολές της Ο.Μ.Χ. συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου αποθήκευσης του κιμά κοτόπουλου.



**Σχήμα 3.** Μεταβολές στην ολική μεσόφιλη χλωρίδα στα μπιφτέκια από κοτόπουλο συσκευασμένα σε α) αέρα (control), β) (κενό), γ) (χιτοζάνη) και δ) (χιτοζάνη και κενό)

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 3., η ολική μεσόφιλη χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.) είχε αρχικά την τιμή 3.19 log cfu/g που είναι ενδεικτική της καλής μικροβιολογικής ποιότητας του κοτόπουλου. Σύμφωνα με την ICMFS (1986) η τιμή των 7 log cfu/g αποτελεί το όριο πάνω από το οποίο το δείγμα θεωρείται μικροβιολογικά μη αποδεκτό. Η χλωρίδα έφτασε τους 7 log cfu/g την 6<sup>η</sup> ημέρα στα δείγματα που ήταν συσκευασμένα στον αέρα υπό ψύξη. Παρόμοια αποτελέσματα εμφάνισαν και οι Latou et al. (2014), οι οποίοι ξεκινώντας από 4.1 log cfu/g αρχικό μικροβιακό φορτίο, βρήκαν πως τα δείγματα στην αερόβια συσκευασία, προσέγγισαν τους 7 log cfu/g την 4<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης. Στα δείγματα που ήταν συσκευασμένα σε κενό, η μικροβιακή χλωρίδα έφτασε το όριο των 7 log cfu/g την 12<sup>η</sup> ημέρα, δηλαδή το κενό διπλασίασε τον μικροβιολογικό χρόνο συντήρησης στα μπιφτέκια. Στις μεταχειρίσεις που είχαν υποβληθεί σε εμβάπτιση σε διάλυμα χιτοζάνης και στο συνδυασμό της εμβάπτισης

σε διάλυμα χιτοζάνης μαζί με κενό, η Ο.Μ.Χ. τη 12<sup>η</sup> ημέρα ήταν της τάξης των 4.77 και 4.3 log cfu/g αντίστοιχα.

Παρατηρείται πως ο πληθυσμός της ΟΜΧ ήταν υψηλότερος στη συσκευασία του αέρα συγκρινόμενος με εκείνον στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, γεγονός που υποδεικνύει ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0.05$ ) μεταξύ των τιμών ΟΜΧ στον αέρα και στις λοιπές μεταχειρίσεις. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι σε αερόβιο περιβάλλον αναπτύχθηκαν ταχύτατα οι ψευδομονάδες που είναι αυστηρά αερόβιες και αποτελούν ειδικούς αλλοιογόνους μικροοργανισμούς (SSO) για το κρέας και τα θαλασσινά.

Στη συσκευασία του κενού, ο πληθυσμός της ΟΜΧ ήταν χαμηλότερος εκείνου στον αέρα, λόγω πολύ χαμηλότερου ποσοστού οξυγόνου (1-2%) που παρεμποδίζει την ανάπτυξη των ψευδομονάδων. Και εδώ παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις ( $p < 0.05$ ).

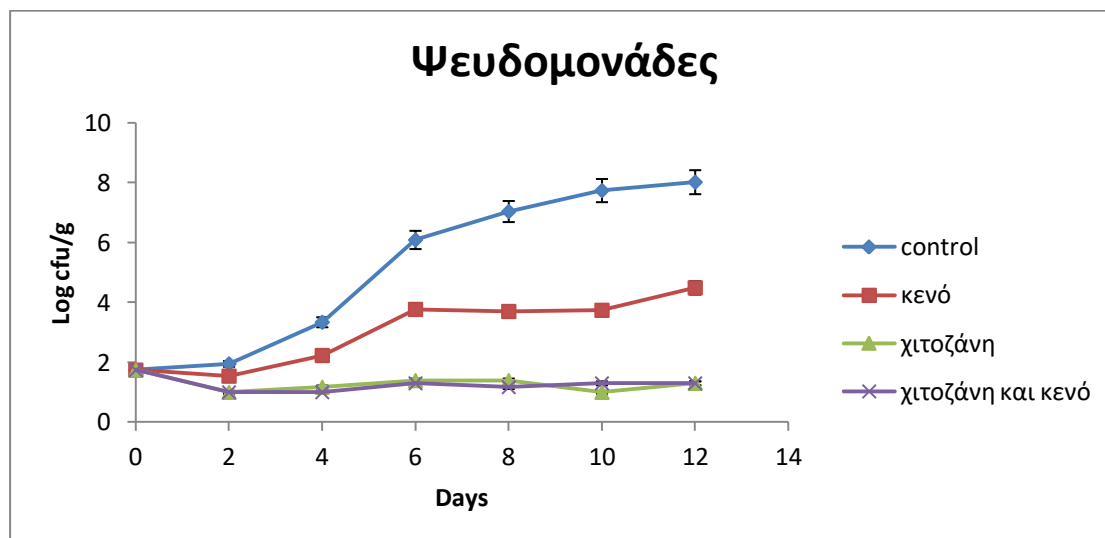
Στις μεταχειρίσεις που περιλάμβαναν τη χιτοζάνη, η ΟΜΧ ήταν ακόμη χαμηλότερη σε σύγκριση με τα δείγματα που ήταν συσκευασμένα στο κενό ( $p < 0.05$ ). Πιστεύεται ότι η χιτοζάνη δημιουργεί μεμβράνη επικάλυψης στην επιφάνεια του τροφίμου προστατεύοντας το από την επίδραση του οξυγόνου πιο αποτελεσματικά απ' ό,τι το κενό που δημιουργεί το κλειστικό κενό (Surut et al., 2015). Επιπλέον, η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης οφείλεται στα θετικά φορτισμένα μόρια της χιτοζάνης που αλληλεπιδρούν με τα αρνητικά φορτισμένα μόρια των μακρομορίων της κυτταρικής μεμβράνης μεταβάλλοντας τη διαπερατότητα του κυττάρου και εμποδίζοντας τη μεταγραφή του RNA από το DNA (Severino et al., 2015). Όσον αφορά τις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης συγκριτικά μεταξύ τους, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p > 0.05$ ), υποδεικνύοντας ότι η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης ήταν πολύ μεγαλύτερη από αυτή του κενού.

Συμπερασματικά, η συσκευασία του κενού, αύξησε το μικροβιολογικό χρόνο ζωής στα μπιφτέκια κοτόπουλου κατά 5-6 ημέρες, ενώ η συσκευασία της χιτοζάνης και ο συνδυασμός της με το κενό, έδειξαν πως ο μικροβιολογικός χρόνος συντήρησης ήταν μεγαλύτερος των 12 ημερών.

Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και με άλλους ερευνητές. Οι Gertzou et al. (2017), βρήκαν πως η ολική μεσόφιλη χλωρίδα μπουτιών κοτόπουλου συσκευασμένων σε κενό, έφτασε τους 7 log cfu/g τη 10<sup>η</sup> ημέρα σε διάρκεια συντήρησης 16 ημερών. Επίσης, οι Latou et al. (2014), κάνοντας εμβάπτιση φιλέτων κοτόπουλου σε διάλυμα χιτοζάνης 1% και αποθηκεύοντάς τα για 14 ημέρες, έδειξαν πως καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης, δεν έφτασαν ποτέ το όριο των 7 log cfu/g.

#### 4.1.2 Μεταβολές στις ψευδομονάδες

Οι ψευδομονάδες αποτελούν τους κυριότερους αλλοιογόνους μικροοργανισμούς που κυριαρχούν στο κρέας, το κοτόπουλο και το ψάρι, σύμφωνα με τους Koutsoumanis et al., 2005, Giatrakou et al., 2010, Karam et al., 2019). Στο Σχήμα 4. φαίνονται οι μεταβολές των ψευδομονάδων συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου αποθήκευσης του κιμά κοτόπουλου.



**Σχήμα 4.** Μεταβολές στις ψευδομονάδες στα μπιφτέκια από κοτόπουλο συσκευασμένα σε α) αέρα (control), β) (κενό), γ) (χιτοζάνη) και δ) (χιτοζάνη και κενό)

Στο Σχήμα 4. φαίνεται πως ο αρχικός πληθυσμός των ψευδομονάδων είχε αρχικά την τιμή 1.74. Στην 6<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης που αντιστοιχούσε στη μικροβιολογική αλλοίωση του κιμά κοτόπουλου στην αερόβια συσκευασία, οι ψευδομονάδες έφτασαν τους 6.09 log cfu/g, ενώ την ίδια ημέρα οι μεταχειρίσεις του κενού, της χιτοζάνης και της συνδυαστικής χρήσης του κενού με χιτοζάνη, μείωσαν τον πληθυσμό των ψευδομονάδων στους 3.77, 1.39 και 1.17 log cfu/g αντίστοιχα.

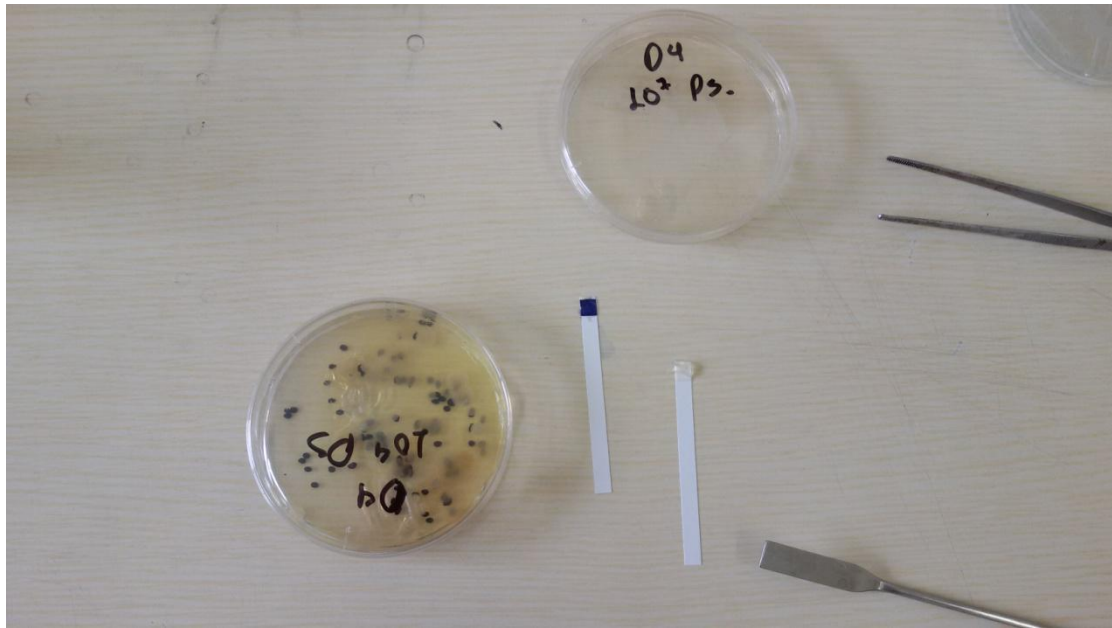
Ο πληθυσμός των ψευδομονάδων ήταν πολύ μεγαλύτερος στη συσκευασία αέρα, καθώς όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι κυρίαρχοι σε αερόβιες συνθήκες και σε χαμηλές θερμοκρασίες. Οι πληθυσμοί τους φανερώνουν πως υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις ( $p < 0.05$ ). Όσον αφορά τη συσκευασία κενού, είναι προφανές ότι η ανάπτυξη των ψευδομονάδων αναστάληκε σημαντικά αλλά όχι ολοκληρωτικά απουσία οξυγόνου. Η επίτευξη κενού σε ποσοστό 100% δεν είναι δυνατή, οπότε πάντα υπάρχει ένα πολύ μικρό ποσοστό οξυγόνου, το οποίο όμως είναι ικανό να χρησιμοποιηθεί από την αερόβια μικροχλωρίδα, άρα και από τις ψευδομονάδες

(Jay et al., 2005). Η στατιστική ανάλυση έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ της συσκευασίας κενού και των υπόλοιπων μεταχειρίσεων ( $p < 0.05$ ).

Στις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης, αλλά και του συνδυασμού της με το κενό, παρατηρήθηκε μείωση του πληθυσμού των ψευδομονάδων σε σύγκριση με τον αρχικό πληθυσμό τους. Η καθήλωση των ψευδομονάδων υποδεικνύει πως οι μεταχειρίσεις της χιτοζάνης μεταξύ τους δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p > 0.05$ ). Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια πιστεύεται πως στην εξωτερική μεμβράνη συμβαίνει το φαινόμενο της δέσμευσης της χιτοζάνης με κατιόντα όταν το pH είναι πάνω από το pKa (Bassi et al., 1999) και δημιουργείται μεμβράνη, η οποία παρεμποδίζει την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και ιχνοστοιχείων (Goy et al., 2009). Επίσης, υπάρχει και η πιθανότητα της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης της χιτοζάνης με τον αρνητικά φορτισμένο λιποπολυσακχαρίτη στην εξωτερική μεμβράνη, που διαταράσσει τη λειτουργία του κυττάρου (Helander et al., 2001). Όπως είναι φανερό, η χιτοζάνη ήταν πιο αποτελεσματική στη δημιουργία φραγμού στο οξυγόνο σε σύγκριση με το φραγμό που προσέφερε το κενό.

Τα αποτελέσματα συμφωνούν και με άλλους ερευνητές, οι οποίοι ανέφεραν ότι χρήση απορροφητή οξυγόνου και ο συνδυασμός του με εκχύλισμα εσπεριδοειδών (Citrox 0.1 και 0.2 %) σε κιμά κοτόπουλου είχαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην αναστολή της ανάπτυξης των ψευδομονάδων σε σύγκριση με την αερόβια συσκευασία για περίοδο συντήρησης 14 ημερών (Mexis et al., 2012). Όσον αφορά τον απορροφητή οξυγόνου μόνο του, στην 6<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης υπήρχε μια μείωση στον πληθυσμό των ψευδομονάδων κατά 1.6 log cfu/g σε σύγκριση με τα δείγματα στον αέρα. Εδώ πρέπει να τονιστεί ότι ο απορροφητής οξυγόνου δημιουργεί ανοξικές συνθήκες στη συσκευασία, με αποτέλεσμα το ποσοστό του οξυγόνου να μειωθεί στο 0.1-0.2%. Επιπλέον, οι Latou et al. (2014), ανέφεραν ότι ο συνδυασμός χιτοζάνης 1% και τροποποιημένης ατμόσφαιρας, συντέλεσε στη μείωση των ψευδομονάδων κατά 3.3 log cfu/g συγκριτικά με την αερόβια συσκευασία σε στήθος κοτόπουλου σε διάρκεια συντήρησης 14 ημερών.

Στην Εικόνα 12. φαίνεται η αλλαγή του χρώματος στο τεστ αντίδρασης οξειδάσης που υποδηλώνει την ανάπτυξη των ψευδομονάδων.

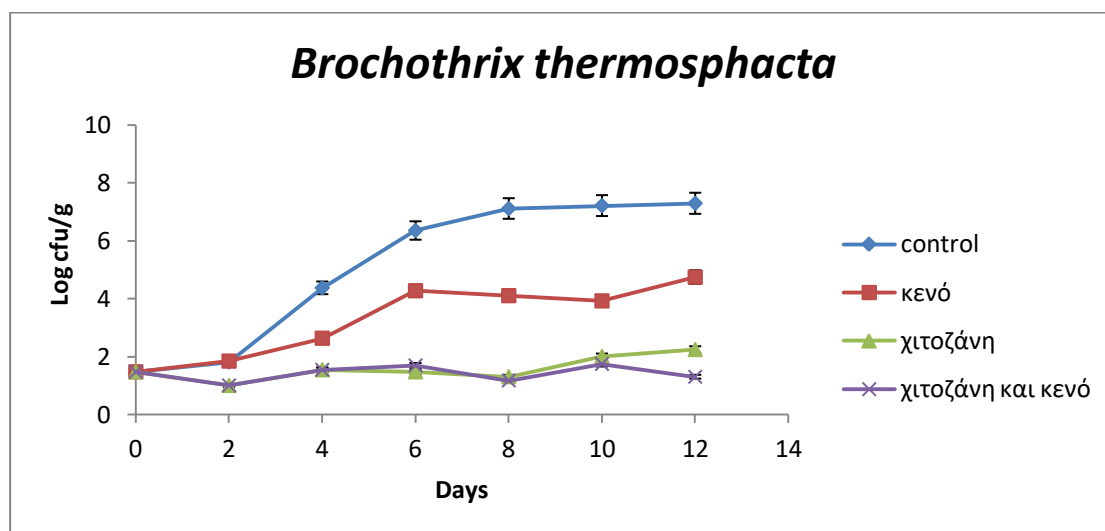


**Εικόνα 12.** Αλλαγή του χρώματος σε μαύρο στα sticks αντίδρασης οξειδάσης



#### 4.1.3 Μεταβολές στον *Brochothrix thermosphacta*

Ο *Brochothrix thermosphacta* είναι προαιρετικά αναερόβιος μικροοργανισμός και θεωρείται από κοινού με τις ψευδομονάδες ως ειδικός μικροοργανισμός αλλοίωσης στα κρέατα που συσκευάζονται σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (Remenant et al., 2015). Αντιπροσωπεύει επίσης, ένα σημαντικό μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του κρέατος που αποθηκεύεται αερόβια, αλλά και υπό κενό (Borch et al., 1996). Στο Σχήμα 5. φαίνονται οι μεταβολές του *Brochothrix thermosphacta* συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου αποθήκευσης του κιμά κοτόπουλου.



**Σχήμα 5.** Μεταβολές στον *Brochothrix thermosphacta* στα μπιφτέκια από κοτόπουλο συσκευασμένα σε α) αέρα (control), β) (κενό), γ) (χιτοζάνη) και δ) (χιτοζάνη και κενό)

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5. ο πληθυσμός του *B. thermosphacta* είχε αρχική τιμή 1.47 log cfu/g. Στη συσκευασία αέρα αναπτύχθηκε αρκετά γρήγορα τις πρώτες 6 ημέρες και έφτασε τους 6.35 log cfu/g. Στη συσκευασία του κενού, ο πληθυσμός ανάπτυξής του ήταν μικρότερος και την 6<sup>η</sup> ημέρα έφτασε τους 4.27 log cfu/g. Στις συσκευασίες της χιτοζάνης, καθώς και του συνδυασμού της χιτοζάνης με το κενό, ο πληθυσμός του μειώθηκε στους 1.47 και 1.69 log cfu/g αντίστοιχα.

Ο ρυθμός ανάπτυξης του *B. thermosphacta* στην αερόβια συσκευασία είχε σημαντικές στατιστικά διαφορές συγκρινόμενος με το ρυθμό ανάπτυξης στις υπόλοιπες συσκευασίες ( $p < 0.05$ ).

Στη συσκευασία κενού, ενώ τις πρώτες ημέρες ο *B. thermosphacta* αναπτύχθηκε σχετικά γρήγορα, από την 6<sup>η</sup> όμως ημέρα και μετά, ο ρυθμός αυτός μειώθηκε. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στον ανταγωνισμό που υπάρχει μεταξύ των θετικών κατά

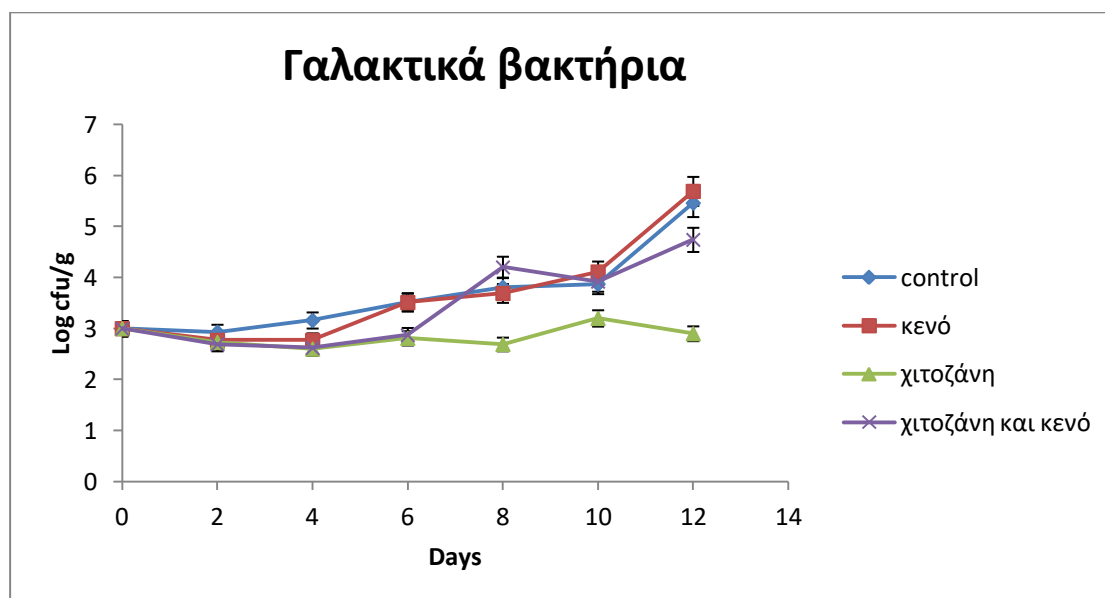
Gram βακτηρίων, όπως είναι ο *B. thermosphacta* με τα γαλακτικά βακτήρια. Αποτέλεσμα του ανταγωνισμού αυτού ήταν να ευνοηθεί η ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων που καθίστανται κυρίαρχα σε συνθήκες κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας (Jay et al., 2005). Το κενό είχε στατιστικά σημαντικές διαφορές με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις ( $p < 0.05$ ).

Οι μεταχειρίσεις με τη χιτοζάνη και του συνδυασμού της με το κενό, έδωσαν τους μικρότερους πληθυσμούς *B. thermosphacta* συγκριτικά με τις μεταχειρίσεις του αέρα και του κενού ( $p < 0.05$ ), αλλά μεταξύ τους δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p > 0.05$ ). Στα θετικά κατά Gram βακτήρια, η χιτοζάνη δεσμεύεται μη ομοιοπολικά με τα ανιονικά τειχοϊκά οξέα (Raafat et al., 2008). Τα τειχοϊκά οξέα διαθέτουν φωσφορικές ομάδες και ελέγχουν την ενζυμική δραστηριότητα και τη συγκέντρωση των κατιόντων στην επιφάνεια του κυττάρου (Xia et al., 2010). Η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση που δημιουργείται μεταξύ της θετικά φορτισμένης χιτοζάνης και των αρνητικά φορτισμένων οξέων, διαταράσσει τη λειτουργία τους και συνεπώς και τη λειτουργία του κυττάρου.

Σε συμφωνία με αυτά τα αποτελέσματα είναι και άλλοι ερευνητές. Οι Vasilatos et al. (2013) συσκεύασαν στήθος γαλοπούλας σε κενό, αλλά και σε κενό συνδυαστικά με τη χιτοζάνη και βρήκαν πως την ημέρα μικροβιακής αλλοίωσης του στήθους γαλοπούλας για το κενό (12<sup>η</sup> ημέρα), ο πληθυσμός του *B. thermosphacta* στη μεταχείριση κενού με χιτοζάνη 1.5% w/v ήταν 2-3 log cfu/g χαμηλότερα από τη μεταχείριση του κενού. Ακόμα, οι Sirocchi et al. (2017), συσκεύασαν βοδινό κρέας αερόβια, σε κενό και τροποποιημένη ατμόσφαιρα, παρουσία και απουσία ελαίου από δεντρολίβανο για 21 ημέρες. Βρήκαν πως στη συσκευασία κενού και τροποποιημένης ατμόσφαιρας απουσία του ελαίου, ο ρυθμός αύξησης του *B. thermosphacta* ήταν μικρότερος κατά 2 και 2.7 log cfu/g σε σύγκριση με την αερόβια συσκευασία τη 10<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης.

#### 4.1.4 Μεταβολές στα γαλακτικά βακτήρια

Τα γαλακτικά βακτήρια χαρακτηρίζονται ως προαιρετικά αναερόβιοι ζυμωτικοί μικροοργανισμοί και μπορούν να ταξινομηθούν σε ομοζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια και σε ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια με βάση το μεταβολισμό των υδατανθράκων και τα προϊόντα ζύμωσης (Ganzle et al, 2015). Αναγνωρίζονται ως σημαντικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται τόσο στον αέρα όσο και σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας και κενού παράγοντας κυρίως ξινές γεύσεις και οσμές βουτύρου οφειλόμενες κυρίως στο παραγόμενο γαλακτικό οξύ (Castellano et al., 2004). Σε συνθήκες κενού αναπτύσσονται εξ ίσου καλά (Garout et al., 1989). Στο Σχήμα 6. φαίνονται οι μεταβολές των γαλακτικών βακτηρίων συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου αποθήκευσης του κιμά κοτόπουλου.



**Σχήμα 6.** Μεταβολές στα γαλακτικά βακτήρια στα μπιφτέκια από κοτόπουλο συσκευασμένα σε α) αέρα (control), β) (κενό), γ) (χιτοζάνη) και δ) (χιτοζάνη και κενό)

Στο Σχήμα 6., σαν πρώτη παρατήρηση τα γαλακτικά βακτήρια στην αερόβια συσκευασία είχαν έναν σχετικά αργό ρυθμό ανάπτυξης με τον πληθυσμό τους να ξεκινά από τους 3.00 και να φτάνει τους 3.52 log cfu/g την 6<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης. Κάτι ανάλογο ισχύει και στην περίπτωση της συσκευασίας κενού, όπου ο πληθυσμός τους έφτασε τους 3.51 log cfu/g την 6<sup>η</sup> ημέρα. Τα γαλακτικά βακτήρια στις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης και του συνδυασμού της με το κενό εμφάνισαν

μικρή μείωση με τον πληθυσμό να φτάνει τους 2.81 και 2.87 log cfu/g την ίδια ημέρα αντίστοιχα.

Μία δεύτερη παρατήρηση είναι πως ο ρυθμός ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων ήταν ικανοποιητικός για όλες τις μεταχειρίσεις με μέγιστη τιμή του πληθυσμού τους 5.69 log cfu/g στη μεταχείριση του κενού.

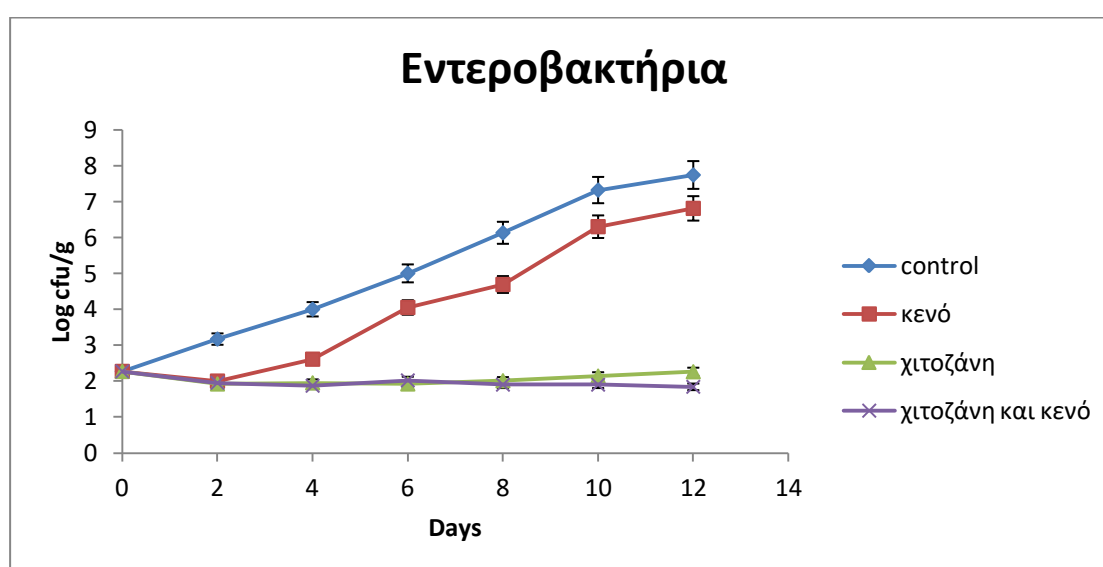
Μια τρίτη παρατήρηση είναι πως οι μεταχειρίσεις του αέρα, του κενού και του συνδυασμού του με τη χιτοζάνη είχαν παρόμοια συμπεριφορά σε σχέση με την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων. Τους μικρότερους πληθυσμούς LAB εμφάνισε η μεταχείριση με χιτοζάνη με στατιστικά σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις από την 8<sup>η</sup>-12<sup>η</sup> ημέρα ( $p < 0.05$ ). Επίσης, τις ημέρες 6 και 12, και οι 2 μεταχειρίσεις της χιτοζάνης εμφάνισαν σημαντικές διαφορές με τις μεταχειρίσεις του αέρα και του κενού ( $p < 0.05$ ).

Με βάση τα παραπάνω, φαίνεται πως το κενό, αλλά και ο συνδυασμός του με χιτοζάνη, δεν είχαν θετική επίδραση στην αναστολή της ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων. Όπως έχει αναφερθεί, τα βακτήρια αυτά είναι προαιρετικά αναερόβια και αναπτύσσονται εύκολα σε συνθήκες κενού. Όσον αφορά τη χιτοζάνη μόνη της που ήταν η μόνη που έδρασε θετικά, πιθανότατα να ισχύουν τα όσα αναφέρθηκαν για τον *B. thermosphacta*. Λόγω της αντιμικροβιακής δράσης της, θα ήταν αναμενόμενο, να υπάρχει χαμηλός πληθυσμός και στη μεταχείριση της χιτοζάνης με το κενό, γεγονός που δε συμβαίνει, γι' αυτό και μπορεί να μελετηθεί περισσότερο στο μέλλον.

Αύξηση στον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων σε συσκευασία κενού σε μπούτια κοτόπουλου παρατηρήθηκε και από τους Gertzou et al. (2017). Ο πληθυσμός των γαλακτικών ξεκίνησε και εδώ από τους 3 log cfu/g και έφτασε τους 7 log cfu/g τις ημέρες 12-14. Επίσης σύμφωνα με τους Jaaskelainen et al. (2016), μετά από δύο εβδομάδες συντήρησης βοδινού κρέατος, τα γένη *Lactococcus* και *Lactobacillus* ήταν κυρίαρχα σε συνθήκες κενού και το γένος *Leuconostoc* σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης οξυγόνου. Και στις 2 περιπτώσεις, ο πληθυσμός τους ξεπέρασε τους 8 log cfu/g την 9<sup>η</sup> ημέρα. Τέλος οι Paparella et al. (2016), έδειξαν πως η επίδραση της χιτοζάνης και ο συνδυασμός της με ριγανέλαιο 2 και 4% σε χοιρινό κρέας είχαν ανασταλτικά αποτελέσματα της τάξης των 2 log cfu/g και πάνω στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων σε σύγκριση με το control (τροποποιημένη ατμόσφαιρα 70% O<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>, 10% N<sub>2</sub>) ( $p < 0.05$ ) στη 13<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης.

#### 4.1.5 Μεταβολές στα εντεροβακτήρια

Τα εντεροβακτήρια είναι προαιρετικά αναερόβια και αποτελούν δείκτη υγιεινής στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς είναι ένδειξη των σωστών πρακτικών στον χειρισμό των πρώτων υλών και την επεξεργασία τους για τη παραγωγή των τελικών προϊόντων. Η ανάπτυξή τους σε αερόβιο περιβάλλον είναι εύκολη, ενώ σε αναερόβιο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαθεσιμότητα των ζυμώσιμων σακχάρων (Pandey et al., 1999) Στο Σχήμα 7. φαίνονται οι μεταβολές των εντεροβακτηρίων συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου αποθήκευσης του κιμά κοτόπουλου.



**Σχήμα 7.** Μεταβολές στα εντεροβακτήρια στα μπιφτέκια από κοτόπουλο συσκευασμένα σε α) αέρα (control), β) (κενό), γ) (χιτοζάνη) και δ) (χιτοζάνη και κενό)

Ο αρχικός πληθυσμός των εντεροβακτηρίων ήταν 2.27 log cfu/g όπως φαίνεται στο Σχήμα 7. Στα δείγματα control (αερόβια συσκευασία), ο πληθυσμός τους έφτασε τους 5 log cfu/g την 6<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για τα δείγματα του κενού, της χιτοζάνης και της συνδυαστικής χρήσης της με το κενό, ήταν 4.05, 1.92 και 2.02.

Παρατηρείται πως ο πληθυσμός των εντεροβακτηρίων ακολούθησε παρόμοια πορεία αύξησης στις μεταχειρίσεις του αέρα και του κενού ( $p < 0.05$ ), με τα δείγματα του αέρα να εμφανίζουν μεγαλύτερο πληθυσμό. Το αποτέλεσμα αυτό είναι λογικό, καθώς οι μικροοργανισμοί αυτοί αναπτύσσονται παρουσία και απουσία οξυγόνου.

Στις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης και της συνδυαστικής χρήσης της με το κενό, είναι εμφανές ότι ο πληθυσμός των εντεροβακτηρίων διατηρήθηκε σε χαμηλά επίπεδα

σε όλη τη διάρκεια συντήρησης. Μεταξύ τους δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p > 0.05$ ), αλλά συγκριτικά με τις μεταχειρίσεις του control και του κενού, οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές ( $p < 0.05$ ). Η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης, πιθανότατα είναι ίδια με αυτή που είχε και στις ψευδομονάδες.

Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα άλλων ερευνητών. Οι Pavelkova et al., (2014) μελέτησαν την επίδραση του κενού μόνο του, αλλά και συνδυαστικά με EDTA 1.5%, ριγανέλαιο 0.2% και θυμαρέλαιο 0.2% σε στήθος κοτόπουλο. Παρατηρήθηκε ότι στην αερόβια συσκευασία (control) και τη συσκευασία του κενού τα εντεροβακτήρια εμφάνισαν παραπλήσιο ρυθμό αύξησης, με τα εντεροβακτήρια να έχουν τελικό πληθυσμό 5.66 και 5.6 log cfu/g αντίστοιχα μετά από 18 ημέρες συντήρησης. Επίσης, οι Ouattara et al. (2000), ανέφεραν πως η ανάπτυξη των εντεροβακτηρίων σε προϊόντα κρέατος (μπολόνια, παστράμι και μαγειρεμένο χοιρινό) μειώθηκε με τη χρήση αντιμικροβιακών μεμβρανών, που περιείχαν χιτοζάνη και οξικό οξύ. Ακόμα, σύμφωνα με τους Vasilatos et al. (2013), ο συνδυασμός της χιτοζάνης 1.5% μαζί με κενό σε κρέας γαλοπούλας, διατήρησε τον πληθυσμό των εντεροβακτηρίων σε πολύ χαμηλά επίπεδα με διαφορά 2-3 log cfu/g από τη μεταχείριση του κενού τη 12<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης. Παρόμοια αποτελέσματα έδειξαν και οι Higuera et al. (2013) συσκευάζοντας στήθος κοτόπουλου σε μεμβράνες χιτοζάνης/κυκλοδεξτρίνης (CS:CD) διαφορετικού μεγέθους (μικρό 0.24 cm<sup>2</sup>, μεσαίο 4.8 cm<sup>2</sup>, μεγάλο 24 cm<sup>2</sup>) ενσωματώνοντας καρβακρόλη διαφορετικής συγκέντρωσης. Η μεγαλύτερη μεμβράνη εμφάνισε την μεγαλύτερη αναστολή στα εντεροβακτήρια μετά από 9 ημέρες συντήρησης.

## 4.2 Οργανοληπτική εξέταση

### 4.2.1 Μεταβολές στην οσμή

Οι διαδικασίες σχηματισμού της οσμής και της γεύσης συνδέονται με ενδογενείς μικροβιακές, ενζυμικές δραστηριότητες και χημικές αντιδράσεις μεταξύ φυσικών συστατικών. Τα χαρακτηριστικά του αρώματος του κοτόπουλου οφείλονται σε πλήθος ενώσεων, όπως λιπαρά οξέα, υδρογονάνθρακες, αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, εστέρες, βενζοϊκές ενώσεις, ενώσεις θείου και αζώτου (Rivas-Canedo et al., 2009; Estevez et al., 2006). Τα πτητικά λιπαρά οξέα και οι κετόνες προσδίδουν οσμές τυριού και βουτύρου και οι αλδεΐδες προσδίδουν λιπαρές χορτώδεις οσμές, οι οποίες μπορεί να εξελιχθούν σε οσμές ταγγίσματος, με υψηλές συγκεντρώσεις αλδεϋδών. Αντίθετα, οι αλκοόλες και εστέρες χαρακτηρίζονται από ευχάριστες, γλυκιές και φρουτώδεις οσμές. Οι βενζοϊκές ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις οσμές πετρελαίου, οι ενώσεις θείου για οσμές παρόμοιες με το λάχανο και το κρεμμύδι και τέλος οι ενώσεις αζώτου, όπως οι πτητικές αμίνες χαρακτηρίζονται για τη σαπίλα που προσδίδουν.

Στον Πίνακα 14. φαίνεται η οργανοληπτική αξιολόγηση της οσμής του κιμά κοτόπουλου συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης.

**Πίνακας 14.** Οργανοληπτική αξιολόγηση της οσμής του κιμά κοτόπουλου συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης

ΟΣΜΗ				
Ημέρες	Control	Κενό	Χιτοζάνη	Κενό και Χιτοζάνη
0	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00
2	4.80±0.44	4.83±0.44	3.71±0.44	4.22±0.27
4	<b>2.82±0.64</b>	4.10±0.65	3.10±0.56	4.00±0.35
6	1.41±0.54	3.00±0.27	2.79±0.47	3.24±0.27
8	1.00±0.00	<b>2.85±0.54</b>	2.75±0.61	2.83±0.60
10	1.00±0.00	2.71±0.22	<b>2.65±0.50</b>	2.92±0.65
12	1.00±0.00	1.22±0.44	2.33±0.54	<b>2.86±0.80</b>

Σύμφωνα με τον Πίνακα 14., παρατηρείται πως για τα δείγματα στην αερόβια μεταχείριση, στην 4<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης τα δείγματα ήταν οριακά αποδεκτά. Την 6<sup>η</sup> ημέρα πλέον, ο κιμάς θεωρήθηκε απορριπτός (έντονη δυσοσμία και αλλοίωση). Για τη μεταχείριση του κενού, υπήρχε καλή οσμή μέχρι την 8<sup>η</sup> ημέρα, ενώ η υποβάθμιση (δυσοσμία) είχε ξεκινήσει ήδη στην 9<sup>η</sup>-10<sup>η</sup> ημέρα, καθώς μειώθηκε η βαθμολογία στην τιμή 2.71. Όσον αφορά τη μεταχείριση της χιτοζάνης, τα δείγματα ήταν οριακά αποδεκτά μέχρι την 10<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης, ενώ την 12<sup>η</sup> ημέρα τα

δείγματα είχαν υποβαθμιστεί. Τέλος, για τη χιτοζάνη σε συνδυασμό με το κενό, τα δείγματα ήταν οριακά αποδεκτά μέχρι και την 12η ημέρα. Σε αυτή την περίπτωση, ο κιμάς δεν θεωρήθηκε απορριπτός καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου συντήρησης. Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, από την 2<sup>η</sup> ημέρα και μετά υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ της αερόβιας και των υπόλοιπων μεταχειρίσεων ( $p < 0.05$ ), πέραν αυτής του κενού τη 12<sup>η</sup> ημέρα, όπου  $p > 0.05$ . Επίσης, η μεταχείριση της χιτοζάνης εμφάνισε σημαντικές διαφορές με τη μεταχείριση του κενού και με αυτή του συνδυασμού του με χιτοζάνη μεταξύ 2<sup>ης</sup> και 4<sup>ης</sup> ημέρας ( $p < 0.05$ ), ενώ οι τελευταίες παρουσίασαν ασήμαντες διαφορές μεταξύ τους ( $p > 0.05$ ). Τέλος, τη 12<sup>η</sup> ημέρα, σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του κενού και των 2 μεταχειρίσεων με χιτοζάνη ( $p < 0.05$ ).

Στις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης η οσμή ήταν έντονη κι αυτό πιθανώς να οφείλεται στην οσμή του οξικού οξέος, στο υδατικό διάλυμα του οποίου διαλύθηκε η χιτοζάνη και δεν πρόλαβε να εξατμιστεί κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος στο φούρνο μικροκυμάτων. Η μεταχείριση χιτοζάνης με το κενό έδωσε λιγότερο όξινη οσμή, απ' ότι η χιτοζάνη μόνη της με αποτέλεσμα η οσμή του προϊόντος να παραμείνει αποδεκτή μέχρι τη 12<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης.



#### 4.2.2 Μεταβολές στη γεύση

Στον Πίνακα 15. φαίνεται η οργανοληπτική αξιολόγηση της γεύσης του κιμά κοτόπουλου συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης.

**Πίνακας 15.** Οργανοληπτική αξιολόγηση της γεύσης του κιμά κοτόπουλου συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης

Ημέρες	ΓΕΥΣΗ			
	Control	Κενό	Χιτοζάνη	Κενό και Χιτοζάνη
0	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00
2	4.70±0.67	5.00±0.00	4.52±0.35	4.53±0.35
4	<b>2.92±0.49</b>	4.43±0.41	3.30±0.44	3.74±0.44
6	NT	3.42±0.54	2.94±0.56	3.56±0.35
8	NT	<b>3.00±0.00</b>	2.75±0.68	3.00±0.69
10	NT	1.74±0.67	<b>2.62±0.54</b>	3.37±0.27
12	NT	NT	2.40±0.54	<b>3.20±0.62</b>

NT= δεν αξιολογήθηκε

Σύμφωνα με τον Πίνακα 15., παρατηρείται πως τα δείγματα στην αερόβια μεταχείριση ήταν αποδεκτά μέχρι την 4<sup>η</sup> ημέρα ενώ την 6<sup>η</sup> ημέρα κρίθηκαν ως μη αποδεκτά. Για τη μεταχείριση του κενού, τα δείγματα είχαν αποδεκτή γεύση μέχρι και την 8<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης, ενώ την 10<sup>η</sup> ημέρα θεωρήθηκαν μη αποδεκτά. Στη μεταχείριση της χιτοζάνης, τα δείγματα αξιολογήθηκαν ως οριακά αποδεκτά τη 10<sup>η</sup> ημέρα. Τέλος, τα δείγματα της μεταχείρισης της χιτοζάνης σε συνδυασμό με το κενό, κρίθηκαν ως αποδεκτά καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (12<sup>η</sup> ημέρα). Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, μεταξύ 4<sup>ης</sup> και 6<sup>ης</sup> ημέρας, η μεταχείριση της χιτοζάνης είχε σημαντικές διαφορές με τις μεταχειρίσεις του κενού και του συνδυασμού του με χιτοζάνη ( $p < 0.05$ ). Οι τελευταίες, είχαν σημαντικές διαφορές και με τη μεταχείριση του αέρα την 4<sup>η</sup> ημέρα ( $p < 0.05$ ) σε αντίθεση με τις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης και αέρα, όπου  $p > 0.05$ . Τη 10<sup>η</sup> ημέρα, η μεταχείριση του κενού εμφάνισε σημαντικές διαφορές με τις 2 μεταχειρίσεις της χιτοζάνης ( $p < 0.05$ ), όπως επίσης και η διαφορά στις τελευταίες ήταν σημαντική στις ημέρες 10-12 ( $p < 0.05$ ). Τα δείγματα της αερόβιας μεταχείρισης δε δοκιμάστηκαν από την 6<sup>η</sup> ημέρα και μετά, λόγω μικροβιακής αλλοίωσης σύμφωνα με την τιμή της Ο.Μ.Χ. Το ίδιο ισχύει και για τη μεταχείριση του κενού τη 12<sup>η</sup> ημέρα.

Όπως στην αξιολόγηση της οσμής, έτσι και στην αξιολόγηση της γεύσης, τα δείγματα στις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης, λόγω του οξικού οξέος, άφηναν μια όξινη επίγευση στον ουρανίσκο. Η μεταχείριση της χιτοζάνης με το κενό είχε λιγότερο

έντονη γεύση απ' ότι η χιτοζάνη μόνη της, με αποτέλεσμα η γεύση να παραμείνει αποδεκτή μέχρι τη 12<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης.

#### 4.3.3 Μεταβολές στην υφή

Στον Πίνακα 16. φαίνεται η οργανοληπτική αξιολόγηση της γεύσης του κιμά κοτόπουλου συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης.

**Πίνακας 16.** Οργανοληπτική αξιολόγηση της γεύσης του κιμά κοτόπουλου συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης

Ημέρες	ΥΦΗ			
	Control	Κενό	Χιτοζάνη	Κενό και Χιτοζάνη
<b>0</b>	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00
<b>2</b>	5.00±0.00	5.00±0.00	4.11±0.74	4.72±0.40
<b>4</b>	<b>4.40±0.41</b>	4.40±0.41	4.00±0.35	4.00±0.35
<b>6</b>	1.60±0.89	3.30±0.44	2.80±0.57	3.24±0.25
<b>8</b>	1.16±0.40	<b>2.66±0.51</b>	2.78±0.54	3.00±0.77
<b>10</b>	1.00±0.00	2.00±0.00	<b>2.50±0.55</b>	2.80±0.44
<b>12</b>	1.00±0.00	1.20±0.44	2.10±0.41	<b>2.60±0.54</b>

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 16., τα δείγματα στη μεταχείριση του αέρα ήταν αποδεκτά μέχρι την 4<sup>η</sup> ημέρα, ενώ στη μεταχείριση του κενού ήταν οριακά αποδεκτά μέχρι την 8<sup>η</sup> ημέρα. Η μεταχείριση με χιτοζάνη και ο συνδυασμός της με το κενό είχαν αποδεκτή υφή έως και τη 10<sup>η</sup> και τουλάχιστον τη 12<sup>η</sup> ημέρα αντίστοιχα. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής, η μεταχείριση του control εμφάνισε σημαντικές διαφορές με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις από την 6<sup>η</sup> ημέρα και μετά ( $p < 0.05$ ), εκτός από τη 12<sup>η</sup> ημέρα, όπου οι διαφορές με τη μεταχείριση του κενού ήταν ασήμαντες ( $p > 0.05$ ). Η μεταχείριση του κενού εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές με τις 2 μεταχειρίσεις της χιτοζάνης μόνο τις ημέρες 10-12 ( $p < 0.05$ ), ενώ η διαφορά στις τελευταίες ήταν ασήμαντη ( $p > 0.05$ ).

Οι αξιολογητές συμφώνησαν πως στις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης και αυτής του συνδυασμού της με το κενό, το οξικό οξύ έβγαζε μια όξινη επίγευση στον ουρανίσκο και μία έντονη οσμή, τα οποία σε συνέργεια υποβάθμιζαν ελαφρώς το προϊόν. Στις ίδιες μεταχειρίσεις, παρατηρήθηκε επιπλέον, πως η υφή στα μπιφτέκια κοτόπουλου ήταν πιο σκληρή και στεγνή, με αποτέλεσμα ο κιμάς να είναι περισσότερο στεγνός και να προκαλείται μια προσωρινή ξηρότητα στο στόμα. Αντίθετα, τα δείγματα στις μεταχειρίσεις του αέρα και του κενού, εμφάνισαν μεγαλύτερη ρευστότητα και ήταν

πιο μαλακά. Οι αλλαγές στην υφή μπορούν να επηρεαστούν από αλλαγές στις διαλυτές πρωτεΐνες, στα μυοϊνίδια καθώς και στο συνδετικό ιστό του κοτόπουλου (Murphy et al., 2000). Παρόλα αυτά, τα αρνητικά χαρακτηριστικά που προέκυψαν λόγω του οξικού οξέος, δεν ήταν αρκετά έτσι ώστε να υποβαθμιστούν τα μπιφτέκια σε μη επιτρεπτό επίπεδο. Όσον αφορά τη μεταχείριση του κενού, οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί είναι τα εντεροβακτήρια και τα γαλακτικά βακτήρια που παράγουν ξινές οσμές, οι οποίες είναι λιγότερο αποκρουστικές προς τον καταναλωτή, συγκριτικά με τις οσμές σάπιου που παράγουν τα αερόβια βακτήρια, κυρίως οι ψευδομονάδες.

Με βάση την οργανοληπτική αξιολόγηση, εξάγεται το συμπέρασμα πως η οσμή, η γεύση και η υφή κυμάνθηκαν σε παρόμοια επίπεδα, αλλά αποδείχτηκε πως η οσμή είναι πιο ευαίσθητη παράμετρος. Με βάση αυτή τη παράμετρο, ο οργανοληπτικός χρόνος συντήρησης στα μπιφτέκια κοτόπουλου συσκευασμένων αερόβια ήταν 4 ημέρες. Η συσκευασία κενού, διπλασίασε τον χρόνο σε 8 ημέρες, η προσθήκη χιτοζάνης αύξησε περαιτέρω τον χρόνο σε 10 ημέρες και τέλος η συνδυαστική χρήση του κενού με τη χιτοζάνη, αύξησε το χρόνο σε τουλάχιστον 12 ημέρες.

Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής αξιολόγησης δεν βρίσκονται σε καλή συμφωνία με τα αντίστοιχα μικροβιολογικά (Ο.Μ.Χ.). Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι δεν είναι η Ο.Μ.Χ. αλλά οι ειδικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την αλλοίωση του κρέατος κοτόπουλου (Chouliara et al., 2007). Όσον αφορά την αερόβια συσκευασία, οι αιθυλεστέρες, οι κετόνες, οι ενώσεις θείου, οι αλδεΐδες και οι αλκοόλες είναι από τις βασικές ενώσεις που συμβάλλουν στην οσμή του προϊόντος (Casaburi et al., 2015). Ο *P. fragi* είναι ο κύριος παραγωγός αιθυλεστερών και ακολουθούν ο *Br. thermosphacta*, *Sh. putrefaciens*, *Moraxella* και *Carnobacterium spp.* Άλλες ενώσεις που παράγονται είναι οι αλκοόλες, όπως 3-μέθυλ-βουτανόλη, οκτεν-3-όλη, εξανόλη και αλδεύδες, όπως 2-μέθυλ-βουτανάλη. Επίσης, οι ενώσεις θείου, όπως το διμεθυλοσουλφίδιο, διμεθυλοδισουλφίδιο, διμεθυλοτριφθοριούχο άλας, υδρόθειο, παράγονται από τους μικροοργανισμούς *P. fragi*, *P. fluorescens*, *H. Alvei*, *Aeromonas hydrophila*, *C. maltaromaticum*, *Enterobacteriaceae* (Casaburi et al., 2015). Αρνητική επίπτωση στην οσμή έχουν και οι πτητικές αμίνες, όπως μεθυλαμίνη, διμεθυλαμίνη και τριμεθυλαμίνη, καθώς και η αμμωνία που παράγονται από τα Gram-αρνητικά βακτήρια. Επίσης, σύμφωνα με τους Dainty et al., (1980, 1983), η ακετοΐνη (κετόνη) είναι η κύρια πτητική ένωση που παράγεται σε νωπό και ψημένο κρέας σε ατμόσφαιρες που περιέχουν οξυγόνο. Στη συσκευασία του κενού, ανιχνεύονται οι ίδιες ενώσεις που υπάρχουν και στην αερόβια συσκευασία, εκτός από τους εστέρες που συναντώνται σε μικρό ποσοστό, ενώ οι αλκοόλες είναι οι κύριες πτητικές ενώσεις. Ωστόσο, σε αυτή την περίπτωση συνδέονται με την ανάπτυξη των *Enterobacteria (Serratia)*, *Carnobacterium spp*, *P. fragi* και *clostridia* (Ferrocino et al., 2013, Ercolini et al., 2009). Επιπλέον, ο *Br. thermosphacta* στη συσκευασία κενού συμμετέχει πιο ενεργά στην αλλοίωση του

κιμά από τα γαλακτικά βακτήρια, παράγοντας διακετύλιο, ακετοΐνη κ.α. που έχουν οσμή βουτύρου. Τα γαλακτικά βακτήρια παράγουν κυρίως οξέα και σε αυτά οφείλεται και η όξινη οσμή.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας συμφωνούν και με άλλους ερευνητές. Οι Balamatsia et al., (2007), συσκεύασαν στήθος κοτόπουλο σε κενό και διαπίστωσαν τη θετική επίδραση που είχε στην οσμή σε σύγκριση με τη μεταχείριση του αέρα με το όριο αποδοχής να φτάνει μέχρι την 7<sup>η</sup> ημέρα και το όριο αποδοχής για τη γεύση να φτάνει τη 10<sup>η</sup> ημέρα. Θετική επίδραση είχε και η προσθήκη της χιτοζάνης σύμφωνα με τους Vardaka et al. (2016) σε κρέας γαλοπούλας συσκευασμένο σε κενό, όπου ο οργανοληπτικός χρόνος ζωής ήταν 17 ημέρες και για το κενό, απουσία χιτοζάνης ήταν 13 ημέρες. Συνεπώς, η προσθήκη της παρέτεινε το χρόνο ζωής κατά 4 ημέρες. Επίσης διαπιστώθηκε πως η χιτοζάνη προσέφερε πικάντικη γεύση. Τέλος, σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Khanjari et al. (2013). Χρησιμοποίησαν Ν,Ο-καρβοξυμεθυλοχιτοζάνη σε στήθος κοτόπουλου με το όριο αποδοχής να φτάνει τη 10<sup>η</sup>-11<sup>η</sup> ημέρα συγκριτικά με τα δείγματα control να είναι οριακά αποδεκτά την 6<sup>η</sup> ημέρα. Σημείωσαν επίσης, πως η οσμή και η γεύση αξιολογήθηκαν και οι 2 ως ευαίσθητες παράμετροι.

### 4.3 Φυσικοχημική ανάλυση

#### 4.3.1 Μεταβολή των παραμέτρων χρώματος $L^*$ , $a^*$ και $b^*$

Οι μεταβολές των παραμέτρων  $L^*$ ,  $a^*$  και  $b^*$  συναρτήσει του χρόνου και της μεταχείρισης στα μπιφτέκια από κοτόπουλο φαίνονται στον Πίνακα 17.

Πίνακας 17. Μεταβολές των παραμέτρων  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  σε μπιφτέκια από κοτόπουλο

ΧΡΩΜΑ				
Ημέρες	Control	Κενό	Χιτοζάνη	Χιτοζάνη και κενό
0	$L^* : 60.00 \pm 0.32$ $a^* : 8.18 \pm 0.22$ $b^* : 16.44 \pm 0.29$	$L^* : 60.00 \pm 0.32$ $a^* : 8.18 \pm 0.22$ $b^* : 16.44 \pm 0.29$	$L^* : 60.00 \pm 0.32$ $a^* : 8.18 \pm 0.22$ $b^* : 16.44 \pm 0.29$	$L^* : 60.00 \pm 0.32$ $a^* : 8.18 \pm 0.22$ $b^* : 16.44 \pm 0.29$
2	$L^* : 61.44 \pm 0.08$ $a^* : 6.78 \pm 0.19$ $b^* : 17.74 \pm 0.19$	$L^* : 62.46 \pm 0.15$ $a^* : 6.41 \pm 0.53$ $b^* : 16.40 \pm 1.44$	$L^* : 63.44 \pm 0.24$ $a^* : 6.61 \pm 0.16$ $b^* : 16.04 \pm 0.22$	$L^* : 63.33 \pm 0.1$ $a^* : 6.24 \pm 0.41$ $b^* : 15.86 \pm 0.63$
4	$L^* : 60.71 \pm 0.23$ $a^* : 8.54 \pm 0.16$ $b^* : 18.77 \pm 0.24$	$L^* : 59.13 \pm 0.22$ $a^* : 11.76 \pm 0.13$ $b^* : 16.32 \pm 0.28$	$L^* : 65.37 \pm 0.18$ $a^* : 6.49 \pm 0.24$ $b^* : 16.38 \pm 0.25$	$L^* : 65.31 \pm 0.06$ $a^* : 6.40 \pm 0.16$ $b^* : 17.10 \pm 0.13$
6	$L^* : 62.25 \pm 0.25$ $a^* : 5.88 \pm 0.11$ $b^* : 21.35 \pm 0.13$	$L^* : 57.90 \pm 0.41$ $a^* : 8.64 \pm 0.22$ $b^* : 18.49 \pm 0.21$	$L^* : 61.97 \pm 0.23$ $a^* : 5.42 \pm 0.16$ $b^* : 15.69 \pm 1.39$	$L^* : 62.17 \pm 0.05$ $a^* : 6.16 \pm 0.1$ $b^* : 16.11 \pm 0.23$
8	$L^* : 57.12 \pm 0.2$ $a^* : 10.86 \pm 0.49$ $b^* : 17.25 \pm 1.8$	$L^* : 61.04 \pm 0.21$ $a^* : 8.80 \pm 0.46$ $b^* : 16.51 \pm 0.34$	$L^* : 63.11 \pm 1.25$ $a^* : 5.26 \pm 0.51$ $b^* : 16.44 \pm 1.21$	$L^* : 59.48 \pm 0.04$ $a^* : 8.08 \pm 0.31$ $b^* : 13.83 \pm 0.76$
10	$L^* : 54.96 \pm 0.05$ $a^* : 12.20 \pm 0.85$ $b^* : 14.70 \pm 2.12$	$L^* : 59.09 \pm 0.02$ $a^* : 15.94 \pm 2.57$ $b^* : 13.81 \pm 1.58$	$L^* : 65.76 \pm 0.02$ $a^* : 7.22 \pm 2.04$ $b^* : 13.02 \pm 1.00$	$L^* : 64.79 \pm 0.07$ $a^* : 6.77 \pm 0.87$ $b^* : 10.25 \pm 1.32$
12	$L^* : 57.33 \pm 0.08$ $a^* : 10.72 \pm 0.17$ $b^* : 18.09 \pm 0.28$	$L^* : 58.15 \pm 0.08$ $a^* : 12.00 \pm 0.27$ $b^* : 16.49 \pm 0.12$	$L^* : 65.18 \pm 0.04$ $a^* : 6.77 \pm 0.1$ $b^* : 16.45 \pm 0.08$	$L^* : 63.77 \pm 0.25$ $a^* : 8.35 \pm 0.28$ $b^* : 16.87 \pm 0.23$

Η παράμετρος  $L^*$  αναφέρεται στο ζεύγος μαύρο-άσπρο (0-100) του συστήματος CIELAB και είναι μέτρο της φωτεινότητας. Η παράμετρος  $a^*$  αναφέρεται στο ζεύγος πράσινο-κόκκινο  $[(-)a-a]$  και είναι μέτρο της ερυθρότητας και τέλος, η παράμετρος  $b^*$  αναφέρεται στο ζεύγος μπλε-κίτρινο  $[(-)b-b]$  και είναι μέτρο της ωχρότητας.

Οι αρχικές τιμές για τα δείγματα ήταν:  $L^* = 60.00 \pm 0.32$ ,  $a^* = 8.18 \pm 0.22$  και  $b^* = 16.44 \pm 0.29$ . Αυτό που παρατηρείται γενικά, είναι πως καθ' όλη τη διάρκεια συντήρησης και οι 3 παράμετροι και στις 4 συσκευασίες παρουσίασαν αυξομειώσεις χωρίς συγκεκριμένη τάση.

Λόγω των αυξομειώσεων που παρατηρήθηκαν στην παράμετρο  $L^*$  με το πέρασμα του χρόνου, δεν ήταν δυνατό να εξαχθεί ένα σαφές συμπέρασμα για την κάθε

μεταχείριση ξεχωριστά συναρτήσει του χρόνου. Συνεπώς η σύγκριση έγινε μεταξύ όλων των μεταχειρίσεων. Όπως φαίνεται λοιπόν στον Πίνακα 17., η φωτεινότητα στη μεταχείριση του αέρα (με εξαίρεση τις ημέρες 4 και 6), είχε χαμηλότερες τιμές από τη μεταχείριση του κενού με στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλη τη διάρκεια συντήρησης ( $p < 0.05$ ). Αντίθετα, οι μεταχειρίσεις της χιτοζάνης και του συνδυασμού της με το κενό, είχαν τις μεγαλύτερες τιμές φωτεινότητας με ασήμαντες στατιστικά διαφορές μεταξύ τους μέχρι την 6<sup>η</sup> ημέρα ( $p > 0.05$ ) και σημαντικές διαφορές τις ημέρες 8-12 ( $p < 0.05$ ). Σημαντικές διαφορές είχαν και με τα δείγματα του αέρα και του κενού ( $p < 0.05$ ). Σύμφωνα με τον McDougall (1982), οι μεταβολές στη φωτεινότητα σχετίζονται με την αποσύνθεση των πρωτεϊνών του μυός. Λόγω της διάχυσης του φωτός στις πρωτεΐνες που έχουν υποστεί αποσύνθεση, αναμένεται μεγαλύτερη φωτεινότητα.

Σε συμφωνία με αυτά τα αποτελέσματα είναι και οι Petrou et al. (2012), οι οποίοι διαπίστωσαν την αύξηση της φωτεινότητας σε στήθος κοτόπουλου με προσθήκη χιτοζάνης, συγκριτικά με τα δείγματα control που ήταν συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα ( $p < 0.05$ ). Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Paparella et al. (2016), όπου η χιτοζάνη μόνη της και σε συνδυασμό με ριγανέλαιο αύξησαν τη φωτεινότητα σε χοιρινά φιλέτα, σε σύγκριση με το control που ήταν συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα.

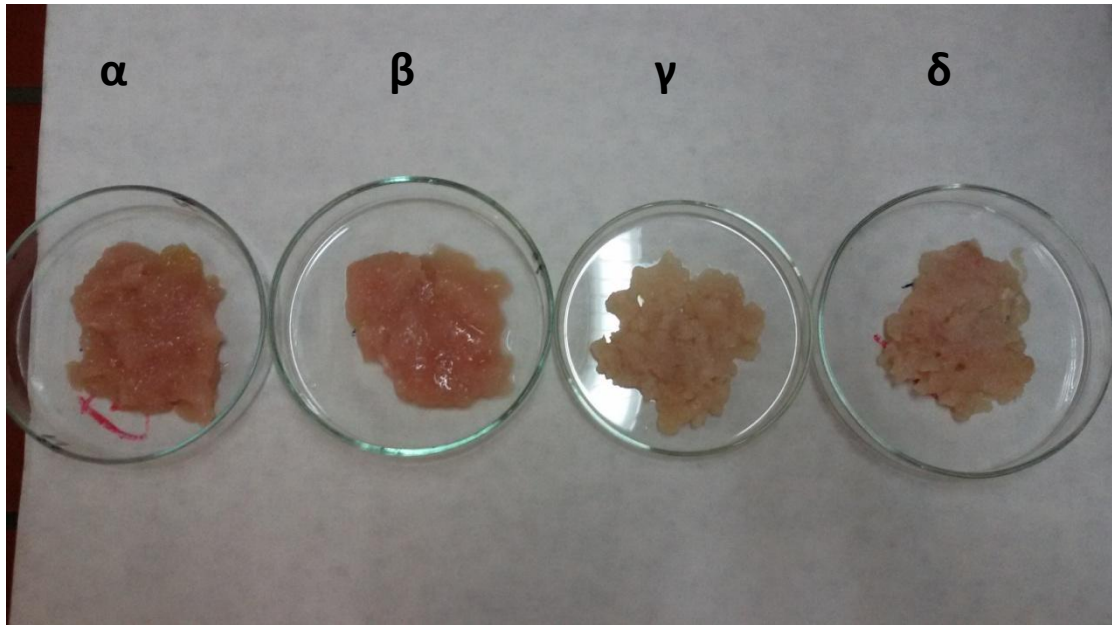
Η πιο σημαντική χρωματική παράμετρος είναι η  $a^*$ , η οποία συσχετίζεται με την οξυγόνωση της μυοσφαιρίνης. Οι υψηλές τιμές αυτής της παραμέτρου σχετίζονται με την παρουσία οξυμυογλοβίνης, ενώ η μείωση των τιμών, οφείλεται στο σχηματισμό της μεταμυογλοβίνης που δίνει σκούρο χρώμα στο κρέας (Esmer et al., 2011). Παρατηρείται λοιπόν ότι η ερυθρότητα ήταν μεγαλύτερη στη μεταχείριση του κενού με στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκριτικά με την αερόβια μεταχείριση ( $p < 0.05$ ) και σημαντικές διαφορές με τις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης ( $p < 0.05$ ), καθώς αυτές παρουσίασαν τις χαμηλότερες τιμές. Η στατιστική έδειξε επίσης, πως οι μεταχειρίσεις της χιτοζάνης είχαν σημαντικές διαφορές και με την αερόβια μεταχείριση, πέραν αυτής του κενού ( $p < 0.05$ ). Μεταξύ τους παρουσίασαν σημαντικές διαφορές τις ημέρες 6, 8, 12 ( $p < 0.05$ ). Η παρουσία οξυγόνου σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στη συσκευασία κενού, διατήρησε τη μυογλοβίνη στην ανηγμένη της μορφή που έχει βαθύ κόκκινο χρώμα. Αντίθετα στην αερόβια συσκευασία η αυξημένη συγκέντρωση οξυγόνου έδωσε, λόγω σχηματισμού μεταμυογλοβίνης, πιο ανοιχτή χροιά στο κρέας κοτόπουλου. Τα παραπάνω φαινόμενα δεν γίνονται εμφανή στο κρέας του κοτόπουλου που έχει πολύ μικρότερη συγκέντρωση μυογλοβίνης (λευκό κρέας) σε σχέση π.χ. με το βοδινό κρέας. Όσον αφορά τα μπιφτέκια που επικαλύφθηκαν με χιτοζάνη και είχαν χαμηλότερες τιμές ερυθρότητας, αυτό μπορεί να οφείλεται και στο φυσικό κιτρινόλευκο χρώμα της χιτοζάνης.

Σύμφωνα με τους Paparella et al. (2016), η παράμετρος  $a^*$ , διατηρήθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα στις μεταχειρίσεις της χιτοζάνης συγκριτικά με τα δείγματα control σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα σε χοιρινό κρέας μετά από 15 ημέρες συντήρησης, γεγονός που συμφωνεί με τα δικά μας αποτελέσματα. Όσον αφορά τη συσκευασία κενού και την αερόβια συσκευασία, οι Sirocchi et al. (2017), βρήκαν πως η ερυθρότητα σε βοδινό κρέας διατηρήθηκε σε υψηλότερα επίπεδα μέχρι τη 10<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης στη συσκευασία αέρα συγκριτικά με αυτή του κενού, γεγονός που δε συμφωνεί με τα δικά μας αποτελέσματα. Τα υψηλότερα επίπεδα της ερυθρότητας στην αερόβια συσκευασία είναι λογικά, καθώς το βοδινό κρέας έχει μεγάλες συγκεντρώσεις μυογλοβίνης, σε αντίθεση με το λευκό κρέας. Οι μεγάλες συγκεντρώσεις αυτής της πρωτεΐνης σε συνδυασμό με το οξυγόνο του αέρα, οδήγησαν στο σχηματισμό της οξυμυογλοβίνης που έδωσε το έντονο κόκκινο χρώμα στο κρέας, σε αντίθεση με τη συσκευασία του κενού, όπου τα αποθέματα οξυγόνου ήταν λιγοστά.

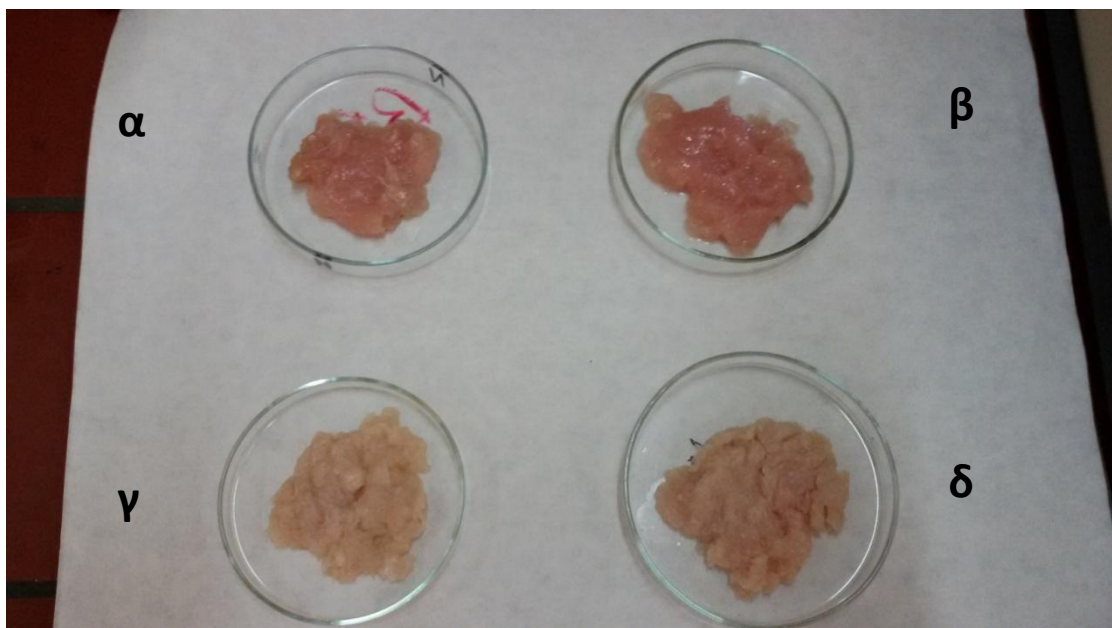
Οι τιμές της παραμέτρου  $b^*$  διατηρήθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα σε όλες μεταχειρίσεις και για όλες τις ημέρες, με στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την αερόβια μεταχείριση ( $p < 0.05$ ). Επιπλέον, οι μεταχειρίσεις του κενού και της χιτοζάνης παρουσίασαν σημαντικές διαφορές με τις μεταχειρίσεις της συνδυαστικής χρήσης χιτοζάνης και κενού από την 4<sup>η</sup> ημέρα και μετά ( $p < 0.05$ ). Εξαιρεση ήταν η 6<sup>η</sup> ημέρα, όπου η μεταχείριση του κενού παρουσίασε σημαντικές διαφορές και με τις 2 μεταχειρίσεις της χιτοζάνης ( $p < 0.05$ ).

Σε συμφωνία είναι και τα αποτελέσματα των Ahn & Lee (2004) που βρήκαν αύξηση στις τιμές  $b^*$  σε στήθος γαλοπούλας που συσκευάστηκε στον αέρα, σε σύγκριση με το κενό σε διάρκεια συντήρησης 15 ημερών. Επίσης, οι Giatrakou et al. (2012), οι οποίοι χρησιμοποιώντας χιτοζάνη, ριγανέλαιο και τροποποιημένη ατμόσφαιρα σε συνδυασμό και μη, σε στήθος κοτόπουλου, δεν παρατήρησαν σημαντικές στατιστικά διαφορές στην παράμετρο  $b^*$  ( $p > 0.05$ ).

Στις Εικόνες 13. και 14. φαίνονται οι μεταβολές στο χρώμα του κιμά κοτόπουλου μετά από 6 και 12 ημέρες συντήρησης αντίστοιχα.



**Εικόνα 13.** Μεταβολές στο χρώμα των δειγμάτων (α. αερόβια συσκευασία, β. συσκευασία κενού, γ. συσκευασία χιτοζάνης, δ. συσκευασία χιτοζάνης και κενό) μετά από 6 ημέρες συντήρησης υπό ψύξη

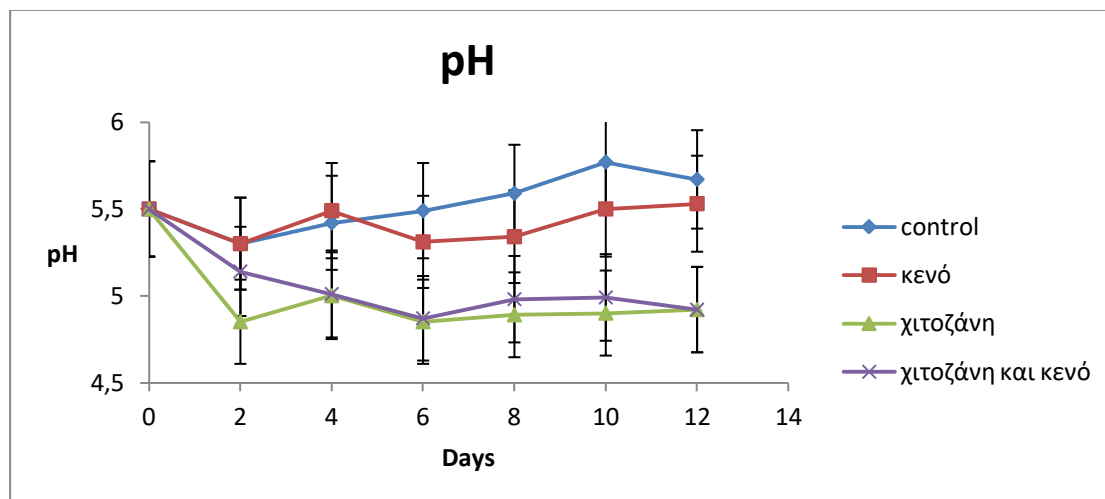


**Εικόνα 14.** Μεταβολές στο χρώμα των δειγμάτων (α. αερόβια συσκευασία, β. συσκευασία κενού, γ. συσκευασία χιτοζάνης, δ. συσκευασία χιτοζάνης και κενό) μετά από 12 ημέρες συντήρησης υπό ψύξη.



### 4.3.2 Μεταβολές στο pH

Στο Σχήμα 8. φαίνονται οι μεταβολές του pH συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης του κιμά κοτόπουλου.



**Σχήμα 8.** Μεταβολές στο pH στα μπιφτέκια από κοτόπουλο συσκευασμένα σε α) αέρα (control), β) (κενό), γ) (χιτοζάνη) και δ) (χιτοζάνη και κενό)

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 8. η αρχική μέτρηση του pH είχε την τιμή 5.5. Στην αερόβια συσκευασία οι τιμές κυμάνθηκαν από 5.5-5.77, στη συσκευασία κενού από 5.5-5.53, στη συσκευασία χιτοζάνης από 5.5-4.92 και τέλος στη συσκευασία του συνδυασμού κενού και χιτοζάνης, οι τιμές κυμάνθηκαν από 5.5-4.99. Παρατηρείται ότι οι τιμές του pH στη μεταχείριση του αέρα ήταν αυξημένες σε σύγκριση με τις μεταχειρίσεις του κενού και αυτών που περιλάμβαναν τη χιτοζάνη. Ειδικότερα οι τελευταίες καθ' όλη τη διάρκεια συντήρησης είχαν μειωμένες τιμές συγκριτικά με την αρχική τιμή, ενώ το κενό είχε μειωμένες τιμές μέχρι την 8<sup>η</sup> ημέρα. Τα δείγματα του αέρα με τα δείγματα του κενού παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ( $p < 0.05$ ), αλλά και με τις 2 μεταχειρίσεις της χιτοζάνης ( $p < 0.05$ ). Οι τελευταίες είχαν μικρές, αλλά σημαντικές συγκριτικά διαφορές τις ημέρες 2, 8, 10 ( $p < 0.05$ ).

Οι χαμηλότερες τιμές pH στα δείγματα που περιλάμβαναν χιτοζάνη ήταν αναμενόμενες, με δεδομένο ότι η χιτοζάνη ήταν διαλυτή σε υδατικό διάλυμα οξικού οξέος. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση του pH στα δείγματα μεταχείρισης με χιτοζάνη. Όσον αφορά τις χαμηλότερες τιμές pH στη μεταχείριση κενού σε σχέση με την αερόβια μεταχείριση ήταν κι αυτές αναμενόμενες, καθώς το κενό συντηρεί το κρέας παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη των ψευδομονάδων με αποτέλεσμα την καθυστέρηση παραγωγής αμινοενώσεων που με τη σειρά τους αυξάνουν το pH.

Ένας δεύτερος λόγος για το χαμηλότερο pH στη μεταχείριση κενού είναι η ευκολότερη ανάπτυξη των LAB απουσία του ανταγωνισμού των ψευδομονάδων με αποτέλεσμα την μεγαλύτερη παραγωγή γαλακτικού οξέος (Jimenez et al., 1997). Επίσης στις συσκευασίες κενού, αναπτύσσεται και ο *B. thermosphacta* που συμβάλλει στη μείωση του pH, λόγω παραγωγής γαλακτικού οξέος (Pin et al., 2002) και δημιουργεί δυσμενές περιβάλλον για την ανάπτυξη παθογόνων και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (Jay et al., 2005). Η αύξηση του pH σχετίζεται κυρίως με την πρωτεόλυση μέσω της δράσης των ψευδομονάδων, με αποτέλεσμα την παραγωγή βασικών ενώσεων, όπως η αμμωνία, διμεθυλαμίνη, τριμεθυλαμίνη κ.α., καθώς και στη χρήση των ελεύθερων αμινοξέων (Jay et al., 1962).

Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και με τους Sirocchi et al. (2017) που συσκεύασαν βοδινό κρέας παρουσία και απουσία *Rosmarinus officinalis* L. (έλαιο δεντρολίβανου) αερόβια και υπό κενό. Οι τιμές pH για την αερόβια συσκευασία απουσία του ελαίου κυμάνθηκαν από 5.6-6, ενώ για τη συσκευασία του κενού διατηρήθηκαν σε σταθερά επίπεδα (pH=5.5 μέχρι τη 10<sup>η</sup> ημέρα), ενώ τη 15<sup>η</sup> ημέρα το pH μειώθηκε στο 5.4. Μείωση του pH παρατηρήθηκε και από Paparella et al., (2016) με εφαρμογή της χιτοζάνης μόνη της και σε συνδυασμό με *Origanum vulgare* (ριγανέλαιο) 2 και 4% σε χοιρινό κρέας που συσκευάστηκε σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (control). Οι τιμές για το control μέχρι τη 13<sup>η</sup> ημέρα κυμάνθηκαν από 5.96-5.69, για τη χιτοζάνη από 5.60-5.53 και για το συνδυασμό με ριγανέλαιο 2 και 4%, κυμάνθηκαν από 5.54-5.56 και 5.45-5.82 αντίστοιχα. Τέλος, οι Latou et al. (2014) συμπέραναν πως ο συνδυασμός χιτοζάνης και τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε φιλέτα κοτόπουλου έδωσε τιμές pH 5.85-5.96 σε 14 ημέρες συντήρησης, ενώ αντίθετα η αερόβια συσκευασία, είχε πιο αυξημένες τιμές pH (6.13-6.28) τις πρώτες 6 ημέρες.

### 4.3.3 Αριθμός θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)

Η μέθοδος 2-θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη δοκιμή για την αποτίμηση της οξειδωσης σε κρέας και προϊόντα κρέατος κ.α. (Gomez et al., 2003). Η δοκιμή TBA είναι μια χρωματομετρική μέθοδος και προσδιορίζει την περιεκτικότητα του τροφίμου σε μηλονική διαλδεΐδη (MDA) και άλλες ενώσεις που μπορούν να αντιδράσουν με 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ. Η MDA σχηματίζεται μέσω υδροϋπεροξειδίων, τα οποία είναι προϊόντα αντίδρασης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων με το οξυγόνο. Κατά την αντίδραση, 2 μόρια TBA και ένα μόριο MDA αντιδρούν δίνοντας ροζ χρώμα που ανιχνεύεται φασματοφωτομετρικά στα 532-538nm (Ferrari, 2002). Ο αριθμός TBA εκφράζει την οξειδωση των λιπιδίων σε mg μηλονικής διαλδεΐδης ανά kg κρέατος (Pikul et al., 1989). Για τα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$7.8 \times \text{Abs} = \text{mg μηλονικής διαλδεΐδης/kg δείγματος}$$

Οι τιμές της μηλονικής διαλδεΐδης στα μπιφτέκια από κοτόπουλο διατηρήθηκαν σε όλες τις μεταχειρίσεις και σε όλη τη διάρκεια αποθήκευσης σε χαμηλά επίπεδα, με ανώτερη τιμή τα 0.56 mg MDA/kg. Η τιμή αυτή είναι πιο κάτω από το κατώτατο όριο των 2mg/kg στο οποίο γίνονται αντιληπτές οι οσμές οξειδωσης (Buyn et al., 2003). Οι πολύ χαμηλές τιμές MDA οφείλονται στο γεγονός ότι το στήθος κοτόπουλου, από το οποίο παρασκευάστηκε ο κιμάς περιέχει πολύ μικρή ποσότητα λίπους (κάτω από 4 %). Λόγω της χαμηλής ποσότητας λιπαρών, δεν ήταν δυνατή η οξειδωση του λίπους ακόμα και στα δείγματα που ήταν συσκευασμένα στον αέρα. Όσον αφορά τα δείγματα που συσκευάστηκαν κενό, ο περιορισμός στην οξειδωση ήταν ακόμα μεγαλύτερος, λόγω παρουσίας οξυγόνου σε ποσοστό 1-2% στο εσωτερικό της συσκευασίας. Τέλος, η χιτοζάνη, όπως έχει ήδη αναφερθεί, αποτελεί σημαντικό φραγμό στο οξυγόνο, συνεπώς συντελεί στην αναστολή της οξειδωσης. Επιπλέον, δρα ως χηλικός παράγοντας σε μέταλλα, όπως τα ιόντα σιδήρου, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν υπεροξειδωση των λιπιδίων (Yen et al., 2008). Συνεπώς εκτός από αντιμικροβιακός, θεωρείται και αντιοξειδωτικός παράγοντας. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και με άλλους ερευνητές που ανέφεραν χαμηλά ποσοστά TBA.

Οι Chouliara et al. (2007), διαπίστωσαν χαμηλές τιμές TBA σε φιλέτα κοτόπουλου συσκευασμένα στον αέρα, σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και με επικάλειψη ριγανέλαιου 1 και 2%. Οι τιμές αυτές κυμάνθηκαν από 0.1-0.9 mg MDA/kg. Παρατήρησαν επίσης, πως η χρήση ριγανέλαιου δεν επηρέασε το βαθμό της οξειδωσης.

Οι Petrou et al., (2012), συσκεύασαν φιλέτα κοτόπουλου σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, συνδυαστικά και μη, με εμβάπτιση σε χιτοζάνη και με επικάλειψη ριγανέλαιου και βρήκαν πως κατά τη διάρκεια συντήρησης 21 ημερών, όλες οι

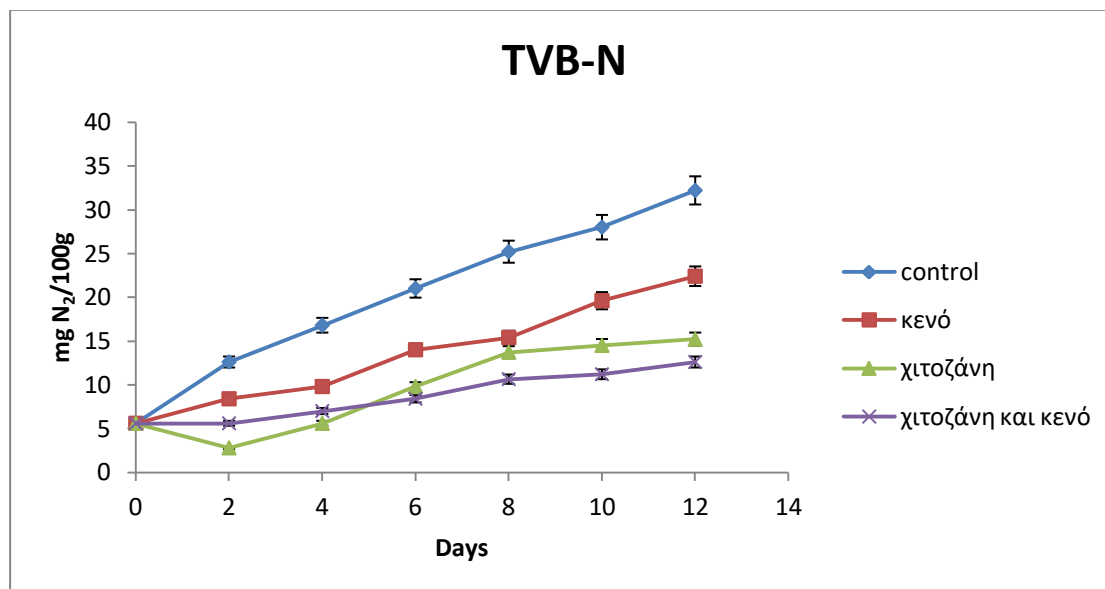
μεταχειρίσεις είχαν χαμηλές τιμές TBA. Η ανώτερη τιμή που σημειώθηκε ήταν 0.50 mg και η χαμηλότερη τιμή ήταν 0.1 mg MDA/kg για τα φιλέτα που συσκευάστηκαν σε MAP+χιτοζάνη+ριγανέλαιο μετά από 21 ημέρες.

Επίσης, οι Latou et al., (2014), χρησιμοποίησαν, τροποποιημένη ατμόσφαιρα και χιτοζάνη σε συνδυασμό και μη, για να συσκευάσουν φιλέτα κοτόπουλου. Οι τιμές TBA που βρήκαν κυμάνθηκαν από 0.29-0.60 mg MDA/kg για τα δείγματα αέρα μέχρι την 6<sup>η</sup> ημέρα, 0.29-0.65 mg MDA/kg για τα δείγματα που εμβάπτιστηκαν σε οξικό οξύ μετά από 14 ημέρες συντήρησης, 0.29-0.19 mg MDA/kg για τα δείγματα συσκευασμένα σε MAP, 0.29-0.25 mg MDA/kg για τα δείγματα με εμβάπτιση σε χιτοζάνη και 0.29-0.27 mg MDA/kg για τα δείγματα σε MAP και χιτοζάνη.

Οι Hassanzadeh et al. (2017), συσκευάσαν φιλέτα κοτόπουλου με τις εξής μεταχειρίσεις: αέρας (control), ακτινοβόληση (I), εμβάπτιση σε χιτοζάνη (CH), ακτινοβόληση + εμβάπτιση σε χιτοζάνη (ICH), εμβάπτιση σε χιτοζάνη + εκχύλισμα από κουκούτσι σταφυλιού 0.1% (CHG), ακτινοβόληση + εμβάπτιση σε χιτοζάνη + εκχύλισμα σταφυλιού 0.1% (ICHG). Οι τιμές TBA για τα φιλέτα που συσκευάστηκαν στον αέρα κυμάνθηκαν από 0.32-0.61 mg MDA/kg μέχρι την 9<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης. Τα φιλέτα CH είχαν τιμές από 0.18-0.90 mg MDA/kg μετά από 21 ημέρες, τα φιλέτα ICH, είχαν τιμές από 0.30-1.73 mg MDA/kg, τα φιλέτα CHG, είχαν τιμές από 0.08-0.39 mg MDA/kg και τέλος, τα φιλέτα ICHG, είχαν τιμές από 0.21-1.31 mg MDA/kg. Όπως φαίνεται, σε όλες τις μεταχειρίσεις, οι τιμές TBA ήταν κάτω από το όριο των 2 mg MDA/kg με τη χιτοζάνη να συντελεί ακόμα περισσότερο στη μείωση των τιμών.

#### 4.3.4 Ολικό πτητικό άζωτο (TVB-N)

Στο Σχήμα 9. φαίνονται οι μεταβολές του TVB-N συναρτήσει της μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης του κιμά κοτόπουλου.



**Σχήμα 9.** Μεταβολές στο TVB-N στα μπιφτέκια από κοτόπουλο συσκευασμένα σε α) αέρα (control), β) (κενό), γ) (χιτοζάνη) και δ) (χιτοζάνη και κενό)

Το ολικό πτητικό άζωτο (TVB-N) λειτουργεί ως δείκτης προσδιορισμού του βαθμού αποικοδόμησης των πρωτεϊνών του κρέατος και των ψαριών για την παραγωγή πτητικών αμινοενώσεων. Τα βακτήρια αλλοίωσης του κρέατος είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία πτητικών αμινών, όπως διμεθυλαμίνη, τριμεθυλαμίνη και αμμωνία, μέσω της μεταβολικής διάσπασης των αμινοξέων και τη δημιουργία ανεπιθύμητων οσμών (Pacquit et al., 2007).

Η ποσότητα ολικού πτητικού αζώτου στα μπιφτέκια, προκύπτει από τον παρακάτω τύπο:

$$\text{TVB} - \text{N} \left( \text{mg} \frac{\text{N}_2}{100 \text{ g δείγματος}} \right) = \left\{ \frac{[(V_1 - V_2) * 14 * C]}{\left[ m * \left( \frac{5}{100} \right) \right]} \right\} * 100$$

όπου:

**C:** συγκέντρωση HCl 0.01M

**V<sub>1</sub>:** ml HCl για το δείγμα

**V<sub>2</sub>:** ml HCl για το τυφλό

**m:** μάζα του δείγματος σε γραμμάρια

**14:** ατομικό βάρος του αζώτου

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 9., η αρχική τιμή για το TVB-N (ημέρα-0) στα μπιφτέκια κοτόπουλου ήταν 5.6 mg N<sub>2</sub>/100g και έφτασε τα 32.2 mg N<sub>2</sub>/100g για την αερόβια μεταχείριση τη 12<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης, τα 22.4 mg N<sub>2</sub>/100g για τη μεταχείριση κενού, τα 15.2 mg N<sub>2</sub>/100g για τη μεταχείριση χιτοζάνης και τα 12.6 mg N<sub>2</sub>/100g για τη μεταχείριση χιτοζάνης σε συνδυασμό με το κενό. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας, προέκυψε πως τα δείγματα που ήταν συσκευασμένα στον αέρα είχαν σημαντικές διαφορές με αυτά που συσκευάστηκαν στο κενό ( $p < 0.05$ ), όπως επίσης είχαν σημαντικές διαφορές και με τα δείγματα της χιτοζάνης, αλλά και του συνδυασμού της με το κενό σε όλη τη διάρκεια συντήρησης ( $p < 0.05$ ). Οι μεταχειρίσεις της χιτοζάνης παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους μόνο μετά από την 8<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης ( $p < 0.05$ ). Όσον αφορά τα δείγματα του κενού, παρουσίασαν σημαντικές διαφορές τόσο με τα δείγματα που συσκευάστηκαν στον αέρα, όσο και με εκείνα που συσκευάστηκαν σε χιτοζάνη και σε κενό παρουσία χιτοζάνης ( $p < 0.05$ ).

Το προτεινόμενο ανώτατο όριο αποδοχής ως ένδειξη αποδεκτής φρεσκότητας που έχει προταθεί για χοιρινό κρέας είναι 30 mg N<sub>2</sub>/100g (Byun et al., 2003). Λαμβάνοντας υπόψη αυτό τα όρια, τα μόνα δείγματα που φαίνεται να έχουν αλλοιωθεί, είναι αυτά του αέρα (στις 12 ημέρες συντήρησης), κάτι το οποίο δεν ισχύει. Σύμφωνα με τα οργανοληπτικά αποτελέσματα, τα δείγματα του αέρα αλλοιώθηκαν την 4<sup>η</sup> ημέρα, τα δείγματα του κενού την 8<sup>η</sup> ημέρα, τα δείγματα χιτοζάνης τη 10<sup>η</sup> ημέρα και τα δείγματα της χιτοζάνης με το κενό δεν είχαν αλλοιωθεί έως και τη 12<sup>η</sup> ημέρα. Οι αντίστοιχες τιμές του TVB-N για τις μεταχειρίσεις τις συγκεκριμένες ημέρες ήταν 16.8, 15.4, 14.5 και 12.6 mg N<sub>2</sub>/100g. Με βάση αυτές τιμές, προτείνεται το όριο των 15-20 mg N<sub>2</sub>/100g ως ένδειξη φρεσκότητας για τα μπιφτέκια κοτόπουλου.

Οι Mexis et al., (2012), συσκευάσαν κιμά κοτόπουλου για 14 ημέρες και με βάση τον χρόνο οργανοληπτικής απόρριψης των δειγμάτων βρήκαν τις εξής τιμές TVB-N: 32.9 N<sub>2</sub>/100g (0<sup>η</sup> ημέρα), 57.5 mg N<sub>2</sub>/100g για τα δείγματα που συσκευάστηκαν στον αέρα (4<sup>η</sup> ημέρα), 49.5 και 42.5 mg N<sub>2</sub>/100g για τα δείγματα με εκχύλισμα Citrox 0.1 και 0.2% αντίστοιχα (6<sup>η</sup> ημέρα), 43 mg N<sub>2</sub>/100g για τα δείγματα με απορροφητή οξυγόνου (7<sup>η</sup> ημέρα) και 42.5 mg N<sub>2</sub>/100g για τα δείγματα με απορροφητή οξυγόνου σε συνδυασμό με 0.1 και 0.2% εκχύλισμα Citrox (8<sup>η</sup>-9<sup>η</sup> και 9<sup>η</sup> ημέρα αντίστοιχα). Προκύπτει πως το ανώτατο όριο των 30 mg N<sub>2</sub>/100g είχε ήδη ξεπεραστεί τη μηδενική ημέρα. Οι υψηλές τιμές TVB-N πιθανώς οφείλονται στον υψηλό αρχικό πληθυσμό της Ο.Μ.Χ. (5.9 log cfu/g).

Οι Balamatsia et al., (2007), συσκευάσαν φιλέτα κοτόπουλου υπό κενό και υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα M1, 30%/65%/5% (CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>) και M2, 65%/30%/5% (CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>) για 15 ημέρες. Θέτοντας ως όριο τα 40 mg N<sub>2</sub>/100g και λαμβάνοντας υπ' όψη το χρόνο οργανοληπτικής απόρριψης των δειγμάτων, βρήκαν πως τα δείγματα σε αερόβια συσκευασία είχαν 20.5 mg N<sub>2</sub>/100g (0<sup>η</sup> ημέρα), 40 mg N<sub>2</sub>/100g (6<sup>η</sup> ημέρα), τα δείγματα σε συσκευασία κενού ξεπέρασαν το όριο αυτό μετά από 7-8 ημέρες και τα δείγματα σε συσκευασία M1, ξεπέρασαν το όριο των 40 mg N<sub>2</sub>/100g μετά από 11-12 ημέρες. Τα δείγματα σε M2 δεν ξεπέρασαν το όριο σε όλη τη διάρκεια συντήρησης. Οι υψηλές τιμές TVB-N πιθανώς να οφείλονται και εδώ στο υψηλό αρχικό μικροβιακό φορτίο (O.M.X.) που ήταν 4.9 log cfu/g.

Οι Langroodi et al. (2018) συσκευάσαν βοδινό κρέας αερόβια, σε MAP, σε χιτοζάνη, σε χιτοζάνη και σουμάκ (μπαχαρικό για κρέατα) 2% , σε χιτοζάνη και σουμάκ 4%, σε χιτοζάνη, σουμάκ 2% και θυμαρέλαιο 1% και τέλος, σε χιτοζάνη, σουμάκ 4% και θυμαρέλαιο 1%. Ανέφεραν πως η αρχική O.M.X ήταν 4.63 log cfu/g και όταν ξεπέρασε τους 7 log cfu/g, τα επίπεδα TVB-N αυξήθηκαν πάνω από 14 mg N<sub>2</sub>/100g. Αρχική τιμή για το TVB-N ήταν τα 7.93 mg N<sub>2</sub>/100g και μέγιστη τιμή ήταν τα 30 mg N<sub>2</sub>/100g στην αερόβια συσκευασία μετά από 20 ημέρες συντήρησης. Οι μεταχειρίσεις της χιτοζάνης είχαν ανασταλτική επίδραση στην αύξηση του TVB-N στο βοδινό κρέας και εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές και από τη MAP.

Οι Economidou et al. (2009), συσκευάσαν φιλέτα κοτόπουλου σε 1) αέρα, 2) νισίνη 500 IU/g, 3) νισίνη 1500 IU/g, 4) νισίνη 500 IU/g-10mM EDTA, 5) νισίνη 1500 IU/g-10mM EDTA, 6) νισίνη 500 IU/g-50mM EDTA, 7) νισίνη 1500 IU/g-50mM EDTA σε MAP 65%/30%/5% (CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>). Με βάση την οργανοληπτική απόρριψη των δειγμάτων έθεσαν τα 40 mg N<sub>2</sub>/100g ως ανώτατο όριο φρεσκότητας. Η αρχική χλωρίδα ήταν 4.3 log cfu/g και η αρχική τιμή TVB-N ήταν 23.6 mg N<sub>2</sub>/100g. Τα δείγματα 1, 2, 3, 4 ξεπέρασαν το όριο των 40 mg N<sub>2</sub>/100g στις ημέρες 10, 12, 15 και 17, ενώ τα δείγματα 5, 6 και 7 δεν ξεπέρασαν το όριο σε όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Οι διαφορετικές τιμές που έχουν τεθεί ως ανώτατο όριο για το TVB-N διαφέρουν μεταξύ των προηγούμενων ερευνητών και της παρούσας μελέτης. Το όριο των 15-20 mg N<sub>2</sub>/100g στη συγκεκριμένη μελέτη, προτάθηκε κατόπιν οργανοληπτικής απόρριψης των δειγμάτων, η οποία διαφέρει στο κοτόπουλο, λόγω των διαφορετικών μεταχειρίσεων, αλλά και διαφορετικής μικροβιακής κατάστασης. Η αρχική OMX στην παρούσα έρευνα ήταν 3.19 log cfu/g, που είναι πιο κάτω από τις τιμές των προηγούμενων ερευνητών. Συνεπώς, το κοτόπουλο αποδείχτηκε πως ήταν πολύ καλύτερης ποιότητας και γι' αυτό διατήρησε το TVB-N σε χαμηλότερα επίπεδα. Προκύπτει λοιπόν, πως το TVB-N δεν είναι αξιόπιστος δείκτης φρεσκότητας.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Με βάση τα μικροβιολογικά δεδομένα, οι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί που επικράτησαν στα μπιφτέκια κοτόπουλου ήταν οι ψευδομονάδες, ο *Br. thermosphacta* και τα εντεροβακτήρια, ενώ τα γαλακτικά βακτήρια, κυμάνθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα.
- Η Ολική μεσόφιλη χλωρίδα, ξεπέρασε τους 7 log cfu/g την 6<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης για τη μεταχείριση του αέρα, ενώ η μεταχείριση του κενού προσέγγισε το όριο αποδοχής 6.95 log cfu/g τη 12<sup>η</sup> ημέρα. Η μεταχείριση της χιτοζάνης και η μεταχείριση της χιτοζάνης σε συνδυασμό με το κενό, διατήρησαν το Ο.Μ.Χ. σε χαμηλότερα επίπεδα, με πληθυσμούς log cfu/g ήταν 4.77 και 4.3 αντίστοιχα.
- Οι ψευδομονάδες εμφάνισαν υψηλούς πληθυσμούς στη μεταχείριση του αέρα, ενώ η εφαρμογή κενού, μείωσε τον πληθυσμό τους κατά 3.53 log cfu/g μετά από 12 ημέρες. Οι μεταχειρίσεις της χιτοζάνης και του συνδυασμού της χιτοζάνης με το κενό, είχαν ακόμα καλύτερα αποτελέσματα με μείωση του πληθυσμού των ψευδομονάδων κατά 6.72 log cfu/g σε σχέση με την αερόβια συσκευασία μετά από 12 ημέρες.
- Ο *Br. thermosphacta* εμφάνισε τον μεγαλύτερο πληθυσμό στην αερόβια μεταχείριση. Η προσθήκη κενού, μείωσε τον πληθυσμό του κατά 2.55 log cfu/g, η προσθήκη της χιτοζάνης κατά 5.05 log cfu/g και τέλος, ο συνδυασμός της χιτοζάνης με το κενό, μείωσε τον πληθυσμό του κατά 6.72 log cfu/g μετά από 12 ημέρες.
- Στα εντεροβακτήρια ο πληθυσμός ήταν μεγαλύτερος στη μεταχείριση του αέρα. Οι μεταχειρίσεις του κενού, της χιτοζάνης και του συνδυασμού της με το κενό, μείωσαν τον πληθυσμό των εντεροβακτηρίων κατά 0.93, 5.48 και 5.9 log cfu/g μετά από 12 ημέρες.
- Τα γαλακτικά βακτήρια εμφάνισαν παρόμοιο πληθυσμό σε όλες τις μεταχειρίσεις, εκτός από αυτή της χιτοζάνης μετά την 6<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης όπου ο πληθυσμός διατηρήθηκε κάτω από τους 3 log cfu/g.
- Όσον αφορά το χρώμα, καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης και οι 3 παράμετροι  $L^*$ ,  $a^*$  και  $b^*$  και στις 4 μεταχειρίσεις παρουσίασαν αυξομειώσεις. Σαν γενική τάση, παρατηρήθηκε πως η προσθήκη της χιτοζάνης, αύξησε τη φωτεινότητα (μεγαλύτερες τιμές  $L^*$ ) και τα μπιφτέκια κοτόπουλου είχαν χαμηλότερες τιμές ερυθρότητας  $a^*$ . Αντίθετα, τις υψηλότερες τιμές ερυθρότητας, εμφάνισε η μεταχείριση του κενού. Στην παράμετρο  $b^*$  δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές.
- Οι τιμές του pH στην αερόβια συσκευασία κυμάνθηκαν από 5.5-5.77, στη συσκευασία κενού από 5.5-5.53, στη συσκευασία χιτοζάνης από 5.5-4.92 και



τέλος στη συσκευασία του συνδυασμού κενού και χιτοζάνης, οι τιμές κυμάνθηκαν από 5.5-4.99. Συνεπώς, η προσθήκη της χιτοζάνης, οδήγησε σε μείωση του pH προφανώς λόγω του όξινου χαρακτήρα του οξικού οξέος που χρησιμοποιήθηκε για τη διάλυση της χιτοζάνης.

- Ο αριθμός θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA), διατηρήθηκε σε όλες τις μεταχειρίσεις καθ' όλη τη διάρκεια συντήρησης κάτω από το όριο των 2mg MDA/kg. Αυτό σημαίνει πως δεν υπήρχε σημαντική οξείδωση του λίπους, αφού το κοτόπουλο και ιδιαίτερα το στήθος, έχει χαμηλά ποσοστά λίπους.
- Το ολικό πτητικό άζωτο (TVB-N) ξεπέρασε το προτεινόμενο όριο των 15 mg N<sub>2</sub>/100g την 3<sup>η</sup>-4<sup>η</sup> ημέρα στην αερόβια μεταχείριση, την 8<sup>η</sup> ημέρα στη μεταχείριση του κενού, τη 12<sup>η</sup> ημέρα στη μεταχείριση της χιτοζάνης, ενώ στο συνδυασμό της χιτοζάνης με το κενό, το όριο αυτό δεν ξεπεράστηκε σε όλη τη διάρκεια συντήρησης.
- Τα δεδομένα της οργανοληπτικής αξιολόγησης έδειξαν ότι δε βρίσκονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα μικροβιολογικά, διότι δεν είναι η Ο.Μ.Χ, αλλά οι ειδικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί, υπεύθυνοι για την αλλοίωση. Επιπλέον, από τις παραμέτρους που αξιολογήθηκαν, η οσμή ήταν η πιο ευαίσθητη και με βάση αυτή, τα δείγματα control απορρίφθηκαν την 4<sup>η</sup> ημέρα, ενώ τα δείγματα σε κενό και χιτοζάνη απορρίφθηκαν τις ημέρες 8 και 10 αντίστοιχα. Τέλος, τα δείγματα με συνδυαστική χρήση κενού και χιτοζάνης, δεν έφτασαν το όριο απόρριψης στο διάστημα των 12 ημερών.
- Συμπερασματικά, λαμβάνοντας υπόψη τα μικροβιολογικά, φυσικοχημικά και οργανοληπτικά αποτελέσματα, ο χρόνος ζωής των δειγμάτων στις 4 μεταχειρίσεις είχε ως εξής: Τα μπιφτέκια κοτόπουλου που συντηρήθηκαν στον αέρα, είχαν χρόνο ζωής 4 ημέρες, ενώ οι κατεργασίες με κενό, εμβάπτιση σε χιτοζάνη και κενό σε συνδυασμό με εμβάπτιση σε χιτοζάνη, παρέτειναν το χρόνο ζωής στα μπιφτέκια, κατά 4, 6 και τουλάχιστον 8 ημέρες αντίστοιχα.

## 6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η επίδραση του κενού, της εμφάνισης σε διάλυμα χιτοζάνης και η συνδυαστική χρήση κενού και εμφάνισης σε διάλυμα χιτοζάνης, στη διάρκεια ζωής κιμά κοτόπουλου που συντηρήθηκε υπό ψύξη για 12 ημέρες. Οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν μικροβιολογικές (ΟΜΧ, Ψευδομονάδες, *Brochothrix thermosphacta*, Γαλακτικά βακτήρια και Εντεροβακτήρια), φυσικοχημικές (χρώμα, pH, TBA και TVB-N) και οργανοληπτικές (οσμή, γεύση και υφή) συναρτήσει του μεταχείρισης και του χρόνου συντήρησης. Οι μεταχειρίσεις ήταν οι εξής: C (αερόβια συσκευασία), V (δείγματα υπό κενό), CH(δείγματα που εμφάνιστηκαν σε διάλυμα χιτοζάνης 1% w/v) και CH+V (δείγματα υπό κενό σε συνδυασμό με εμφάνιση σε διάλυμα χιτοζάνης 1% w/v). Οι μικροοργανισμοί που επικράτησαν ήταν οι ψευδομονάδες, ο *B. thermosphacta* και τα εντεροβακτήρια στις συσκευασίες αέρα και κενού, ενώ στις συσκευασίες της χιτοζάνης, ο πληθυσμός τους ήταν πολύ χαμηλός. Τα γαλακτικά βακτήρια κυμάνθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα σε όλες τις μεταχειρίσεις. Την 6<sup>η</sup> ημέρα μικροβιολογικής απόρριψης του C, τα κατεργασμένα δείγματα έδειξαν μείωση στον πληθυσμό της ΟΜΧ κατά 1.15 log cfu/g (V), 3.83 log cfu/g (CH) και 4.06 log cfu/g (CH+V). Παρόμοια συμπεριφορά υπήρχε και στους άλλους μικροοργανισμούς. Όσο αφορά τη φυσικοχημική ανάλυση, η παράμετρος  $L^*$  είχε μεγαλύτερες τιμές στις μεταχειρίσεις της CH, η παράμετρος  $a^*$  είχε μεγαλύτερες τιμές στη μεταχείριση του V, ενώ η παράμετρος  $b^*$  δεν παρουσίασε διαφοροποιήσεις. Οι τιμές του pH κυμάνθηκαν από 5.5 (0<sup>η</sup> ημέρα) μέχρι 5.67 (C), 5.53 (V), 4.92 (CH) και 4.99 (CH+V) τη 12<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης. Το TBA ήταν ίσο ή μικρότερο του 0.56 mg MDA/kg για όλες τις μεταχειρίσεις. Το TVB-N κυμάνθηκε από 5.6 mg N<sub>2</sub>/100g μέχρι 32.2 mg N<sub>2</sub>/100g (C), 22.4 mg N<sub>2</sub>/100g (V), 15.2 mg N<sub>2</sub>/100g (CH) και 12.6 mg N<sub>2</sub>/100g (CH+V) μετά από 12 ημέρες. Τέλος, από την οργανοληπτική αξιολόγηση, βρέθηκε πως η οσμή ήταν η πιο ευαίσθητη παράμετρος. Βασιζόμενοι πρωτίστως στα οργανοληπτικά και ακολούθως στα μικροβιολογικά και φυσικοχημικά αποτελέσματα προέκυψε ο χρόνος ζωής των δειγμάτων που ήταν 4 ημέρες για τα δείγματα (C), 8 για τα δείγματα (V), 10 για τα δείγματα (CH) και τουλάχιστον 12 για τα δείγματα (CH+V).

## 7. ABSTRACT

In this study the effect of vacuum, immersion in chitosan solution and the combined use of vacuum and immersion in chitosan solution of minced chicken which was stored under refrigeration, was investigated for a period of 12 days. The analyses performed were microbiological (TVC, *Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta*, *Lactic acid bacteria* and *Enterobacteriaceae*), physicochemical (color, pH, TBA and TVB-N) and sensory (odor, taste and texture) as a function of treatment and storage time. The treatments were as follows: C (aerobic packaging), V (vacuum packaging), CH (immersion in chitosan solution 1% w/v) and CH + V (vacuum packaging combined with immersion in chitosan solution 1% w/v). The predominant microorganisms were *Pseudomonas*, *B. thermosphacta* and *Enterobacteriaceae* in air and vacuum packaged samples, while in chitosan samples their population was very low. *Lactic acid bacteria* were at a lower level in all treatments. On the 6th day of microbiological rejection of C, the treated samples showed a decrease in the TVC population reduced by 1.15 log cfu/g (V), 3.83 log cfu/g (CH) and 4.06 log cfu/g (CH + V). A similar behavior was recorded in the other microorganisms. As for physicochemical analysis, the L \* parameter had higher values in CH treatments, parameter a \* had higher values in V treatment, while parameter b \* did not show any variations. The pH values ranged from 5.5 (day 0) to 5.67 (C), 5.53 (V), 4.92 (CH) and 4.99 (CH + V) on day 12 of storage. TBA was equal to or less than 0.56 mg MDA/kg for all treatments. TVB-N ranged from 5.6 mg N<sub>2</sub>/100g to 32.2 mg N<sub>2</sub>/100g (C), 22.4 mg N<sub>2</sub>/100g (V), 15.2 mg N<sub>2</sub>/100g (CH) and 12.6 mg N<sub>2</sub>/100g (CH + V) after 12 days. Finally, from the sensory evaluation was found that odor was the most sensitive parameter. Based primarily on sensory and then on microbiological and physicochemical results, the minced chicken shelf life was 4 days for samples (C), 8 for samples (V), 10 for samples (CH) and at least 12 for samples (CH + V).

## **8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Αρβανιτογιάννης Ι.Σ., Στρατάκος Α.Χ., 2011. Τεχνολογίες επεξεργασίας και συσκευασίας τροφίμων. University Studio Press, Θεσσαλονίκη
- Βουδούρης Ε. και Κοντομηνάς Μ., 1997. Χημεία Τροφίμων, Ο.Ε.Δ.Β., Αθήνα
- Βουδούρης Ε. και Κοντομηνάς Μ., 1997. Ανάλυση Τροφίμων, Ο.Ε.Δ.Β., Αθήνα
- Κοντομηνάς Μ., 2016. Ανάλυση τροφίμων. Σημειώσεις Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
- Μπαδέκα Α., 2012. Συσκευασία Τροφίμων. Παραδόσεις Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
- Μπλούκας Ι.Γ., 2004. Συσκευασία Τροφίμων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα
- Μπλούκας Ι.Γ., 2007. Τεχνολογία Κρέατος. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα
- Παπαβέργου Α., 2014. Τεχνολογία Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης. Παραδόσεις Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης
- Παπαδάκης Σ.Ε., 2012. Συσκευασία Τροφίμων. Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη
- Ρηγανάκος Κ., 2016. Συντήρηση και επεξεργασία τροφίμων. Μελέτη ισόθερμων προσρόφησης του νερού σε τρόφιμα. Σημειώσεις Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
- Τζιά Κ., Ταούκης Π., Ωραιοπούλου Β., 2009. Επιστήμη και μηχανική τροφίμων: Συστατικά-Ιδιότητες-Μικροβιολογία-Ποιότητα-Συσκευασία. Εκδόσεις Ε.Μ.Π, Αθήνα
- Τζιά Κ., 2010. Σχεδιασμός και λειτουργία βιομηχανίας τροφίμων. Εκδόσεις Ε.Μ.Π., Αθήνα

- Aalhus J.L., Dugan M.E.R., 2004. Oxidative and Pigments. Agriculture and Agri-Food Canada, Lacombe, AB, Canada. Elsevier Ltd.
- Adams M.R., Moss M.O., 2007. Food Microbiology (Third Edition). Food Microbiol. Ed. 3, xiv + 463pp
- Ahmad S.M., Don Bosco S.J., Ahmad M.S., 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. Meat Science 98, pp: 21–33
- Ahn D.U., Lee E.J., 2004. Mechanisms and prevention of off-odor production and color changes in irradiated meat. ACS Symposium Series 875, pp: 43–76
- Alboofetileh M., Rezaei M., Hosseini H., Abdollahi M., 2014. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. Food Control 36, pp: 1-7
- Association of Official Chemists (AOAC), 2002. Official methods of analysis, 17th edn. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists
- Aymerich T., Picouet P.A. and Monfort J.M., 2008. Decontamination technologies for meat products. Meat Sci. 78, pp: 114-129
- 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, pp: 1622–1628
- Barbut S. and Findlay C.J., 1989. Sodium reduction in poultry products: a review. CRC Critical Rev. Poultry Biol. 2, pp: 59
- Barbut S., 2015. Science of poultry and meat processing
- Bassi R., Prasher S.O., Simpson B.K., 1999. Effects of organic acids on the adsorption of heavy metal ions by chitosan flakes. Journal of Environmental Science and Health, Part A 34, pp: 289-294
- Bazargani-Gilani B., Aliakbarlu J., Tajik H., 2015. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. Innovative Food Science and Emerging Technologies 29, pp: 280–287
- Bellisle F., McDevitt R., Prentice A.M., 1997. Meal frequency and energy balance. Br. J. Nutr. 77 Suppl 1, pp: S57–S70
- Biesalski H.-K., 2005. Meat as a component of a healthy diet - are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? Meat Science 70 (3), 509–524

- Blixt Y., Borch E., 2002. Comparison of shelf life of vacuum-packed pork and beef, *Meat Science* Volume 60 (4), pp: 371-378
- Borch E., Kant-Muermans M.L., Blixt Y., 1996. Bacterial spoilage of meat and cured meat product *Int. J. Food Microbiol.* 33, pp: 103-120
- Bordenave N., Grelier S., Coma V., 2007. Water and moisture susceptibility of chitosan and paper-based materials: Structure-property relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (23), pp: 9479-9488
- Brewer M. S., 2009. Irradiation effects on meat flavor: A review. *Meat Science* 81, pp: 1–14.
- Brody A. L., 1997. Packaging of food. In A. L. Brody, & K. S. Marsh (Eds.), *The Wiley encyclopedia of packaging* 2nd ed. New York: Wiley, pp: 699-704
- Brody A. L., 2005. Commercial uses of active food packaging and modified atmosphere packaging systems. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging* Amsterdam: Elsevier Academic Press, pp: 457–474
- Byun J.S., Min J.S., Kim I.S., Kim J.W., Chung M.S. & Lee M., 2003. Comparison of indicators of microbial quality of meat during aerobic cold storage. *Journal of Food Protection* 66, pp: 3839-3843
- Campos F.P., Dosualdo G.L. & Cristianini M., 2003. Utilizacao da Tecnologia de Alta Pressao no Processamento de Alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology* 6, pp: 351-357
- Carroll C.D., Alvarado C.Z., 2008. Comparison of air and immersion chilling on meat quality and shelf life of marinated broiler breast fillets. *Poultry Sci* 87, pp: 368-372
- Casaburi A., Piombino P., Nychas G.J., Villani F., Ercolini D., 2015. Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage, *Food Microbiology* 45, pp: 83-102
- Cassens RG, 1994. *Meat Preservation, Preventing Losses and Assuring Safety*. 1st Edn., Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, USA, pp: 79-92
- Castellano P.H., Holzapfel W.H., Vingolo G.M., 2004. The control of *Listeria innocua* and *Lactobacillus sakei* in broth and meat slurry with the bacteriocinogenic strain *Lactobacillus casei* CRL705. *Food Microbiol.* 21, pp: 291-298
- Chang S.-H., Lin Hong-Ting V., Wu G.J., Tsai G.J., (2015). pH effects on solubility zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 134, pp: 74-81

- Chen C.S., Liao W.Y., Tsai G.J., 1998. Antibacterial effects of *N*-sulfonated and *N*-sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. *Journal of Food Protection*, 61 (9), pp: 1124
- Chien R.C., Yen M.T., Mau J.L., 2016. Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells, *Carbohydrate Polymers* Volume 138, pp: 259-264
- Chouliara E., Karatapanis A., Savvaidis I.N., Kontominas M.G., 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C, *Food Microbiology* 24, pp: 607–617
- Civille G.V., Oftedal K.N., 2012. Sensory evaluation techniques- Make “good for you” taste “good, *Physiology & Behavior* 107, pp: 598–605
- Coma V., 2008. A review: Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products *Meat Science*, 78 (1), pp: 90-103
- Cortinas L., Barroeta A., Villaverde C., Galobart J., Guardiola F., Baucells M.D., 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poult. Sci.* 84, pp: 48–55
- Cutter C.N., 2006. *Meat Sci.* 74 (1), pp: 131–142
- Dainty R.H., Mackey B.M., 1992. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes (Supplement 21). *J. Appl. Bacteriol.*, pp: 103-114 (Symposium)
- Dave D. and Ghaly A.E., 2011. Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 6 (4), pp: 486-510
- De Kruijf N., Van Beest M., Rijk R., Sipiläinen-Malm T., Paseiro-Losada P. & de Meulenaer B., 2002. Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. *Food Additives & Contaminants* 19, pp: 144–162
- Descalzo A.M., & Sancho A.M., 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), pp: 423–436
- D'Evoli L., Salvatore P., Lucarini M., Nicoli S., Aguzzi A., Gabrielli P., et al., 2009. Nutritional value of traditional Italian meat-based dishes: influence of cooking methods and recipe formulation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 60 (Suppl. 5), pp: 38–49

- Dominguez R., Barba F.J., Gomez B., Putnik P., Kovacevic D.B, Pateiro M., Santos E.M., Lorenzo J.M., 2018. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. *Food Research International* 113, pp: 93–101
- Doulgeraki A.I., Paramithiotis S., Nychas G.J.E., 2011. Characterization of the *Enterobacteriaceae* community that developed during storage of minced beef under aerobic or modified atmosphere packaging conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 145, pp: 77-83
- Doulgeraki A.I., Ercolini D., Villani F., Nychas G.J.E., 2012. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 157, pp: 130-141
- Dutta P.K., Tripathi S., Mehrotta G.K., Dutta J., 2009. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry* 114, pp: 1173–1182
- Economou T., Pournis N., Ntzimani A., Savvaidis I.N., 2009. Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chemistry* 114 (4), pp: 1470-1476
- El Knidri H., Belaabed R., Addaou A., Laajeb A., Lahsini A., 2018. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* 120, pp: 1181–1189
- Ellis M.J., 1994. The methodology of shelf life determination. In *Shelf life Evaluation of Foods*. Eds, C.M.D Man and A.A. Jones. Blackie Academic and professional, pp: 10-120
- Ellouze M., Augustin J.C. , 2010. Applicability of biological time temperature integrators as quality and safety indicators for meat products *International Journal of Food Microbiology* Volume 138 (1–2), pp: 119-129
- Ercolini D., Russo F., Blaiotta G., Pepe O., Mauriello G., Villani F., 2007. Simultaneous detection of *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, and *P. putida* from meat by use of a multiplex PCR assay targeting the car A gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, pp: 2354-2359
- Ercolini D., Russo F., Nasi A., Ferranti P., Villani F., 2009. Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential *in vitro* and in beef. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, pp: 1990-2001
- Ercolini D., Casaburi A., Nasi A., Ferrocino I., Di Monaco R., Ferranti P., Mauriello G., Villani F., 2010a. Different molecular types of *Pseudomonas fragi* have the overall behaviour as meat spoilers. *Int. J. Food Microbiol.* 142, pp: 120-131



- Esmer O.K., Irkin R., Degirmencioglu N., Degirmencioglu A., 2011. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, colour and oxidation values of minced beef meat *Meat Science* 88, pp: 221-226
- Estévez M., 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*. 89 (3), pp: 259-279
- Estévez M., 2015. Oxidative damage to poultry: from farm to fork. *Poultry Science* 94 (6), pp: 1368–1378
- Evageliou V., Gerolymatou A., Sotirakoglou K., Gardeli G., Yanniotis S., 2015 Retention of trans-anethole by single and double layered films based on gelatin. *Food Hydrocolloids* 47, pp: 94-98
- Falguera V., Quintero J. P., Jimenez A., Munoz A., & Ibarz A., 2011. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. *Trends Food Science and Technology* 22, pp: 291-303
- Fang Z., Zhao Y., D. Warner R., K. Johnson S., 2017. Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science & Technology* 61, pp: 60-71
- FAO/WHO (1991). Protein quality evaluation.pdf
- Faustmann C. & Cassens R.G., 1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. In: *Journal of Muscle Foods*. 1 (3), pp: 217-243
- Feiner G., 2006b. *Meat products handbook, Practical science and technology*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited
- Fernández-Pan I., Carrión-Granda X., Maté J.I., 2014. Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets. *Food Control* 36, pp: 69-75
- Ferrari C.K.B. , Torres G.A.F.S, 2002. Lipid oxidation and quality parameters sausages marketed locally in the town of Sao Paolo (Brazil). *Czech J. Food Scie.* 20, pp: 144-150
- Ferrocino I., La Stora A., Torrieri E., Spagna S.R., Musso S.S., Mauriello G., Villani F., Ercolini D., 2013. Antimicrobial packaging to retard the growth of spoilage bacteria and to reduce the release of volatile metabolites in meat stored under vacuum at 1 °C. *J. Food Prot.* 76, pp: 52-58
- Filomena S., Fernanda C.D., Cristina N., 2018. Control microbial growth on fresh chicken meat using pinosylvin inclusion complexes based packaging absorbent pads. *LWT - Food Science and Technology* 89, pp: 148–154

- Fu Q.Q., Liu R., Zhang W.G., Li Y.P., Wang J., Zhou G.H., 2015. Effects of different packaging systems on beef tenderness through protein modifications. *Food and Bioprocess Technology* 8, pp: 580-588
- Galus S., Kadzinska J., 2015. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology* 45, pp: 273-283
- Gänzle M.G., 2015. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Curr. Opin. Food Sci.* 2, pp: 106-117
- Garout A.M., Al-Rashed A.A., Bell R.G., 1989. Storage life of vacuum and carbon dioxide-packed New Zealand chilled lamb imported into Saudi Arabia. In: *Proceedings of the 35th International Congress of Meat Science and Technology*. Danish Meat Research Institute, Roskilde, Denmark, pp: 376–388
- Gatellier P., Kondjoyan A., Portanguen S., Santé-Lhoutellier V., 2010. Effect of cooking on protein oxidation in n-3 polyunsaturated fatty acids enriched beef. Implication on nutritional quality *Meat Science* 85, pp: 645-650
- Gerber N., Scheeder M.R.L. & Wenk C., 2009. The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science* 81 (1), pp: 148–154
- Gertzou I.N., Karabagias I.K., Drosos P.E., Riganakos K.A., 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, pp: 18-26
- Giannakas A., Patsaoura A., Barkoula M.-M., Ladavos A., 2017. A novel solution blending method for using olive oil and corn oil as plasticizers in chitosan based organoclay nanocomposites. *Carbohydr. Polym.*, 157, pp: 550-557
- Giatrakou V., Ntzimani A., Savvaidis I.N., 2010. Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product. *Food Microbiology* 27 (1), pp: 132-136
- Gill C.O., 1986. Meat and poultry microbiology. In: Pearson, A.M., Dutson, T.R. (Eds.), *Advances in Meat Research: the Control of Microbial Spoilage in Fresh Meats*. T.L. Macmillan, New York, pp. 49-88
- Gill C.O., 1992. Application of preservative packagings to chilled raw meats. *Canadian Meat Science Association Symposium* 7, pp: 1–8
- Gomes H.A., Silva E.N., Nascimento M.R.L., Fukuma H.T., 2003. Evaluation of 2-thiobarbituric acid method for the measuring of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry* 80, pp: 433-437

- Gómez-Estaca J., Gavara R., Catalá R. & Hernández-Muñoz P., 2016. The potential of proteins for producing food packaging materials: A review. *Packaging Technology and Science* 29(4–5), pp: 203–224
- Gotoh N., Miyake S., Takei H., Sasaki K., Okuda S., Ishinaga M., Wada S., 2011. Simple method for measuring the peroxide value in a colored lipid *Food Analytical Methods* 4, pp: 525-530
- Goy R.C., Britto D.D., Assis O.B.G., 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan *Polímeros* 19, pp: 241-247
- Goy Rejane C., Morais Sinara T.B., Assis Odilio B.G., 2016. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 26 (1), pp: 122-127
- Grandison A.S., Jennings A., 1993. Extension of the shelf life of fresh minced chicken meat by electron beam irradiation combined with modified atmosphere packaging. *Food Control*. 4 (2), pp: 83
- Gray J.I. and Pearson A.M., 1994. Lipid-derived off-flavor in meat-formation and inhibition. In: *Flavor of meat and meat products*. 1st Edn., Shahidi, F. (Ed.) Chapman and Hall, London, U.K, pp: 117- 139
- Grossi A., Bolumar T, Søltoft-Jensen J., Orlien V., 2014. High pressure treatment of brine enhanced pork semitendinosus: effect on microbial stability, drip loss, lipid and protein oxidation, and sensory properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 22, pp: 11-21
- Guyon C., Meynier A., de Lamballerie M., 2016. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high pressure treatments. *Trends in Food Science & Technology* 50, pp: 131-143
- Hansen E., Trinderup R. A., Hviid M., Darre M. & Skibsted L.H., 2003. Thaw drip loss and protein characterization of drip from air-frozen, cryogen-frozen, and pressure-shift-frozen pork longissimus dorsi in relation to ice crystal size. *European Food Research & Technology* 218, pp: 2–6
- Hansen E., Juncher D., Henckel P., Karlsson A., Bertelsen G. & Skibsted L. H., 2004. Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science* 68, pp: 479–484
- Hassan B., Chatha S.A.S., Hussain A.I., Zia K.M., Akhtar N., 2018. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 109, pp: 1095–1107
- Hassanzadeh Parviz, Tajik Hossein, Mehdi Razavi Rohani Seyed, Moradi Mehran, Hashemi Mohammad, Aliakbarlu Javad, 2017. Effect of functional chitosan coating

and gamma irradiation on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Radiation Physics and Chemistry* 141, pp: 103–109

-Heinz G., Hautzinger P., 2007. *Meat Processing Technology. For Small-to Medium Scale Producers.* Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific.

-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, pp: 235-244

-Higuera L., López-Carballo G., Hernández-Muñoz P., Gavara R., Rollini M., 2013. Development of a novel antimicrobial film based on chitosan with LAE (ethyl-N<sup>o</sup>-dodecanoyl-L-arginate) and its application to fresh chicken. *International Journal of Food Microbiology* 165, pp: 339–345

-Higuera L., López-Carballo G., Hernández-Muñoz P., Catalá R., Gavara R., 2014. Antimicrobial packaging of chicken fillets based on the release of carvacrol from chitosan/cyclodextrin films. *International Journal of Food Microbiology* 188, pp: 53–59

-Higuera L., Lopez-Carballo G., Gavara R. & Hernandez-Munoz P., 2015a. Incorporation of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrins into chitosan films to tailor loading capacity for active aroma compound carvacrol. *Food Hydrocolloids* 43, pp: 603–611

-Holman B.W.B, Kerry J.P., Hopkins D.L., 2018. Meat packaging solutions to current industry challenges: A review. *Meat Science* 144, pp: 159–168

-Hosseinnejad M. & Jafari S.M., 2016. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* 85, pp: 467–475

-Huis in't Veld J.H.J., 1996. Microbial and biochemical spoilage of foods: An overview. *International Journal of Food Microbiology* 33, pp: 1–18

-ICMSF and International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1986. *Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications*, 2nd ed., Vol. 2. University of Toronto Press, Toronto.

-DIN 53122-2, Water Vapor Permeability WVTR (Electrolysis Method), A Mecadi GmbH In der Kolling 966450 Bexbach, Germany

-DIN 53380-2, Gas permeability (Plastic Films Manometric), A Mecadi GmbH In der Kolling 966450 Bexbach, Germany.

-INSRJ, 2006. *INSRJ Tabela de Composição de Alimentos*, Lisbon

- Jääskeläinen E., Hultman J., Parshintsev J., Riekkola M.-L., Björkroth J., 2016. Development of spoilage bacterial community and volatile compounds in chilled beef under vacuum or high oxygen atmospheres. *International Journal of Food Microbiology* 223, pp: 25–32
- Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A., 2005. Taxonomy role and significance of microorganisms in foods. *Modern food microbiology*, 7th Edition, Springer Science and Business Media, Inc., New York, pp: 13-31
- Jay J.M., Loessner M.J. and Golden D.A., 2005. *Modern Food Microbiology*, 7th Edition, Springer Science and Business Media, Inc., New York, pp: 63-90, 101-125
- Jaye M., Kittaka R.S., Ordal Z.J., 1962. The effect of temperature and packaging material on the storage life and bacterial flora of ground beef. *Food Technology* 16, pp: 95-98
- Jimenez S.M., Salsi M.S., Tiburzi M.C., Rafaghelli R.C., Tessi M.A., Coutaz V.R., 1997. Spoilage microflora in fresh chicken breast stored at 4°C: Influence of packaging methods. *Journal of Applied Microbiology* 83, pp: 613-618
- Kaewprachu P., Osako K., Benjakul S., Tongdeesoontorn W., Rawdkuen S., 2016. Biodegradable protein-based films and their properties: A comparative study. *Packaging Technology and Science* 29, pp: 77–90
- Karam L., Roustom R., Abiad M.G., El-Obeid T., Savvaidis I.N., 2019. Combined effects of thymol, carvacrol and packaging on the shelf-life of marinated chicken. *International Journal of Food Microbiology* 291, pp: 42-47
- Kerch G., Korkhov V., 2011. Effect of storage time and temperature on structure, mechanical and barrier properties of chitosan-based films *Eur. Food Res. Technol.* 232 (1), pp: 17-22
- Kerry J.P., O'Grady M.N. & Hogan S.A., 2006. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science* 74, pp: 113-130
- Khanjari A., Karabagias I.K., Kontominas M.G., 2013. Combined effect of N,O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets. *LWT-Food Science and Technology* 53, pp: 94-99
- Kirk R.S. & Sawyer R., 1991. *Pearson's composition and analysis of foods*. 9th ed. Essex: Longman Scientific & Technical, pp: 643

- Koutsoumanis K. & Nychas G-J.E., 1999. Chemical and sensory changes associated with microbial flora of Mediterranean boque (Boops boops) stored aerobically at 0, 3, 7 and 10°C. *Applied and Environmental Microbiology* 65, pp: 698–706
- Koutsoumanis K.P. & Taoukis, P., 2005. Meat safety, refrigerated storage and transport: modeling and management. In J.N. Sofos (Ed.), *Improving the Safety of Fresh Meat*, pp: 503–561
- Krochta J.M., Mulder-Johnston C.D., 1997. Synthesis and Characterization of Soy Protein Isolate/MMT Nanocomposite Film for the Control Release of the Drug Ofloxacin. *Food Technol.* 51 (2), pp: 61–74
- Kropf D.H., 2004. *Packaging*. Kansas State University, Manhattan, KS, USA. Elsevier Ltd.
- Kubota N., Eguchi Y., 1997. Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water-solubility. *Polym J* 29, pp: 123-127
- Kumar Dutta P., Dutta J., Tripathi V.S., 2004. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research* 63, pp: 20-31
- Kumari S., Rath P., Hari A.S., Tiwari T.N., 2015. Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method. *Environ. Technol. Innov.* 3, pp: 77-85
- Kumirska J., Czerwicka M., Kaczyński Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thöming J., Stepnowski P., 2010. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan *Mar. Drugs* 8, pp: 1567-1636
- Kuswandi B., Nurfawaidi A., 2017. On-package dual sensors label based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control* 82, pp: 91-100
- Labadie J., 1999. Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Sci.* 52 pp: 299-305
- Lambert A.D., Smith J.P., Dodds K.L., 1991. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review. *Food Microbiology* 8, pp: 267–297
- Lambertus A.M. van den Broek, Rutger J.I. Knoop, Frans H.J. Kappen, Carmen G. Boeriu, 2015. Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers* 116, pp: 237–242
- Lange J. & Wyser Y., 2003. Recent innovations in barrier technologies for plastic packaging. *Packaging Technology and Science* 16, pp: 149–158

- Langroodi A.M., Tajik H., Mehdizadeh T., Moradi M., Kia Moghaddas E., Mahmoudian A., 2018. Effects of sumac extract dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss oil on the shelf-life of meat in modified atmosphere packaging. *LWT* 98, pp: 372-380
- Latou E., Mexis S.F., Badeka A.V., Kontakos S., Kontominas M.G., 2014. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology* 55, pp: 263-268
- Lawless H.T., Heymann H., 1998. Sensory evaluation of food: principles and practices. Chapman and Hall, New York
- Lawrie R.A., Ledward D.A., 2006. Lawrie's Meat Science. Seventh English, edition ed. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited
- Leandro Coutinho de Oliveira T. , L.S. Ramos A., Mendes Ramos E., Piccoli R.H. and Cristianini M., 2015. Natural antimicrobials as additional hurdles to preservation of foods by high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology* 45, pp: 60-85
- Leroy F., Verluyten J., De Vuyst L., 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 106, pp: 270-285
- Leroy F., Geyzen A., Janssens M., De Vuyst L. and Scholliers P., 2013. Meat fermentation at the crossroads of innovation and tradition: A historical outlook. *Trends in Food Science & Technology* 31, pp: 130-137
- Liao C.H., 2006. Food spoilage microorganisms. In: Blackburn, C.W. (Ed.), *Pseudomonas and Related Genera*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp: 213-286
- Lim S.-H., Hudson S.M., 2004. Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group. *Carbohydr. Res.* 339, pp: 313–319
- Linares M.B., Berruga M.I., Bornezv R., Vergara H., 2007. Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. *Meat Sci.* 76: pp: 715-720
- Lindgren S.E., Dobrogosz W.J., 1991. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol. Lett.* 87, pp: 149–163
- Lombardi-Boccia G., Lanzi S., Aguzzi A., 2005. Aspects of meat quality: Trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(1), pp: 39–46

- McDougall D.B., 1982. Changes in colour and opacity of meat. *Food Chemistry* 9, pp: 75-88
- McMeekin T.A., 1982. Developments in food microbiology. In: Davies, R. (Ed.), *Microbial Spoilage of Meats*. Applied Science Publisher, London, pp: 1-40
- McMeekin T. A., Baranyi J., Bowman, J., Dalgaard P., Kirk M., Ross T., et al., 2006. Information systems in food safety management. *International Journal of Food Microbiology* 112, pp: 181–194
- McMillin K.W., 2008. Where is MAP Going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science* 80, pp: 43-65
- McMillin K. W., 2017. Advancements in meat packaging. *Meat Science* 132, pp: 153–162
- McMillin K.W., 2017. Advancements in meat packaging. *Meat Science* 132, pp: 153–162
- Mead G.C., 2004. Poultry refrigeration, In: *Poultry meat processing and quality*, G.C. Mead (Ed.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp: 164-185
- Mehyar G.F., Al-Ismael K., Han J.H, Chee G.W., 2012. *J. Food Sci.* 77 (2), pp: 52–59
- Mexis S.F., Chouliara E., Kontominas M.G., 2012. Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract. *LWT - Food Science and Technology* 49, pp: 21-27
- Mondry H., 1996. Packaging systems for processed meat. In S.A. Taylor, A. Raimundo, M. Severini & F.J.M. Smulders (Eds.). *Meat quality and meat packaging*, pp: 323-333
- Moreno O., Atarés L., Chiralt A., Cruz-Romero M.C., Kerry J., 2018. Starch-gelatin antimicrobial packaging materials to extend the shelf life of chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology* 97, pp: 483–490
- Mujtaba M., Morsi R.E., Kerch G., Elsabee M.Z., Kaya M., Labidi J., Khawar K.M., 2019. Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 121, pp: 889-904.
- Murphy R.Y., Marks B.P., 2000. Effect of Meat Temperature on Proteins, Texture, and Cook Loss for Ground Chicken Breast Patties. *Poultry Science*, 79, pp: 99–104
- Muxika A., Etxabide A., Uranga J., Guerrero P., de la Caba K., 2017. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* 105, pp: 1358–1368



- Narasimba D., Schinadra N.M., 2002. Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products. *Food Reviews International* 18 (4), pp: 263-293
- Nollet L.M.L., Boylston T., Chen F., Coggins, Hyldig, G., McKee L.H., Kerth C.R., 2007. *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality*. (L.M.L. Nollet, Ed.), Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing
- Nychas G.J.E., Dillon V.M., Board R.G., 1988. Glucose the key substrate in the microbiological changes occurring in meat and certain meat products. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 10, pp: 203-231
- Nychas G.J.E., Drosinos E., Board R.G., 1998. The microbiology of meat and poultry. In: Board, R.G., Davies, A.R. (Eds.), *Chemical Changes in Stored Meat*. Blackie Academic and Professional, London, pp: 288-326
- Nychas G.J.E and Drosinos E., 1999. *Meat And Poultry, Spoilage of meat*. Academic Press.
- Nychas G.J.E., Marshall D., Sofos J., 2007. Food microbiology fundamentals and frontiers. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Meat Poultry and Seafood*, third ed. ASM Press, pp: 105-140
- Nychas G.J.E., Skandamis P.N., Tassou C.C., Koutsoumanis K.P., 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Science* 78, pp: 77–89
- Ono K., Berry B.W. & Paroczay E., 1985. *Journal of Food Science* 50 (3), pp: 701–706
- Ordóñez J.A., de la Hoz L., 2007. Mediterranean products, F. Toldrá (Ed.), *Handbook of fermented meat and poultry*, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, pp: 333-347
- Otlés S., Yalcin B., 2008. Intelligent Food Packaging. *Log Forum* 4 (4), pp: 1-9
- Ouattara 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, pp: 139–148
- Pal M., 2014. Preservation of various foods. Ph.D. Lecture Note, Addis Ababa University, College of Veterinary Medicine and Agriculture, Debre Zeit, Ethiopia, pp: 1-11
- Pal M., Devrani M., 2018. Application of Various Techniques for Meat Preservation. *Journal of Experimental Food Chemistry* 4, pp :1
- Pacquit A., Frisby J., Diamond D., Lau K.T., Farrell A., Quilty B., Diamond D., 2007. Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. *Food Chem.* 102, pp: 466-470

- Pandey A., Joshi V.K., Nigam P., R. Soccol C., 1999. Enterobacteriaceae, Coliforms And *E. coli*. Academic Press.
- Paparella A., Mazzarrino G., Chaves-Lopez C., Rossi C., Sacchetti G., Guerrieri O., Serio A., 2016. Chitosan boosts the antimicrobial activity of *Origanum vulgare* essential oil in modified atmosphere packaged pork. *Food Microbiology* 59, pp: 23-31
- Patsias A., Badeka A.V., Savvaidis I.N., Kontominas M.G., 2008. Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. *Food Microbiology* 25 (4), pp: 575-581
- Patterson M.F., Quinn M., Simpson R., Gilmour A., 1996. High pressure inactivation in foods of animal origin. In *High pressure bioscience and biotechnology*, eds. R. Hayashi and C. Balny, Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands. pp: 267-272
- Pavelková A., Kačániová M., Horská E., Rovná K., Hleba L., Petrová J., 2014. The effect of vacuum packaging, EDTA, oregano and thyme oils on the microbiological quality of chicken's breast. *Anaerobe* 29, pp: 128-133
- Pennacchia C., Ercolini D., Villani F., 2011. Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack. *Food Microbiol.* 28, pp: 84-93
- Pereira P.M. de C.C., Vicente A.F. dos R.B., 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science* 93 (3), pp: 586-592
- Perez Elortondo F.J., Ojeda M., Albisu M., Salmeron J., Etayo I., Molina M., 2007. Food quality certification: An approach for the development of accredited sensory evaluation methods. *Food Quality and Preference* 18, pp: 425-439
- Petracci M., Bianchi M., Mudalal S. and Cavani C., 2013. Functional ingredients for poultry meat products. *Trends in Food Science & Technology* 33, pp: 27-39
- Petrou S., Tsiraki M., Giatrakou V., Savvaidis I.N., 2012. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International Journal of Food Microbiology* 156 (3), pp: 264-271
- Pikul J., Leszczynski D.E., Kummerow F.A., 1989. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 37, pp: 1309-1313
- Pin C., Garcia de Fernando G., Ordonez J.A., 2002. Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by *Brochothrix thermosphacta* Appl. Environ. Microbiol. 68, pp: 4441-4447

- Pothakos V., Devlieghere F., Villani F., Bjorkroth J., Ercolini D., 2015. Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat Science* 109, pp: 66-74
- Raafat D., von Bargaen K., Haas A., Sahl H.G., 2008. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Applied and Environmental Microbiology* 74, pp: 3764-3773
- Rahman S.F., 1999a. Post harvest handling of foods of animal origin. In: *Handbook of food preservation*. Rahman. S.F. (ed). Marcel Dekker, NY, pp: 47-54
- Rahman M.S., 2007. *Handbook of food preservation*, 2nd Edition
- Ravishankar S., Zhu L., Olsen C.W., McHugh T.H., Friedman M., 2009. Edible apple film wraps containing plant antimicrobials inactivate foodborne pathogens on meat and poultry products. *J. Food Sci.* 74 (8), pp: 440-445
- Ravyts F., De Vuyst L., Leroy F., 2012. Bacterial diversity and functionalities in food fermentations, *Engineering in Life Sciences* 12, pp: 1-12
- Remenant B., Jaffrès E., Dousset X., Pilet M.-F., Zagorec M., 2015. Bacterial spoilers of food: behavior, fitness and functional properties. *Food Microbiol.* 45, pp: 45-53
- Rendueles E., Omer M.K., Alvseike O., Alonso-Calleja C., Capita R. & Prieto, M., 2011. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: a review. *LWT- Food Science and Technology* 44, pp: 1251-1260
- Rhim J.W. & Shellhammer T.H., 2005. Lipid-based edible films and coatings. In J.H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging*. San Diego: Elsevier Academic Press, pp: 362-383
- Ribeiro-Santos R., Melo N.R., Andrade M., Azevedo G., Machado A.V., Carvalho-Costa D. & Sanches-Silva A., 2018. Whey protein active films incorporated with a blend of essential oils: Characterization and effectiveness. *Packaging Technology and Science* 31(1), pp: 27–40
- Rinaudo M., Pavlov G., Desbrières J., 1999. Solubilization of chitosan in strong acid medium. *Int. J. Polym. Anal. Charact* 5, pp: 267-276
- Rinaudo M., 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci.* 31, pp: 603–632
- Rivas-Cañedo A., Fernández-García E., Nuñez M., 2009. Volatile compounds in fresh meats subjected to high pressure processing: effect of the packaging material, *Meat Sci.* 81, pp: 321-328

- Robertson G.L., 2006. Food packaging: principles and practice. Boca Raton: Taylor & Francis, pp: 55–78 & 92–93
- Rossi M., 2003. Packaging Under Vacuum. Packaging Technical Center, Sealed Air s.r.l., Passirana di Rho, Milano, Italy. Elsevier Science Ltd.
- Rousseau B., 2003. Sensory Difference Testing. The Institute for Perception, Davis, CA, USA. Elsevier Science Ltd.
- Russo F., Ercolini D., Mauriello G., Villani F., 2006., Behaviour of *Brochothrix thermosphacta* in presence of other meat spoilage microbial groups. Food Microbiology 23 (8), pp: 797-80
- Samelis J., 2006. Managing microbial spoilage in meat industry. In: Blackburn, C.W. (Ed.), Food Spoilage Microorganisms. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp: 213-286
- Sanchez-Ortega I., Garcia-Almendarez B.E., Santos-Lopez E.M., Amaro-Reyes A., Barboza Corona J.E., Regalado C., 2014. Antimicrobial Edible Films and Coatings for Meat and Meat Products Preservation. The Scientific World Journal, pp: 1-18
- Saucier L., 2016. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. Meat Science 120, pp: 78–84
- Schumann B., Schmid M., 2018. Packaging concepts for fresh and processed meat – Recent progresses. Innovative Food Science and Emerging Technologies 47, pp: 88–100
- Sebranek J.G., Hunt M.C., Cornforth D.P. & Brewer M.S., 2006. Carbon monoxide packaging of fresh meat. Food Technology 60 pp: 184
- Severino R., Ferrari G., Vu K.D., Donsì F., Salmieri S., Lacroix M., 2015. Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils: modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on green beans. Food Control 50, pp: 215–222
- Simitzis P.E. and Deligeorgis S.G., 2010. Lipid oxidation of meat and use of essential oils as antioxidants in meat products. <http://www.scitopics.com/Lipid Oxidation of Meat and Use of Essential Oils as Antioxidants in Meat Products>
- Sindelar J.J. and Milkowski A.L., 2011. Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: A review of curing and examining the risk/benefit of its use. Am. Meat Sci. Assoc. White Pap. Ser. pp: 3:1
- Singhal R.S., Kulkarni P.R., Rege D.V., 1997. Handbook of indices of food quality and authenticity. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge

- Sirocchi V., Devlieghere F., Peelman N., Sagratini G., Maggi F., Vittori S., Ragaert P., 2017. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. *Food Chemistry* 221, pp: 1069–1076
- Skandamis P.N. & Nychas G-J.E., 2002. Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology* 79, pp: 35–43
- Srinivasan H., Velayutham K., Ravichandran R., 2017. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells *Penaeus monodon* and its human ovarian cancer cell line, PA-1. *Int. J. Biol. Macromol.* 107, pp: 662-667
- Stanbridge L.H., Davies A.R., 1998. The microbiology of meat and poultry. In: Davies, A.R., Board, R.G. (Eds.), *The Microbiology of Chill Stored Meat*. Blackie Academic and Professional, London, pp: 174-219
- Stiles M.E., 1990. Modified atmosphere packaging of meat, poultry, and their products. In M. E. Stiles (Ed.), *Modified atmosphere packaging of food*. New York: E. Horwood, pp: 118–147
- Šuput D.Z., Lazić V.L., Popović S.Z., Hromiš N.M., 2015. Edible films and coatings: Sources, properties and application. *Food and Feed Research* 42 (1), pp: 11-22
- Sweetie R. Kanatt, Rao M.S., Chawla S.P., Arun Sharma, 2013. Effects of chitosan coating on shelf-life of ready-to-cook meat products during chilled storage. *LWT - Food Science and Technology* 53, pp: 321-326
- Takashashi T., Imai M., Sawai J., 2008. Growth inhibitory effect on bacteria of chitosan membranes regulated with deacetylation degree. *Biochemical Engineering Journal* 40 (3), pp: 485-491
- Tan T.S., Chin H.Y., Tsai M.-L., Liu C.-L., 2015. Structural alterations, pore generation, and deacetylation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -chitin submitted to steam explosion. *Carbohydr. Polym.* 122, pp: 321–328
- Tavassoli-Kafrani E., Shekarchizadeh H., Masoudpour-Behabadi M., 2016. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers* 137, pp: 360–374
- Tauro P., Kapoor K.K. and Yadav K.S., 1986. *An Introduction to Microbiology*, 1st Edn., New Age International Publisher. New Delhi, India. pp: 364
- Tharanathan R.N., 2003. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future Trends in *Food Science and Technology* 14 (3), pp: 71-78

- Theron M.M. and Lues J.F., 2007. Organic acids and meat preservation: A review. *Food Rev. Int.* pp: 23:141
- Tolaimate A., Desbrieres J., Rhazia M., Alagui A., 2003. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer* 44, pp: 7939–7952
- Tørngren M.A., Darré M., Gunvig A., Bardenshtein A., 2018. Case studies of packaging and processing solutions to improve meat quality and safety. *Meat Science* 144, pp: 149–158
- Tsigarida E. & Nychas, G.-J.E., 2001. Ecophysiological attributes of a *Lactobacillus sp.* and a *Pseudomonas sp.* on sterile beef fillets in relation to storage temperature and film permeability. *Journal of Applied Microbiology* 90, pp: 696–705
- Vardaka V.D., Yehia H.M., Savvaidis I.N., 2016. Effects of Citrox and chitosan on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in vacuum-packaged turkey meat. *Food Microbiology* Volume 58, pp: 128-134
- Vasilatos G.C., Savvaidis I.N., 2013. Chitosan or rosemary oil treatments, singly or combined to increase turkey meat shelf-life, *International Journal of Food Microbiology* 166 (1), pp: 54-58
- Verlee A., Mincke S., Stevens C.V., 2017. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydrate Polymers* 164, pp: 268–283
- Vilela C., Kurek M., Hayouka Z., Rocker B., Yildirim S., Antunes A.D.C., Nilsen-Nygaard J., Kvalvag M., Freire C.S.R., 2018. A concise guide to active agents for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology* 80, pp: 212–222
- Wang H., Qian J., Ding F., 2018. Emerging chitosan-based films for food packaging applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66 (2), pp: 395-413
- Williams P., 2007. Nutritional composition of red meat. *The Role of Nutrition and Dietetics* 64, S113–S119
- Wong D.W.S., Gastineau F.A., Gregorski K.S., Tillin S.J., Pavlath A.E., 1992. Chitosan-lipids films: Microstructure and surface energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40 (4), pp: 540-544
- Wu G., 2009. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* 37 (1), pp: 1–17
- Xia G., Kohler T., Peschel A., 2010. The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology* 300, pp: 148-154

- Xiao S., Zhang W.G., Lee E.J., Ma C.W. & Ahn D.U., 2011. Effects of diet, packaging, and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation, and color of raw broiler thigh meat during refrigerated storage. *Poultry Science* 90 (6), pp: 1348–1357
- Xiong X.L., 2009. Dairy proteins. In R. Tarte (Ed.), *Ingredients in meat products*. New York: Springer, pp: 131-144
- Yam K.L., Takhistov P.T. & Miltz J., 2005. Intelligent packaging: concepts and applications. *Journal of Food Science* 70, pp: R1–R10
- Yang L., Paulson A.T., 2000. *Food Res. Int.* 33 (7), pp: 571–578
- Ye M., Neetoo H., Chen H., 2008. Control of *Listeria monocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films. *Food Microbiol.* 25, pp: 260–268
- Yen M.-O., Yang J.-H., Mau J.-L., 2008. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers* 74, pp: 840-844
- Younes I., Sellimi S., Rinaudo M., Jellouli K., Nasri M., 2014. Influence of acetylation degree and molecular weight of homogeneous chitosans on antibacterial and antifungal activities. *Int. J. Food Microbiol.* 185, pp: 57–63
- Youssef M.K., Gill C.O., Tran F., Yang X., 2014a. Unusual compositions of microflora of vacuum-packaged beef primal cuts of very long storage life. *J. Food Prot.* 77, pp: 2161–2167
- Yuan G., Lv H., Tang W., Zhang X., Sun H., 2016. Effect of chitosan coating combined with pomegranate peel extract on the quality of Pacific white shrimp during iced storage. *Food Control* 59, pp: 818–823
- Yuan G., Chen X., Li D., 2016. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research International* 89, pp: 117–128
- Zhang P., Badoni M., Gänzle M., Yang X., 2018. Growth of *Carnobacterium* spp. isolated from chilled vacuum-packaged meat under relevant acidic conditions. *International Journal of Food Microbiology* 286, pp: 120–127
- Zhao Y., Wells J.H. & McMillin K.W., 1994. Applications of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: A review. *Journal of Muscle Foods* 5, pp: 299–328
- Zhou G.H., Xu X.L., Liu Y., 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review, *Meat Science* 86, pp: 119–128

- Ziani K., Fernandez-Pan I., Royo M., Mate J.I., 2009. Antifungal activity of films and solutions based on chitosan against typical seed fungi. *Food Hydrocolloids* 23, pp: 2309–2314
- Zinoviadou K.G., Koutsoumanis K.P.a, Biliaderis C.G., 2011. Biopolymer-based films as carriers of antimicrobial agents. *Procedia Food Science* 1, pp: 190–196
- Zhang Y., Ma Q., Critzer F., Davidson P.M., Zhong Q., 2015. Effect of alginate coatings with cinnamon bark oil and soybean oil on quality and microbiological safety of cantaloupe. *International Journal of Food Microbiology* 215, pp: 25–30
- Zhou G.H., Xu X.L., Liu Y., 2010. Preservation technologies for fresh meat- A review. *Meat Sci* 86, pp: 119-128
- Zotta T., Ricciardi A., Ianniello R.G., Storti L.V., Glibota N.A., 2018. Aerobic and respirative growth of heterofermentative lactic acid bacteria: A screening study. *Food Microbiology* 76, pp: 117-127
- <https://ndb.nal.usda.gov/ndb>
- <https://www.fda.gov>
- <https://www.nationalchickencouncil.org/chicken-the-preferred-protein-for-your-health-and-budget/the-nutritional-value-of-chicken>
- <https://www.food.gov.uk/>







