

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Μελέτη της επίδρασης των παραμέτρων της τροποποιημένης
ατμόσφαιρας στη διατηρησιμότητα των τροφίμων: Μετα-ανάλυση
δεδομένων»**

Κωνσταντίνα Σιούμπουρα

ΒΟΛΟΣ, 2024

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC ENVIRONMENT
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION

INTERDEPARTMENTAL POSTGRADUATE PROGRAMME
“TECHNOLOGY, QUALITY AND SAFETY OF ANIMAL ORIGIN FOODS”

POSTGRADUATE MASTER’S THESIS

**“Evaluation of the effect of the parameters of modified atmosphere
packaging on the shelf life of food: Meta-data analysis”**

Konstantina Sioumpoura

VOLOS, 2024

«Μελέτη της επίδρασης των παραμέτρων της τροποποιημένης ατμόσφαιρας στη διατηρησιμότητα των τροφίμων: μετα-ανάλυση δεδομένων»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) **Τσιρώνη Θεοφανία**, Επίκουρη Καθηγήτρια, Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, **Επιβλέπουσα**
- 2) **Μποζιάρης Σ. Ιωάννης**, Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**
- 3) **Παρλαπάνη Φ. Φωτεινή**, Επίκουρος Καθηγήτρια, Μοριακή Μικροβιολογία και Ποιότητα Αλιευτικών Προϊόντων – Τροφίμων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, κα Θεοφανία Τσιρώνη, για την πολύτιμη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια της συγγραφής.

Ακόμη, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση και βοήθεια καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

Περίληψη

Τα τρόφιμα μέσω σύνθετων διαδικασιών οδηγούνται σε αλλοιώσεις οι οποίες επηρεάζουν αρνητικά την αποδοχή των καταναλωτών και συμβάλλουν σημαντικά στη σπατάλη τροφίμων. Οι καταναλωτές σήμερα από τα τρόφιμα αναμένουν μεγάλη διάρκεια ζωής, καθώς και καλή θρεπτική αξία, αισθητική ποιότητα και ασφάλεια. Γι' αυτό, η βιομηχανία τροφίμων ανέπτυξε σύγχρονες τεχνολογίες συσκευασίας για να ικανοποιήσει τις απαιτήσεις των καταναλωτών. Μία από αυτές, αποτελεί η τεχνολογία τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Τα κρέατα και τα προϊόντα κρέατος κατατάσσονται στην κατηγορία των εξαιρετικά ευπαθών τροφίμων διότι, έχουν υψηλή θρεπτική περιεκτικότητα που μπορεί να υποστηρίξει ταχεία μικροβιακή ανάπτυξη, έχουν υψηλή ενεργότητα νερού, έχουν pH 5,5 ή μεγαλύτερο, υπάρχουν αυτολυτικά ένζυμα, και περιέχουν σημαντική ποσότητα λιπιδίων που ευνοούν την οξείδωση και την αλλοίωση.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, αρχικά γίνεται αναφορά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρέατος όπως είναι η εμφάνιση και κυρίως το χρώμα, η γεύση, η υφή, ιδιαίτερα η τρυφερότητα, η ζουμερότητα/ικανότητα συγκράτησης νερού και η οσμή. Στην συνέχεια αναλύονται οι αλλοιώσεις του κρέατος. Πιο συγκεκριμένα, η μικροβιακή αλλοίωση με τα είδη της μικροβιακής ανάπτυξης στο κρέας και τα χαρακτηριστικά της, η λιπιδιακή οξείδωση, η πρωτεϊνική οξείδωση και η ενζυμική αλλοίωση. Στην πορεία, γίνεται λόγος για την συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, μέθοδος που συμβάλλει στην παράταση της διάρκειας ζωής και την διατήρηση της ποιότητας ενός τροφίμου καταστέλλοντας την ανάπτυξη και το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Γίνεται αναφορά στα πλεονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου, στα αέρια τα οποία χρησιμοποιούνται τα οποία είναι κυρίως το οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα και το άζωτο και στην αναλογία αερίου προς προϊόν. Ακολουθεί η αναφορά στην προρρητική μικροβιολογία η οποία αφορά ένα επιστημονικό πεδίο που χρησιμοποιεί μαθηματικά μοντέλα και υπολογιστικά εργαλεία για να προβλέψει την ανάπτυξη, την επιβίωση και τη συμπεριφορά των μικροοργανισμών στα τρόφιμα ή σε άλλα περιβάλλοντα και πιο συγκεκριμένα αναφέρονται ορισμένα πρωτογενή και δευτερογενή μοντέλα.

Στην συγκεκριμένη εργασία, έγινε συλλογή ερευνητικών δεδομένων σχετικά με την μικροβιακή ανάπτυξη (TVC) συναρτήσεως των συνθηκών αποθήκευσης με το πέρασμα του χρόνου για βόειο κρέας «beef steak» και φιλέτο κοτόπουλο «chicken fillet». Για

την ψηφιοποίηση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό πρόγραμμα «GetData Graph Digitizer» και για την μελέτη της μικροβιακής ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο ανάπτυξης Baranyi και το πρόγραμμα DMFit3.5 μέσω του οποίου έγινε η προσαρμογή των καμπυλών ανάπτυξης. Με τη χρήση αυτών των εργαλείων έγινε υπολογισμός της κινητικής παραμέτρου του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης (k_{exp} σε d^{-1}) για τις συνθήκες αποθήκευσης. Επίσης, έγινε προσδιορισμός της εξάρτησης των σταθερών ρυθμών μικροβιακής ανάπτυξης, από τη θερμοκρασία και το ποσοστό του CO_2 , με προσαρμογή των δεδομένων στην τροποποιημένη εξίσωση Arrhenius και τελικά υπολογίστηκε το 'standard error' μεταξύ αυτών των δύο.

Τέλος, με βάση τα μικροβιολογικά δεδομένα της βιβλιογραφίας και τους ρυθμούς της μικροβιακής ανάπτυξης που υπολογίστηκαν με βάση την εξίσωση Arrhenius έγινε εκτίμηση της διάρκειας ζωής για φιλέτο βόειου και κοτόπουλου σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης κάνοντας αντιληπτή την επίδραση των παραμέτρων αποθήκευσης, δηλαδή της θερμοκρασίας και του ποσοστού CO_2 , στη διατηρησιμότητα των συγκεκριμένων κρεάτων.

Περιεχόμενα

1.	Εισαγωγή	1
2.	Ποιότητα.....	3
3.	Αλλοιώσεις κρέατος	5
	3.1 Μικροβιακή αλλοίωση	7
	3.1.1. Είδη μικροβιακής ανάπτυξης στο κρέας	8
	3.1.2 Χαρακτηριστικά της μικροβιακής αλλοίωσης.....	12
	3.2 Λιπιδιακή οξείδωση	17
	3.3 Πρωτεϊνική οξείδωση	19
	3.4 Ενζυμική αλλοίωση	20
	3.5 Μέθοδοι προσδιορισμού αλλοίωσης.....	21
4.	Συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP).....	22
	4.1 Τα πλεονεκτήματα της εφαρμογής τροποποιημένης ατμόσφαιρας	23
	4.2 Αέρια τροποποιημένης ατμόσφαιρας	25
	4.3 Αναλογία αερίου προς προϊόν (Gas to product ratio)	31
5.	Προρρητική μικροβιολογία (Predictive microbiology).....	32
	5.1 Πρωτογενή μοντέλα (primary models)	34
	5.2 Δευτερογενή μοντέλα (secondary models)	35
6.	Υλικά και Μέθοδοι	37
	6.1. Συλλογή δεδομένων	37
	6.2 Ανάλυση δεδομένων	38
7.	Αποτελέσματα και συζήτηση	40
	7.1 Υπολογισμός της κινητικής παραμέτρου του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης σύμφωνα με το μοντέλο Baranyi	40
	7.1.1 Βόειο κρέας	40
	7.2.2 Κρέας κοτόπουλο	45
	7.2 Υπολογισμός της κινητικής παραμέτρου του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης με εφαρμογή της τροποποιημένης εξίσωσης Arrhenius.....	51
	7.3 Εκτίμηση του χρόνου ζωής.....	52
8.	Συμπεράσματα	57
9.	Βιβλιογραφία.....	59
10.	Abstract	65

Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 1: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 50% O ₂ / 50% N ₂ , θερμοκρασία 2 °C και gas: product = 3:1.....	40
Σχήμα 2: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O ₂ / 15% CO ₂ / 45% N ₂ και θερμοκρασία 4 °C.....	40
Σχήμα 3: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O ₂ / 25% CO ₂ / 35% N ₂ και θερμοκρασία 4 °C.....	41
Σχήμα 4: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O ₂ / 35% CO ₂ / 25% N ₂ και θερμοκρασία 4 °C.....	41
Σχήμα 5: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O ₂ / 45% CO ₂ / 15% N ₂ και θερμοκρασία 4 °C.....	42
Σχήμα 6: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 80% O ₂ / 20% CO ₂ , θερμοκρασία 4 °C και gas:product = 2:1.....	42
Σχήμα 7: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 80% O ₂ / 20% CO ₂ , θερμοκρασία 2 °C και gas:product = 3:1.....	43
Σχήμα 8: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 80% O ₂ / 20% CO ₂ , και θερμοκρασία 6°C.....	43
Σχήμα 9: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 78,8% O ₂ / 18,8% CO ₂ / 2,4% N ₂ , θερμοκρασία 4°C και gas:product = 3:1.....	44
Σχήμα 10: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 60% CO ₂ / 40% N ₂ , θερμοκρασία 4°C και gas:product = 3:1.....	44
Σχήμα 11: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 70% N ₂ , θερμοκρασία 5°C και gas:product = 7:1.....	45
Σχήμα 12: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 70% O ₂ , θερμοκρασία 5°C και gas:product = 7:1.....	45
Σχήμα 13: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 65%N ₂ / 5%O ₂ , θερμοκρασία 4°C.....	46
Σχήμα 14: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 65% CO ₂ / 30%N ₂ / 5%O ₂ , θερμοκρασία 4°C.....	46
Σχήμα 15: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 70%N ₂ , θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1.....	47
Σχήμα 16: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 70%O ₂ , θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1.....	47
Σχήμα 17: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 25% CO ₂ / 60%O ₂ / 15% N ₂ , θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1.....	48
Σχήμα 18: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 45%O ₂ / 25% N ₂ , θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1.....	48
Σχήμα 19: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 18% CO ₂ / 82% N ₂ , θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1.....	49
Σχήμα 20: : Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 70% N ₂ , θερμοκρασία -1°C.....	49
Σχήμα 21: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 40% CO ₂ / 60% N ₂ , θερμοκρασία -1°C.....	50
Σχήμα 22: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO ₂ / 55% N ₂ / 15%O ₂ , θερμοκρασία -1°C.....	50
Σχήμα 23: Πρόβλεψη χρόνου ζωής βόειου κρέατος σε σχέση με την θερμοκρασία για αποθήκευση σε διάφορα ποσοστά CO ₂	54

Σχήμα 24: Πρόβλεψη χρόνου ζωής κρέατος κοτόπουλου σε σχέση με την θερμοκρασία για αποθήκευση σε διάφορα ποσοστά CO ₂	56
---	----

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1: Αλλοιογόνα βακτήρια, αντίδραση κατά gram και χαρακτηριστικό γνώρισμα ανάπτυξής τους στο κρέας (Bekhit et al., 2021).....	16
Πίνακας 2: Συνθήκες αποθήκευσης για βόειο κρέας	37
Πίνακας 3: Συνθήκες αποθήκευσης για φιλέτο κοτόπουλο	38
Πίνακας 4: Οι παράμετροι k_{ref} (d ⁻¹), E_a (kJ/mol) και CO _{2 max} (%)	51
Πίνακας 5: Κινητικοί ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης σε φιλέτο μοσχάρι για διάφορες συνθήκες αποθήκευσης, σύμφωνα με το μοντέλο Baranyi (k _{exp}) και σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius (k _{pred}).....	51
Πίνακας 6: Κινητικοί ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης σε φιλέτο κοτόπουλο για διάφορες συνθήκες αποθήκευσης, σύμφωνα με το μοντέλο Baranyi (k _{exp}) και σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius (k _{pred}).....	52
Πίνακας 7: Εκτιμώμενη διάρκεια ζωής για φιλέτο βόειου κρέατος για διάφορους συνδυασμούς θερμοκρασίας και ποσοστού CO ₂	53
Πίνακας 8: Εκτιμώμενη διάρκεια ζωής για φιλέτο από κρέας κοτόπουλο για διάφορους συνδυασμούς θερμοκρασίας και ποσοστού CO ₂	55
Πίνακας 9: Επίδραση της αναλογίας αερίου προς προϊόν στον ρυθμό μικροβιακής ανάπτυξης	58

1. Εισαγωγή

Το κρέας και τα προϊόντα του αποτελούν σημαντικό κομμάτι της καθημερινής μας διατροφής. Το κρέας περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και η κατανάλωσή του έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία 50 χρόνια. Ωστόσο, λόγω της υψηλής διατροφικής του αξίας, το κρέας είναι εξαιρετικά ευπαθές και επιρρεπές σε υποβάθμιση και αλλοίωση. Η αλλοίωση αναφέρεται σε οποιαδήποτε αλλαγή που καθιστά ένα προϊόν ακατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση (Huis in't Veld, 1996). Στην περίπτωση του κρέατος, η αλλοίωση είναι μια σύνθετη διαδικασία που περιλαμβάνει βιολογικές, φυσικές και χημικές δραστηριότητες που οδηγούν σε υποβάθμιση του προϊόντος (Casaburi et al., 2015). Αυτή η αλλοίωση επηρεάζει αρνητικά την αποδοχή των καταναλωτών και συμβάλλει σημαντικά στη σπατάλη τροφίμων. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας εκτιμά ότι το ένα τρίτο των τροφίμων που παράγονται για ανθρώπινη κατανάλωση σπαταλιέται ετησίως (FAO, 2011).

Τις τελευταίες δεκαετίες, ο τρόπος ζωής των ανθρώπων έχει αλλάξει ποικιλοτρόπως, όπως και οι προσδοκίες μας. Οι καταναλωτές σήμερα από τα τρόφιμα αναμένουν μεγάλη διάρκεια ζωής, καθώς και καλή θρεπτική αξία, αισθητική ποιότητα και ασφάλεια. Η αισθητική ποιότητα και ιδιαίτερα το χρώμα του κρέατος είναι οι σημαντικότεροι δείκτες φρεσκάδας τη στιγμή της αγοράς. Η συσκευασία ενός τροφίμου προσδίδει πολλά οφέλη γι' αυτό και αποτελεί απαραίτητο στοιχείο στην παραγωγή τροφίμων. Εκτός του ότι προσδίδει πρακτικότητα στη μεταφορά του προϊόντος στον καταναλωτή, συμβάλλει στην εξασφάλιση της ασφάλειας από μικροοργανισμούς, βιολογικές και χημικές αλλαγές ώστε τελικά τα τρόφιμα να αποκτούν μεγαλύτερο χρόνο ζωής. Προκειμένου να καλυφθεί η ζήτηση των καταναλωτών, σημειώθηκε αξιοσημείωτη αύξηση στην ανάπτυξη των συσκευασιών τροφίμων τις περασμένες δεκαετίες. Η βιομηχανία τροφίμων ανέπτυξε νέες σύγχρονες τεχνολογίες συσκευασίας για να ικανοποιήσει τις απαιτήσεις των καταναλωτών.

Μία από αυτές, αποτελεί η τεχνολογία τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Οι πρόσφατες εξελίξεις στη συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας επικεντρώνονται στην εύρεση του καλύτερου μείγματος αερίων που διατηρεί το αρχικό χρώμα του φρέσκου κρέατος, τη σταθερότητά του και τη διάρκεια ζωής του προϊόντος, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η ανάπτυξη μικροοργανισμών, η οξείδωση των λιπιδίων και να εξασφαλιστεί η ασφάλεια

του προϊόντος (Slavica et al, 2010). Οι περισσότερες έννοιες ποιότητας βασίζονται στις ατομικές προσδοκίες και θεωρούν την θρεπτική και αισθητική ποιότητα των τροφίμων και την ασφάλεια ως κρίσιμους παράγοντες για την αποδοχή και την ανάπτυξη προϊόντων (Dransfield, 2005; Radetić et al., 2007).

Η ποιότητα και η ασφάλεια των προϊόντων που συσκευάζονται σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα εξαρτώνται από την ποιότητα και την υγιεινή των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται, τον τύπο του αερίου ή του μείγματος στην συσκευασία, την ποιότητα του εξοπλισμού που χρησιμοποιείται για τη συσκευασία και τα υλικά συσκευασίας. Η διάρκεια ζωής ορίζεται ως η περίοδος κατά την οποία ένα προϊόν μπορεί να αποθηκευτεί, να είναι αισθητικά αποδεκτό και να μην αποτελεί κίνδυνο για την υγεία (Koch et al., 2009). Η ασφάλεια των τροφίμων έχει γίνει ολοένα και πιο σημαντική λόγω των αλλαγών στις διατροφικές συνήθειες, των αλλαγών στα προϊόντα, των αλλαγών στον πληθυσμό και της αύξησης των λοιμώξεων από τρόφιμα (Vandendriessche, 2008). Η πρόβλεψη της διάρκειας ζωής του φρέσκου κρέατος που αποθηκεύεται σε ψύξη είναι σημαντική για τους παραγωγούς για να διασφαλίσουν καλή διατροφική και αισθητική ποιότητα, και βέλτιστη διανομή στο λιανικό εμπόριο.

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης, ήταν η ανασκόπηση διαθέσιμων δημοσιευμένων ερευνών που σχετίζονται με τη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας του φρέσκου κρέατος, και συγκεκριμένα κρέας βόειου και πουλερικών, χρησιμοποιώντας αέρια συσκευασίας ως πρόσθετα τροφίμων, και στη συνέχεια, η πρόβλεψη του χρόνου ζωής των προϊόντων για διάφορες συνθήκες αποθήκευσης, εξάγοντας συμπεράσματα για την επίδραση των παραμέτρων αποθήκευσης στην διατήρηση των προϊόντων.

2. Ποιότητα

Η ποιότητα του κρέατος περιλαμβάνει ένα σύνολο χαρακτηριστικών τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιλογή αγοράς του από τον καταναλωτή, όπως και στην αξιολόγησή του ύστερα από την κατανάλωσή του. Καθώς οι ατομικές και κοινωνικές μας προτιμήσεις εξελίσσονται, είναι φυσικό να αλλάζουν και τα κριτήρια για την ποιότητα του κρέατος. Παραδοσιακά, η ποιότητα του κρέατος που προορίζεται για κατανάλωση ως ολόκληρα κομμάτια, ορίζεται από αισθητηριακά χαρακτηριστικά όπως η εμφάνιση, το χρώμα, η γεύση, η υφή (ιδιαίτερα η τρυφερότητα), η ζουμερότητα/ικανότητα συγκράτησης νερού και η οσμή. Η ποιότητα του κρέατος συνδέεται με την καλή ποιότητα γεύσης και την απουσία ανεπιθύμητων γεύσεων που προκαλούνται από μικροβιολογικές δραστηριότητες ή ενζυμικές αντιδράσεις.

Ένας άλλος βασικός παράγοντας ποιότητας είναι η φρεσκάδα ή η υγιεινή κατάσταση, που σχετίζεται με την αντίληψη ότι το κρέας είναι ασφαλές προς κατανάλωση, απαλλαγμένο από παθογόνα μικρόβια, παράσιτα, λοιμογόνους παράγοντες ή τοξίνες. Παρόλο που η απουσία λοιμογόνων παραγόντων δεν είναι ορατή, συχνά τη συνδέουμε με τη φρεσκάδα του κρέατος και αν το κρέας φαίνεται παλιό, αμφισβητούμε την ασφάλειά του (Purslow, 2017)

Η ποιότητα ενός προϊόντος και η διατήρησή της είναι πολύ σημαντική, γι' αυτό και πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στα χαρακτηριστικά ποιότητας των προϊόντων κρέατος, με ιδιαίτερη έμφαση στο χρώμα και την περιεκτικότητα σε λίπος. Οι κύριες ανησυχίες είναι η απώλεια του έντονου κόκκινου χρώματος με την πάροδο του χρόνου και ο ρόλος της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας στη διατήρηση του χρώματος του κρέατος, στον έλεγχο της οξειδωσης των λιπιδίων και στη διασφάλιση της μικροβιολογικής σταθερότητας.

Το χρώμα είναι ένας κρίσιμος παράγοντας που επηρεάζει την απόφαση του καταναλωτή να αγοράσει κρέας, καθώς συνδέεται στενά με την αντίληψη της φρεσκάδας του κρέατος (Mancini & Hunt, 2005). Ακόμη, το χρώμα είναι κρίσιμο για την διάκριση μεταξύ των ειδών κρέατος, αλλά και για την ένδειξη ηλικίας του ζώου ενός είδους, ιδίως των βοοειδών. Οποιαδήποτε εμφανής απόκλιση από το φωτεινό κόκκινο χρώμα μπορεί να οδηγήσει τους καταναλωτές στην απόρριψη του κρέατος, στην απαίτηση έκπτωσης ή ακόμη και στην απόρριψή του, με αποτέλεσμα οικονομικές ζημιές. Το κρέας που είναι είτε πολύ ανοιχτόχρωμο είτε πολύ σκούρο συχνά

απορρίπτεται από τους καταναλωτές. Στις ΗΠΑ για παράδειγμα, περίπου το 2,6% του λιανικού κρέατος απορρίπτεται λόγω αποχρωματισμού της επιφάνειας, με ετήσιες οικονομικές απώλειες που εκτιμώνται σε 3,7 δισεκατομμύρια δολάρια (Ramanathan et al., 2022). Η ανάπτυξη του χρώματος του κρέατος είναι μια σύνθετη βιολογική διαδικασία που επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του μικροβιακού φορτίου, της θερμοκρασίας και των συνθηκών αποθήκευσης, καθώς και της τάσης για οξείδωση πρωτεϊνών και λιπιδίων. Αυτοί οι παράγοντες μπορούν να ελεγχθούν μέσω συγκεκριμένων μετα-σφαγειακών τεχνικών επεξεργασίας, όπως η υπερψυγμένη αποθήκευση και η τροποποιημένη ατμόσφαιρα συσκευασίας. Το HiO₂-MAP, το οποίο περιέχει 80% O₂ και 20% CO₂, χρησιμοποιείται πλέον ευρέως παγκοσμίως λόγω της ικανότητάς του να βελτιώνει το χρώμα του κρέατος.

Το κρέας μπορεί να εμφανίζει διάφορες αποχρώσεις, όπως κόκκινο, μοβ, καφέ, κίτρινο και πράσινο. Αυτό εξαρτάται κυρίως από την μυοσφαιρίνη, μία υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη, και την επικρατέστερη κατάστασή της. Η μυοσφαιρίνη κυριαρχεί στον προσδιορισμό του χρώματος του κρέατος, αλλά και άλλες πρωτεΐνες μπορεί να παίζουν επίσης ρόλο. Η δομή της μυοσφαιρίνης στο μυ του κρέατος εξαρτάται από παράγοντες όπως η θερμοκρασία του κρέατος, η μερική πίεση οξυγόνου, το pH, και η μικροβιακή ανάπτυξη. Η σύνδεση οξυγόνου, νερού ή μονοξειδίου του άνθρακα στη μυοσφαιρίνη οδηγεί στην παραγωγή διαφόρων χρωματικών ενώσεων. Οι ενώσεις αυτές είναι η δεοξυμυοσφαιρίνη, η οποία έχει μοβ-κόκκινο ή μοβ-ροζ χρώμα και συσχετίζεται με προϊόντα συσκευασμένα σε κενό αέρος, η οξυμυοσφαιρίνη, η οποία έχει έντονο κερασοκόκκινο χρώμα, η καρβοξυμυοσφαιρίνη με σταθερό κόκκινο χρώμα, και η μεταμυοσφαιρίνη με καφέ μη ελκυστικό χρώμα (Mancini και Hunt, 2005). Οι καταναλωτές αντιλαμβάνονται το φωτεινό ροζ χρώμα ως ένδειξη φρεσκάδας του κρέατος. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι οι αλλαγές στο χρώμα του κρέατος εξαρτώνται από παράγοντες όπως η οξείδωση, η αναγωγή και η μετουσίωση της μυοσφαιρίνης, η διαθεσιμότητα του οξυγόνου, το pH του μυός και οι χημικές ιδιότητες του μυ (Slavica and Radoslav, 2010).

Οι ακραίες αλλαγές στο pH κατά τη μετατροπή του μυϊκού ιστού σε κρέας επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά του χρώματος του κόκκινου κρέατος και παρέχουν τη βάση για δύο από τις πιο γνωστές κατηγορίες χαμηλής ποιότητας κρέατος. Εάν υπάρχει έλλειψη γλυκογόνου στον μυϊκό ιστό κατά τη στιγμή της σφαγής, παράγεται μόνο μια μικρή ποσότητα γαλακτικού οξέος και το pH δεν μειώνεται σημαντικά. Αυτό έχει ως

αποτέλεσμα το σκοτεινό, σφιχτό και ξηρό κρέας (dark, firm, dry, DFD) το οποίο συγκρατεί νερό και έχει σχετικά υψηλό pH (Lindhahl et al., 2006a; Lindahl et al., 2006b). Αντίθετα, η πρόκληση έντονου στρες πριν από τη σφαγή οδηγεί στην παραγωγή γαλακτικού οξέος από το γλυκογόνο και τελικά γρήγορη γλυκόλυση μετά το θάνατο προκαλώντας ταχεία πτώση του pH. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα χαμηλή τιμή pH στον μυϊκό ιστό λίγο μετά τη σφαγή, συμβάλλοντας στον σχηματισμό ανοιχτόχρωμου, μαλακού και εξιδρωτικού κρέατος (pale, soft, exudative PSE) (Feiner, 2006).

Το χρώμα του ωμού κρέατος μπορεί να αξιολογηθεί είτε με όργανα είτε οπτικά (Hunt, 1991). Η αξιολόγηση με όργανα περιλαμβάνει τη μέτρηση των τιμών a^* , b^* και L^* . Από αυτές μπορούν να υπολογιστούν διάφορα άλλα χαρακτηριστικά, όπως η γωνία Hue, η οποία χρησιμοποιείται για τη διάκριση των οικογενειών χρωμάτων, και η χρωματικότητα, που είναι η ένταση του χρώματος. Η τιμή a^* αντιπροσωπεύει το κόκκινο του κρέατος επηρεάζεται από το pH του κρέατος, καθώς οι διαδικασίες οξείδωσης και αναγωγής της μυοσφαιρίνης είναι pH-εξαρτώμενες. Επίσης, η τιμή L^* επηρεάζεται σημαντικά από το pH και η τιμή L^* αποτελεί έναν καλό δείκτη του βαθμού PSE/DFD (ανοιχτόχρωμο, μαλακό, εξιδρωματικό/σκούρο, σφιχτό, ξηρό) (Brewer et al., 2001b).

3. Αλλοιώσεις κρέατος

Ο χρόνος που τα τρόφιμα παραμένουν κατάλληλα για κατανάλωση εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως το περιεχόμενο σε νερό και αλάτι, η τιμή pH, οι συνθήκες υγιεινής κατά την παραγωγή, οι συνθήκες αποθήκευσης, όπως η θερμοκρασία ή η υγρασία, και η συσκευασία. Ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των τροφίμων και τους διάφορους παράγοντες, τα τρόφιμα διαφέρουν στην ευαισθησία τους στη μικροβιακή ή χημική / βιοχημική αλλοίωση (Wittgas.com).

Τα κρέατα και τα προϊόντα κρέατος κατατάσσονται στην κατηγορία των εξαιρετικά ευπαθών τροφίμων διότι, έχουν υψηλή θρεπτική περιεκτικότητα που μπορεί να υποστηρίξει ταχεία μικροβιακή ανάπτυξη, έχουν υψηλή ενεργότητα νερού (0,95 ή μεγαλύτερη), έχουν pH 5,5 ή μεγαλύτερο, υπάρχουν αυτολυτικά ένζυμα, και περιέχουν σημαντική ποσότητα λίπους και λιπιδίων που ευνοούν την οξείδωση και την αλλοίωση.

Πιο συγκεκριμένα για το κρέας, μετά τη σφαγή του ζώου, το σφάγιο χρειάζεται χρόνο για να υποχωρήσει η νεκρική ακαμψία και το κρέας να γίνει τρυφερό. Διάφορες διαδικασίες λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της ακαμψίας. Χάνεται η ικανότητα σύνθεσης ΑΤΡ, προκαλώντας τον συνδυασμό ακτίνης και μυοσίνης σχηματίζοντας ακτομυοσίνη, η οποία σκληραίνει τον μυ. Η παροχή οξυγόνου διακόπτεται, μειώνοντας το δυναμικό οξειδωσης-αναγωγής. Η εξάντληση των βιταμινών και των αντιοξειδωτικών οδηγεί στην σταδιακή ανάπτυξη τάγγισης. Η διακοπή της νευρικής και ορμονικής ρύθμισης προκαλεί μείωση της θερμοκρασίας του σφάγιου και τη στερεοποίηση του λίπους. Η αναπνοή σταματά. Ξεκινά η γλυκόλυση, μετατρέποντας το μεγαλύτερο μέρος του γλυκογόνου σε γαλακτικό οξύ, μειώνοντας το pH από 7,2 σε 5,7 και τελικά προκαλείται αποδόμηση των πρωτεϊνών και το τέλος της ακαμψίας. Τελικά, το κρέας είναι εύαλωτο σε μικροοργανισμούς καθώς περιέχει αρκετά θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη βακτηρίων, ζυμομυκήτων και μυκήτων και έτσι μπορεί να προκληθεί αλλοίωση (Erkmen abd Bozoglu, 2016). Ανεξάρτητα από το αν πρόκειται για βοδινό, χοιρινό ή πουλερικά, η αλλοίωση ξεκινά από τη στιγμή της σφαγής και συνεχίζεται καθ' όλη τη διάρκεια ζωής ενός προϊόντος.

Η ποιότητα του φρέσκου κρέατος που είναι αποθηκευμένο υπό ψύξη επηρεάζεται από την αλλοίωση που μπορεί να προκληθεί. Η αλλοίωση χαρακτηρίζεται από αισθητηριακές αλλαγές που καθιστούν το κρέας μη αποδεκτό από τους καταναλωτές. Η αλλοίωση του κρέατος και των πουλερικών συνήθως μπορεί να προκληθεί από μικροβιακή ανάπτυξη, οξειδωτική βλάβη και ενζυμική δραστηριότητα, οδηγώντας σε αλλαγές στο χρώμα και την υφή, στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων γεύσεων και οσμών, γλίτσα, απώλεια θρεπτικών συστατικών ή άλλων ανεπιθύμητων χαρακτηριστικών.

Υπάρχουν τέσσερις κύριοι μηχανισμοί αλλοίωσης. Αυτοί περιλαμβάνουν την μικροβιακή αλλοίωση, την λιπιδιακή οξείδωση, την πρωτεϊνική οξείδωση και την ενζυμική αλλοίωση όπως παρουσιάζονται αναλυτικά παρακάτω (Dave & Chaly, 2011).

3.1 Μικροβιακή αλλοίωση

Τα κόκκινα κρέατα και τα πουλερικά, είναι μία από τις κύριες αιτίες εμφάνισης επιδημιών τροφικής δηλητηρίασης, καθώς παρέχουν το ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη βακτηρίων. Περιέχουν πλούσιες ποσότητες αζωτούχων ενώσεων, υδατανθράκων και άλλων θρεπτικών συστατικών που προάγουν τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων. Επιπλέον, η υψηλή περιεκτικότητα τους σε υγρασία και το επίπεδο pH δημιουργούν συνθήκες που ενισχύουν την ταχεία αύξηση των βακτηρίων (Erkmen και Bozoglu, 2016; Dave και Ghaly, 2011). Φιλοξενούν μια ποικιλόμορφη μικροβιακή χλωρίδα, που περιλαμβάνει μεσόφιλα και ψυχρόφιλα βακτήρια. Η μικροβιολογική ποιότητα του κρέατος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες υπό τις οποίες τα ζώα εκτρέφονται, σφάζονται και επεξεργάζονται. Συνεπώς, η φυσιολογική κατάσταση του ζώου κατά τη σφαγή, η διασπορά των μικροοργανισμών κατά τη σφαγή και την επεξεργασία, καθώς και η θερμοκρασία και άλλες συνθήκες αποθήκευσης και διανομής, είναι κρίσιμοι παράγοντες που καθορίζουν τη μικροβιολογική ποιότητα του κρέατος (Erkmen and Bozoglu, 2016).

Οι κιμάδες αλλοιώνονται πιο γρήγορα από τα κομμάτια κρέατος με τα αερόβια βακτήρια (κυρίως τα *Pseudomonas*), λόγω της αυξημένης επιφάνειας. Η αλλοίωση, δεν προκαλείται από όλους τους υπάρχοντες μικροοργανισμούς αλλά από έναν συγκεκριμένο μικροβιακό πληθυσμό γνωστό ως «Εφήμεροι (Ειδικοί) Αλλοιογόνοι Μικροοργανισμοί (EAM)» (Nychas et al., 2008). Αυτοί οι μικροοργανισμοί αλλοίωσης διακρίνονται σε Gram-αρνητικά βακίλια, Gram-θετικά σπορογόνα, βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB), Gram-θετικά βακτήρια, ζύμες και μύκητες (Huis in't Veld, 1996; Jay et al., 2005). Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μικροοργανισμών παίζουν επίσης ανασταλτικό ή διεγερτικό ρόλο στην αλλοίωση του κρέατος (Doulgeraki, et al., 2012).

Οι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί αποτελούν σημαντική απειλή για τη διάρκεια ζωής και την ποιότητα των τροφίμων. Από τη μία πλευρά, επηρεάζουν το χρώμα και τη μυρωδιά, αλλά μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε κινδύνους για την υγεία και να κάνουν τα προϊόντα μη βρώσιμα (Wittgas.com). Ως όριο αλλοίωσης θεωρείται το 7 log CFU/g υποδεικνύοντας μικροβιολογική αλλοίωση (ICMSF, 1986)

Τέλος, οι τύποι και ο αριθμός των μικροβίων στο κρέας μπορούν να επηρεαστούν από τις συνθήκες που βιώνουν τα ζώα πριν από τη σφαγή. Το DFD (σκούρο, σφιχτό και

ξηρό) κρέας, έχει σχετικά υψηλό pH, επιτρέποντας την ανάπτυξη μικροβίων που χρησιμοποιούν αμινοξέα και μπορεί να οδηγήσει σε δυσάρεστες οσμές και γεύσεις.

3.1.1. Είδη μικροβιακής ανάπτυξης στο κρέας

Στο φρέσκο κρέας μπορεί να αναπτυχθεί μία πληθώρα μικροβίων όπως τα είδη *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Serratia*, *Shewanella*, και *Streptococcus*, καθώς και ζυμομύκητες και μούχλες.

Στα βακτήρια που θα καταλήξουν στο κρέας, από διάφορες πηγές όπως για παράδειγμα από το περιβάλλον εκτροφής ή κατά τη σφαγή, περιλαμβάνονται και παθογόνοι μικροοργανισμοί. Όταν το κρέας αποθηκεύεται για παρατεταμένες περιόδους, η περίοδος επώασης για αυτά τα μικροβιακά είδη παρατείνεται. Παρόλο που τα παθογόνα γένη δεν αποτελούν εγγενώς μέρος της σύνθεσης αλλοίωσης, η παρουσία τους στο ωμό κρέας ή η μεταφορά τους κατά την επεξεργασία μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνισή τους. Παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορεί να μολύνουν το κρέας από το γαστρεντερικό σωλήνα περιλαμβάνουν τα *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes*, και *Escherichia coli*. Η φυσιολογική χλωρίδα από τους λεμφαδένες ενός ζώου, όπως τα *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, και *Salmonella*, μπορεί επίσης να μολύνει το κρέας. Βακτήρια όπως τα *Staphylococcus*, *Micrococcus*, και *Pseudomonas*, ιζυμομύκητες και μούχλες μπορούν να μολύνουν το κρέας από το δέρμα του ζώου, ενώ τα περιττώματα και το έδαφος μπορούν να εισάγουν επιπλέον μικροοργανισμούς (Erkmen abd Bozoglu, 2016).

Το φρέσκο κρέας που αποθηκεύεται στο ψυγείο (5°C) είναι επιρρεπές σε αλλοίωση από ψυχρότροφα αερόβια και προαιρετικά αναερόβια βακτήρια. Πολλοί από αυτούς τους μολυσματικούς μικροοργανισμούς μπορούν να πολλαπλασιαστούν στις θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται για την ψύξη των κρεάτων. Σημαντικά βακτηριακά γένη που σχετίζονται με το ψυγμένο κρέας περιλαμβάνουν τα *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, και *Micrococcus*. Τα γένη μούχλας περιλαμβάνουν τα *Alternaria*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Monilia*, *Penicillium*, *Sporotrichum*, και *Thamnidium*. Τα γένη ζυμομυκήτων περιλαμβάνουν τα *Candida*, *Torulopsis*, *Debaryomyces*, και *Rhodotorula*.

Τα πουλερικά συνδέονται συχνά με παθογόνα που προσβάλλουν τον άνθρωπο καθώς αποτελούν σημαντική πηγή μικροοργανισμών, όπως η *Salmonella* και το *Campylobacter jejuni*, που προκαλούν τροφιμογενείς ασθένειες. Το *Campylobacter*, είναι η κύρια αιτία βακτηριακής γαστρεντερίτιδας στον ανεπτυγμένο κόσμο και σύμφωνα με την έρευνα της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA), το 98,3% των ωμών σφαγίων πουλερικών στην Ιρλανδία βρέθηκαν θετικά στον *Campylobacter* (EFSA, 2010). Άλλα επιβλαβή βακτήρια που σχετίζονται με τα πουλερικά περιλαμβάνουν τα *C. perfringens*, *S. aureus*, εντεροπαθογόνα *E. coli* και *Yersinia enterocolitica*. Τα πουλερικά που αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 10°C ή χαμηλότερη αλλοιώνονται κυρίως από βακτήρια όπως τα *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens* και *Pseudomonas putida*), *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Proteus*, κολοβακτηρίδια, *Torulopsis* και *Rhodotorula*. Σε θερμοκρασίες άνω των 10°C, η αλλοίωση μπορεί να προκληθεί από *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Moraxella* και *Micrococcus*. Τα βακτήρια εξαπλώνονται κυρίως μέσω της κοπριάς, ειδικά όταν τα πουλερικά εκτρέφονται σε ανθυγιεινές συνθήκες. Ο σταφυλόκοκκος προέρχεται από τον ιστό, το δέρμα, το έντερο και τα περιττώματα των πουλιών. Το εντερικό σύστημα των υγιών πουλερικών περιέχει βακτήρια όπως *Enterococcus*, *Salmonella*, *Staphylococcus* και *C. perfringens*. Επίσης, στις μονάδες επεξεργασίας πουλερικών, διάφορες διαδικασίες μπορούν να οδηγήσουν στη διάδοση μικροοργανισμών. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, βακτήρια όπως *Alcaligenes*, *Campylobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Vibrio* και κολοβακτηρίδια είναι συνήθεις μολυσματικοί παράγοντες. Επιπλέον, σε μικρότερο βαθμό, βακτήρια όπως *Aeromonas*, *B. thermosphacta* και ορισμένα μέλη της οικογένειας *Enterobacteriaceae* μπορεί επίσης να υπάρχουν. Κατά τη διαδικασία αποπερίγωσης, βακτήρια μπορούν να μεταφερθούν ανάμεσα στα σφαγία. Η διασταυρούμενη μόλυνση μπορεί επίσης να προκύψει από μαχαίρια, νερό πλύσης εξοπλισμού και τα χέρια των εργαζομένων όπως ισχύει και στον χειρισμό του κόκκινου κρέατος. Οι εσωτερικοί ιστοί των υγιών πουλερικών είναι συνήθως απαλλαγμένοι από μικροοργανισμούς, αλλά μπορεί να συμβεί μόλυνση με περιττώματα κατά τη μεταφορά από τα εκτροφεία στα σφαγεία (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Τα επεξεργασμένα και ωριμασμένα κρέατα συνήθως έχουν βακτηριακά γένη όπως τα γαλακτικά βακτήρια (*LAB*), *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Serratia*, και *Staphylococcus*. Τα γένη μούχλας περιλαμβάνουν τα *Aspergillus*, *Penicillium*,

Rhizopus, και *Thamnidium*. Τα γένη ζυμομυκήτων περιλαμβάνουν τα *Candida*, *Debaryomyces*, *Torula*, *Torulopsis*, και *Trichosporon* (Erkmen and Bozoglu, 2016).

Η ανάπτυξη των μικροβίων που προκαλεί αλλοίωση στο κρέας εξαρτάται από τη μέθοδο συσκευασίας που χρησιμοποιείται. Το φρέσκο κρέας μπορεί να συσκευαστεί αερόβια, σε κενό αέρος ή με τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP). Το συγκεκριμένο μικροπεριβάλλον που δημιουργείται από την παρουσία ή απουσία οξυγόνου επηρεάζει τη τελική σύνθεση της μικροβιοκοινότητας του κρέατος και καθορίζει τη διάρκεια ζωής του (Farkas, 2007; Silva et al., 2011).

Οι *Pseudomonas spp.* είναι gram αρνητικά βακτήρια και θεωρούνται ως κύριοι αλλοιωτές του κρέατος που είναι αποθηκευμένο υπό ψύξη σε αερόβιες συνθήκες. αναπτύσσονται γρήγορα λόγω του σύντομου χρόνου αναπαραγωγής τους, χρησιμοποιώντας αρχικά γλυκόζη και στη συνέχεια αμινοξέα. Τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* προσκολλώνται πιο γρήγορα στις επιφάνειες του κρέατος σε σύγκριση με πολλά άλλα βακτήρια αλλοίωσης. Τα είδη *Pseudomonas fragi*, *Ps. lundensis* και *Ps. fluorescens* είναι τα πιο σημαντικά καθώς αναπτύσσονται γρήγορα εκτοπίζοντας τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς. Πιο συγκεκριμένα, το *Pseudomonas fragi* είναι το πιο συχνά εμφανιζόμενο είδος με συχνότητα μεταξύ 56,7% και 79,0% στο χαλασμένο κρέας. Η ανάπτυξη ψευδομονάδων σε τάξεις μεγέθους 10^7 - 10^8 cfu/cm² συνδέεται με την εμφάνιση γλίτσας και δυσοσμίας (Nychas et al., 2008). Οι ψευδομονάδες αλλοιώνοντας το κρέας, προκαλούν σήψη. Μελέτες έχουν δείξει ότι σε ορισμένες περιπτώσεις τα είδη *Pseudomonas* μπορούν να αποτελούν έως και το 96% της μικροχλωρίδας αλλοίωσης (Bailey et al., 1979a; Enfors et al., 1979; Asensio et al., 1988).

Αφού εξαντληθούν οι απλοί υδατάνθρακες, άλλα ψυχρότροφα βακτήρια (όπως *Aeromonas*, *Brochothrix*, *Shewanella putrefaciens*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Serratia* και *Enterobacter*) αρχίζουν να χρησιμοποιούν ελεύθερα αμινοξέα και απλές αζωτούχες ενώσεις, παράγοντας μεθυλοσουλφίδια, εστέρες και οξέα. Όταν εξαντληθούν τα αμινοξέα, τα βακτήρια όπως *Pseudomonas* (*P. fragi*, *P. fluorescens* και *P. putida*), *Aeromonas*, *Proteus*, *Clostridium* και άλλα βακτήρια αλλοίωσης παράγουν πρωτεολυτικά ένζυμα. Πολλοί μικροοργανισμοί αλλοίωσης παράγουν επίσης λιπάσες, οι οποίες καταλύουν την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα, συμβάλλοντας στην τάγγιση (Erkmen and Bozoglu, 2016).

Σημαντικοί μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται υπό αερόβιες συνθήκες σε θερμοκρασίες ψύξης, αποτελούν τα είδη της οικογένειας *Enterobacteriaceae* όπως τα *Hafnia alvei*, *Serratia liquefaciens*, και *Enterobacter agglomerans*. (Nychas et al., 1998). Τα συγκεκριμένα βακτήρια αποτελούν δείκτες υγιεινής τους προϊόντος (Nychas & Skandamis, 2005).

Εκτός από τους Gram-αρνητικούς οργανισμούς, τα Gram-θετικά βακτήρια επίσης συμβάλλουν στην αλλοίωση του κρέατος. Στο αερόβια συσκευασμένο κρέας, το κυρίαρχο Gram-θετικό βακτήριο είναι συνήθως το *Brocothrix spp.*, ιδιαίτερα το *B. thermospacta*. Αυτό το γένος είναι γνωστό για τη διάσπαση των συστατικών του κρέατος και την παραγωγή οξέων όπως το οξικό οξύ, το μυρμηκικό οξύ, το ισοβουτυρικό οξύ και το ισοβαλερικό οξύ (Huis in't Veld, 1996). Εκτός από το *Brocothrix*, το αερόβια αποθηκευμένο κρέας περιέχει επίσης συνήθως *Micrococcus*, *Achromobacter* και *Staphylococcus* (Barlow και Kitchell, 1966). Στην περίπτωση του βοδινού, τα *LAB* συνδέονται συνήθως με την αλλοίωση μαζί με τα *Brocothrix* και *Pseudomonas*. Όταν τα *LAB* αναπτύσσονται στο κρέας, παράγουν γαλακτικό οξύ, γλίτσα και διοξειδίο του άνθρακα, γεγονός που οδηγεί σε μείωση του pH και ανάπτυξη δυσάρεστων γεύσεων (Huis in't Veld, 1996; Pothakos et al., 2015). Ωστόσο, αυτά τα βακτήρια αναπτύσσονται αργά σε θερμοκρασίες ψύξης και συχνά ανταγωνίζονται από τα *Pseudomonads* σε αερόβιες συνθήκες. Συνεπώς, τα *LAB* συνήθως βρίσκονται σε μικρές ποσότητες και σπάνια συνδέονται με την αλλοίωση του φρέσκου και αερόβια αποθηκευμένου κρέατος (Borch et al., 1996; Doulgeraki et al., 2010). Αντίθετα, τα *LAB* έχουν συνδεθεί με την αλλοίωση του κρέατος που αποθηκεύεται υπό κενό ή με τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) (Pothakos et al., 2015).

Οι μύκητες δεν αναπτύσσονται στο κρέας αν η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κάτω από 5°C. Οι γενιές ζυμομυκήτων που προκαλούν αλλοίωση στα ψυγμένα κρέατα περιλαμβάνουν τις *Candida* (*C. lipolytica* και *C. zeylanoides*), *Torulopsis* και *Rhodotorula*.

Σε συσκευασία με τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) τόσο τα είδη όσο και ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών διαφέρει. Για παράδειγμα, υψηλότερα επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα στο μείγμα αερίων προάγουν την ανάπτυξη των *LAB* ενώ αναστέλλουν την ανάπτυξη των *Enterobacteriaceae* και *Pseudomonas* (Gill, 1996). Σε αντίθεση με τα *LAB*, τα οποία απαιτούν συγκέντρωση 10^8 CFU/g για να προκαλέσουν

αλλοίωση, το *Brocothrix* μπορεί να προκαλέσει αλλοίωση ακόμη και σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις λόγω της ικανότητάς του να ζυμώνει τη γλυκόζη σε γαλακτικό, οξικό και φορμικό οξύ, καθιστώντας τα τρόφιμα μη αποδεκτά οργανοληπτικά. Ένας άλλος παράγοντας ανησυχίας στα κρέατα MAP είναι η οικογένεια *Enterobacteriaceae*. Αυτά είναι τα μόνα Gram-αρνητικά βακτήρια που προκαλούν ανησυχία στη MAP, ειδικά σε περιβάλλοντα υψηλού διοξειδίου του άνθρακα, λόγω της φύσης τους ως προαιρετικοί αναερόβιοι (Gill και Penney, 1988). Οι προαιρετικοί αναερόβιοι όπως οι *Serratia*, *Enterobacter*, *Proteus* και *Hafnia* μεταβολίζουν τα αμινοξέα στο κρέας, παράγοντας αμίνες, αμμωνία, μεθυλοθείες και μερκαπτάνες, οι οποίες οδηγούν σε σήψη, δυσάρεστες οσμές και ροζ απόχρωση του κρέατος.

3.1.2 Χαρακτηριστικά της μικροβιακής αλλοίωσης

Η μικροβιολογική αλλοίωση των κρεάτων εξαρτάται από την διαθεσιμότητα γλυκόζης, γαλακτικού οξέος, αμινοξέων, και άλλων ενώσεων που περιέχουν άζωτο και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πηγές ενέργειας για την ανάπτυξη των μικροβίων. Η γλυκόζη καταβολίζεται κατά την πρώτη φάση της μικροβιακής ανάπτυξης κάτω από αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες (Nychas & Drosinos, 2014). Το γαλακτικό οξύ αποτελεί την δεύτερη προτίμηση ως πηγή άνθρακα και χρησιμοποιείται συνήθως ύστερα από την κατανάλωση της γλυκόζης. Η κατανάλωση της γλυκόζης θα οδηγήσει σε μία τελική τιμή pH, επηρεάζοντας την μικροβιακή ανάπτυξη. Υπό αερόβιες συνθήκες, τα αρχικά σημάδια αλλοίωσης, όπως η δυσάρεστη οσμή, γίνονται αισθητά όταν η πυκνότητα των βακτηρίων φτάσει τα 10^8 κύτταρα/cm² (Nychas et al., 1988). Επίσης, στα πουλερικά μια έντονη οσμή στην επιφάνεια αναπτύσσεται όταν ο αριθμός των βακτηρίων φτάσει τα $2,5 \times 10^6$ cfu/cm² (Erkmen & Bozoglu, 2016). Αυτή η αύξηση των βακτηρίων συσχετίζεται με μείωση των διαθέσιμων επιπέδων γλυκόζης στο κρέας και την αρχή κατανάλωσης πρωτεΐνη ως πηγή ενέργειας (Gill, 1976). Αυτή η αλλαγή στη διαθεσιμότητα των υποστρωμάτων ευνοεί την ανάπτυξη πρωτεολυτικών οργανισμών και συμπίπτει με την έναρξη της αλλοίωσης που ανιχνεύεται από την οσμή και τη γεύση (Nychas et al., 2008).

Η ποικιλία των μικροοργανισμών που εμπλέκονται στην αλλοίωση του κρέατος, η προτίμησή τους για συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά και οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξή τους και την επιβίωσή τους οδηγούν σε διάφορα αποτελέσματα αλλοίωσης. Αυτά τα αποτελέσματα περιλαμβάνουν τον αποχρωματισμό

του κρέατος, την ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών και γεύσεων, την παραγωγή αερίων, τη δημιουργία γλίτσας (οπτική ανάπτυξη), και αλλαγές στην υφή (αποδόμηση), (Borch et al., 1996; Nychas et al., 2008). Επίσης, η αλλοίωση του κρέατος χαρακτηρίζεται από αύξηση του pH. Η αύξηση της τιμής του pH σε 6,5 είναι ένδειξη αλλοίωσης στον κιμά, και το pH μπορεί να αυξηθεί έως και 8,5 σε σάπια κρέατα.

Αποχρωματισμός του κρέατος

Αλλαγές στο χρώμα όπως πράσινη ή γκριζαρισμένη εμφάνιση, μπορεί να προκύψουν από μικροβιακή δραστηριότητα. Αυτό συμβαίνει όταν η μυοσφαιρίνη αλληλεπιδρά με υδρόθειο που παράγεται από μικροβιακούς οργανισμούς ή όταν διασπάται σε κίτρινους ή πράσινους χολικούς χρωστικούς παράγοντες μέσω του μικροβιακού υπεροξειδίου του υδρογόνου. Η πράσινη ή γκριζαρισμένη εμφάνιση του κρέατος συνήθως συνδέεται με την παρουσία βακτηρίων γαλακτικού οξέος (*LAB*), (όπως το *L. sakei*, το *Hafnia alvei* και το *S. Putrefaciens*) τα οποία εμπλέκονται στη δημιουργία πράσινης σουλφμυοσφαιρίνης. Επιπλέον, το υπεροξείδιο του υδρογόνου που παράγεται από τα *Leuconostoc spp.* και *W. viridescens* μπορεί να συμβάλλει στην πράσινη εμφάνιση του κρέατος (Borch et al., 1996; Dušková et al., 2013). Τα μικροβιακά χρώματα μπορούν επίσης να παρατηρηθούν οπτικά στο κρέας, με τα *Pseudomonads* και τους μύκητες από τα γένη *Cladosporium*, *Sporotrichium* και *Penicillium* να παράγουν διάφορα χρώματα, όπως μπλε, πράσινο, κίτρινο, μαύρο και λευκό. Ειδικότερα, το κίτρινο φωσφορίζον χρώμα που παράγεται από το *P. fluorescens* είναι ένας σιδηροφόρος παράγοντας που βοηθά τα βακτήρια να αξιοποιήσουν τον σίδηρο στο κρέας (Cornelis, 2010; Lawrie, 2006). Η παραγωγή μπλε χρώματος από το *P. fluorescens* μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα το "μπλε χοιρινό ή μοσχάρι" σε αλλοιωμένο κρέας.

Ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών και γεύσεων

Ο χρόνος ζωής επηρεάζεται σημαντικά από τον αριθμό των βακτηρίων που βρίσκονται σε ένα τρόφιμο, ωστόσο, δεν εξαρτάται μόνο από τον αριθμό των βακτηρίων αλλά και από τον την δραστηριότητα του μεταβολισμού τους. Η παραγωγή πτητικών ενώσεων όπως θείου, κετόνες, αλδεΐδες, οξέα, εστέρες, αλκοόλες και αμμωνία μέσω του βακτηριακού μεταβολισμού είναι αυτή που προκαλεί τις δυσάρεστες οσμές που συνδέονται με το μικροβιακά αλλοιωμένο κρέας (Casaburi et al., 2015). Στο φρέσκο και αεροστεγώς συσκευασμένο κρέας, αυτές οι δυσάρεστες οσμές γίνονται αντιληπτές όταν ο πληθυσμός των βακτηρίων φτάσει την πυκνότητα των 10^7 CFU/g. Σε αυτή την

πυκνότητα και υπό αερόβιες συνθήκες, οι υδατάνθρακες εξαντλούνται, ωθώντας τις βακτηριακές κοινότητες να χρησιμοποιούν αμινοξέα ως πηγή ενέργειας. Οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί σε αυτό το περιβάλλον περιλαμβάνουν τα *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Serratia*, και *Pantoea* (Nychas et al., 2008). Η αποδόμηση των αμινοξέων και άλλων αζωτούχων ενώσεων οδηγεί στην παραγωγή δυσάρεστων οσμών γνωστή ως σήψη. Αποτέλεσμα είναι η παραγωγή δύσοσμων ενώσεων, από τον καταβολισμό των θειούχων ενώσεων, όπως H_2S και διμεθυλοσουλφίδιο, από τα *Enterobacteriaceae* και τα *Pseudomonas spp.* αντίστοιχα, προκαλώντας θειούχα οσμή στο κρέας, μερκαπτάνες, ινδόλη, αμμωνία, και αμίνες από αμινοξέα. Επιπλέον, ο μεταβολισμός των υδατανθράκων από τα ομοζυμωτικά *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae* και *B. thermosphacta* παράγει τυρώδη οσμή λόγω της δημιουργίας ακετοΐνης, διακετυλίου και 3-μεθυλοβουτανόλης (Casaburi et al., 2015). Στο κρέας που είναι συσκευασμένο υπό κενό και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP), το περιβάλλον περιορισμένου οξυγόνου οδηγεί σε λιγότερο έντονες δυσάρεστες οσμές, που αποτελούνται κυρίως από ξινή, όξινη αρωματική ουσία που παράγεται από τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (*LAB*) (Pin et al., 2002). Τα πουλερικά συχνά αλλοιώνονται από *Alcaligenes* και *Pseudomonas*, με το *A. putrefaciens* να αναπτύσσεται καλά στους $5^\circ C$ και να παράγει δυσάρεστες οσμές. Τα *Acinetobacter*, *Moraxella* και *A. putrefaciens* μπορεί να απελευθερώνουν ενώσεις όπως H_2S , μεθυλομερκαπτάνη και διμεθυλοσουλφίδιο.

Παραγωγή αερίων

Η παραγωγή αερίων παρατηρείται συχνά σε κρέας συσκευασμένο υπό κενό και συνδέεται κυρίως με την ανάπτυξη ειδών *Clostridium* (Iulietto et al., 2015). Αυτά τα αναερόβια βακτήρια προκαλούν σημαντική πρωτεόλυση στο κρέας, οδηγώντας στη συσσώρευση αερίων όπως το υδρογόνο και το διοξείδιο του άνθρακα, καθώς και στην ανάπτυξη δυσοσμίων, στη δημιουργία εξιδρώματος και σε μεταβολές στο pH και το χρώμα. Παρόμοια φαινόμενα αλλοίωσης σε ψυγμένο, συσκευασμένο υπό κενό κρέας μπορούν επίσης να προκληθούν από ορισμένα ψυχρότροφα βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων γαλακτικού οξέος (*LAB*) (Yang et al., 2014). Τα *LAB*, συμβάλλουν στην παραγωγή πτητικών οργανικών οξέων που ανιχνεύονται στον χώρο κενού του αλλοιωμένου κρέατος. Εκτός από τα οξέα, τα ετεροζυμωτικά *Lactobacilli* και *Leuconostocs* παράγουν διοξείδιο του άνθρακα και δυσάρεστες οσμές (Iulietto et al., 2015).

Σχηματισμός γλίτσας

Η εμφάνιση γλίτσας στο κρέας είναι ένα ακόμη οπτικό ελάττωμα που επηρεάζει τις προτιμήσεις των καταναλωτών. Η γλοιώδης υφή εμφανίζεται λόγω τόσο της μαζικής ανάπτυξης βακτηρίων όσο και της πρωτεόλυσης. Αυτό το πρόβλημα συνδέεται με την παρουσία των ειδών *Lactobacillus* και *Leuconostoc*. Η παχύρρευστη υφή της βλέννας οφείλεται στους βακτηριακούς πολυσακχαρίτες που εκτείνονται από την επιφάνεια του κρέατος μέχρι τη συσκευασία ή ανάμεσα στις φέτες του κρέατος (Iulietto et al., 2015). Η δημιουργία βλέννας μπορεί επίσης να σχετίζεται με πράσινο αποχρωματισμό, όπως συμβαίνει με το *W. viridescens*. Όταν το *W. viridescens* αναπτύσσεται εκτενώς στην επιφάνεια του κρέατος, οδηγεί στην εμφάνιση πρασινωπής βλέννας στο προϊόν (Dusková et al., 2013).

Αν και η αποθήκευση σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα ή υπό κενό παρατείνει τη διάρκεια ζωής των προϊόντων που αποθηκεύονται στο ψυγείο συνεχίζει να υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης μικροαερόφιλων ψυχρότροφων παθογόνων (Garcia de Fernando et al., 1995). Επομένως, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται επιπλέον εμπόδια για να εξασφαλιστεί η ασφάλεια αυτών των προϊόντων. Όταν η εσωτερική θερμοκρασία του κρέατος δεν μειώνεται στη θερμοκρασία του ψυγείου, η αλλοίωση προκαλείται κυρίως από *Clostridium perfringens* και γένη της οικογένειας *Enterobacteriaceae*. *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* και *Clostridium thermosaccharolyticum* παράγουν πτητικές ενώσεις που σχετίζονται με οσμές, ενώ τα *Pseudomonas* και *Aeromonas* μπορούν επίσης να αλλάξουν την υφή του κρέατος (Erkmen abd Bozoglu, 2016). Τέλος, το μαγείρεμα του κρέατος καταστρέφει ένα μεγάλο μέρος της μικροχλωρίδας του ωμού κρέατος, αλλά οι θερμοανθεκτικοί μικροοργανισμοί, όπως τα σπόρια του *Clostridium perfringens* και *Bacillus cereus*, μπορεί να παραμείνουν. Η ακατάλληλη αποθήκευση μετά το μαγείρεμα μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη αυτών των επιζώντων μικροοργανισμών.

Πίνακας 1: Αλλοιογόνα βακτήρια, αντίδραση κατά gram και χαρακτηριστικό γνώρισμα ανάπτυξής τους στο κρέας (Bekhit et al., 2021)

Είδος μικροοργανισμού	Αντίδραση κατά gram	Χαρακτηριστικό γνώρισμα
<i>Achromobacter</i>	-	Άχρωμη σήψη
<i>Acinetobacter</i>	-	Επιφανειακή γλίτσα / δυσοσμία
<i>Aeromonas</i>	-	Δυσοσμία
<i>Alcaligenes</i>	-	Ξίνισμα / σήψη / αέριο
<i>Alteromonas</i>	-	Δυσοσμία / πράσινος αποχρωματισμός
<i>Arthrobacter</i>	+ -	-
<i>Bacillus</i>	+	Ξίνισμα
<i>Brochothrix</i>	+	Γλίτσα / ξίνισμα / πρασίνισμα / δυσοσμία-οσμή σάπιου
<i>Carnobacterium</i>	+	Ελάχιστη συμμετοχή στην συνολική αλλοίωση
<i>Citrobacter</i>	-	Δυσοσμία
<i>Clostridium</i>	+	Οσμή μεθυλοσουλφιδίου / φούσκωμα συσκευασίας / οσμή από κόκαλα
<i>Corynebacterium</i>	+	Δυσοσμία
<i>Enterobacter</i>	-	Δυσοσμία
<i>Enterococcus</i>	+	Πρασίνισμα H ₂ O ₂ / γλίτσα / οσμή από κόκαλα / ξίνισμα
<i>Escherichia</i>	-	Ξίνισμα
<i>Flavobacterium</i>	-	Δυσοσμία / κίτρινος αποχρωματισμός
<i>Hafnia</i>	-	Οσμή θειούχων / σήψη / ροζ-κόκκινη κρέας / πράσινος αποχρωματισμός
<i>Janthinobacterium</i>	-	-
<i>Klebsiella</i>	-	Δυσοσμία
<i>Lactobacillus</i>	+	Πρασίνισμα H ₂ O ₂ / γλίτσα / ξίνισμα
<i>Leuconostoc</i>	+	Πρασίνισμα / γλίτσα / ξίνισμα / φούσκωμα συσκευασίας
<i>Micrococcus</i>	+	Δυσοσμία
<i>Moraxella</i>	-	Δυσοσμία
<i>Pseudomonas</i>	-	Μπλε – πράσινες κυλίδες / γλίτσα / δυσοσμία / κίτρινος - μπλε αποχρωματισμός
<i>Shewanella</i>	-	Πρασίνισμα H ₂ S
<i>Staphylococcus</i>	+	Ξίνισμα / δυσοσμία
<i>Streptococcus</i>	+	Γλίτσα / πρασίνισμα / ξίνισμα

<i>Vibrio</i>	-	Θειώδης δυσσομία
<i>Weissella</i>	+	Γλίτσα / Πρασίνισμα H ₂ O ₂ / παραγωγή αερίου

3.2 Λιπιδιακή οξείδωση

Στο κρέας περιέχονται λίπη τα οποία παρέχουν διατροφικά οφέλη, απαραίτητα λιπαρά οξέα και προσδίδουν αισθητικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο, η υπερβολική κατανάλωση λιπαρών τροφών συνδέεται με αυξημένα ποσοστά παχυσαρκίας, υψηλής αρτηριακής πίεσης και στεφανιαίας νόσου (Campo et al., 2006; Park et al., 2008). Το ποσοστό και η σύνθεση των λιπών στο κρέας διαφέρουν ανάλογα με το μέρος του ζώου. Αμέσως μετά τη σφαγή, αρχίζουν χημικές διεργασίες οι οποίες προκαλούν αλλαγές στη δομή και την ποιότητα. Μερικές φορές κάτι τέτοιο είναι επιθυμητό, όπως στην ξηρή ωρίμανση του κρέατος για βελτίωση της ποιότητας και επίτευξη των επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, ωστόσο η ποιότητα μειώνεται με χαρακτηριστικό παράδειγμα την οξείδωση των λιπών που οδηγεί γρήγορα σε τάγγιση. (Wittgas.com).

Λιπιδιακή οξείδωση ονομάζεται η αντίδραση των ακόρεστων λιπαρών οξέων με το οξυγόνο η οποία οδηγεί στην τάγγιση και στην αποικοδόμηση των λιπών. Υπάρχουν τρία είδη λιπιδιακής οξείδωσης. Η αυτοοξείδωση, η φωτοοξείδωση και η ενζυμική υδρόλυση η οποία δεν έχει ιδιαίτερη δράση στο κρέας (Mariutti & Bragagnolo, 2017). Στην λιπιδιακή οξείδωση επιδρούν οι λιπάσες, οι λιποξυγενάσες, η κυκλοοξυγενάση και άλλα ενζυμικά συστήματα τα οποία συμβάλλουν στην οξείδωση της χοληστερόλης. Πολλά από αυτά τα ένζυμα προκύπτουν από εκκρίσεις βακτηρίων ωστόσο, γενικά η μη ενζυμική λιπιδιακή οξείδωση παίζει σημαντικότερο ρόλο στην λιπιδιακή οξείδωση του κρέατος (Paruc et al., 2017). Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα αντιδρούν με το οξυγόνο, οδηγώντας στην παραγωγή σταθερών ενώσεων όπως αλδεΐδες, κετόνες και βραχείας αλυσίδας λιπαρά οξέα, που προκαλούν ταγγές γεύσεις και οσμές. Αυτή η διαδικασία, γνωστή ως αυτοοξείδωση, συμβαίνει σε κρέατα που αποθηκεύονται υπό αερόβιες συνθήκες. Ο ρυθμός οξείδωσης εξαρτάται από την αναλογία των ακόρεστων λιπαρών οξέων στο λίπος (Erkmen abd Bozoglu, 2016). Η οξείδωση μπορεί να συμβεί στα τριγλυκερίδια ή στα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης τα οποία είναι πλούσια σε ακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα ιόντα μετάλλων και το ασκορβικό οξύ, μπορούν να λειτουργήσουν ως προοξειδωτικά στο κρέας σε συνδυασμό με άλλες συνθήκες όπως το φως, οι υψηλές θερμοκρασίες και το οξυγόνο. Τα λιπαρά οξέα αυξάνουν το

περιεχόμενο ασταθών οργανικών ενώσεων κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων αυτοοξειδωσης και μπορούν να ξεκινήσουν τον κύκλο οξειδωσης των λιπιδίων στο κρέας (Campo et al., 2006; Soares et al., 2009). Η οξειδωση των λιπιδίων στα προϊόντα κρέατος επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η διάρκεια και ο τύπος αποθήκευσης, η παρουσία φωτός, οι διαδικασίες επεξεργασίας και τα πρόσθετα που χρησιμοποιούνται (Suman et al., 2005). Τα λιπολυτικά βακτήρια όπως το *Achromobacter* και η *Pseudomonas*, καθώς και οι ζύμες, μπορούν να προκαλέσουν λιπόλυση και να επιταχύνουν την οξειδωση των λιπών.

Η οξειδωση των λιπιδίων είναι ένας κρίσιμος παράγοντας που επηρεάζει την ποιότητα και την ασφάλεια του φρέσκου κρέατος. Αποτελεί κύρια αιτία υποβάθμισης της ποιότητας του φρέσκου κρέατος και των προϊόντων κρέατος, καθώς επηρεάζει το χρώμα, τη γεύση, την υφή και τη διατροφική αξία του. Αποτελεί ένα πρόβλημα ποιότητας που μπορεί να μειώσει σημαντικά την επιθυμία για τα τρόφιμα. Για να μειωθεί η οξειδωση των λιπιδίων, τα κρέατα αποθηκεύονται σε χαμηλές θερμοκρασίες χωρίς οξυγόνο, ωστόσο και πάλι μπορεί να συμβεί οξειδωση των λιπιδίων, αποχρωματισμός και αλλοιώσεις στην υφή (Campo et al., 2006).

Επιπλέον, η οξειδωση των λιπιδίων στα τρόφιμα αποτελεί κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Οι ερευνητές και οι καταναλωτές επικεντρώνονται πλέον στη σύνδεση μεταξύ της οξειδωσης και της υγείας, καθώς διάφορες μεταβολικές διαταραχές σχετίζονται άμεσα ή έμμεσα με την οξειδωση (Chizzolini et al., 1998). Ορισμένα προϊόντα οξειδωσης λιπιδίων, και ιδιαίτερα τα οξείδια της χοληστερόλης, θεωρούνται αθηρογόνοι παράγοντες και φαίνεται να έχουν μεταλλαξιογόνες, καρκινογόνες και κυτταροτοξικές ιδιότητες.

3.3 Πρωτεϊνική οξείδωση

Είναι γνωστό ότι η οξείδωση των πρωτεϊνών οδηγεί σε σημαντικές αλλαγές στο κρέας, επηρεάζοντας την θρεπτική του αξία και τις λειτουργικές ιδιότητες όπως την ικανότητα συγκράτησης νερού, την ικανότητα γαλακτωματοποίησης, την ικανότητα σχηματισμού gel, την ευαισθησία στην υδρόλυση από ένζυμα και άλλες αλλαγές. Ακόμη, επηρεάζει τις αισθητηριακές ιδιότητες (όπως το χρώμα, τη γεύση, την υφή και την ζουμερότητα). Μέσω της οξείδωσης των πρωτεϊνών, αλλάζει η ικανότητά τους να συμμετέχουν σε βιοχημικές αντιδράσεις, επηρεάζοντας έτσι τις φυσιολογικές ιδιότητες. Παρουσιάζονται δυσάρεστες γεύσεις, αποχρωματισμός και μειωμένες αποδόσεις στα επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος (Bekhit et al., 2021).

Η μυοσφαιρίνη είναι η πρωτεΐνη που κυρίως καθορίζει το χρώμα του. Σε περιβάλλον με υψηλό οξυγόνο, συμβαίνει οξείδωση, μετατρέποντας τον σίδηρο της μυοσφαιρίνης από κατάσταση +2 σε κατάσταση +3 με αποτέλεσμα τη μεταμυοσφαιρίνη, μια καφέ χρωστική η οποία δημιουργεί την καφέ απόχρωση του κρέατος. Περαιτέρω οξείδωση της μεταμυοσφαιρίνης οδηγεί σε αλλοιωμένο, συχνά πράσινο, κρέας.

Οι επιπτώσεις των οξειδωμένων πρωτεϊνών στην υγεία έχουν εξεταστεί για δύο κύριους λόγους. Για την αδυναμία του πεπτικού συστήματος να διασπά αποτελεσματικά τις συσσωματωμένες πρωτεΐνες, και για τον σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων. Η μειωμένη πεπτικότητα των πρωτεϊνών μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα των υπολειμμάτων αμινοξέων, με αποτέλεσμα οι αδιάσπαστες πρωτεΐνες να γίνονται διαθέσιμες για τις ζυμωτικές ενέργειες της κολονικής μικροχλωρίδας, οδηγώντας σε διάφορα αποτελέσματα. Ορισμένες μελέτες (Papuc et al., 2017; Rowland & Hughes, 2000) έχουν τονίσει αρνητικές επιπτώσεις, προτείνοντας πιθανή εντερική καρκινογένεση και αναφέροντας περιστατικά νεοπλασιών και αδενοκαρκινώματος του λεπτού εντέρου μετά την πέψη πρωτεϊνών ανθεκτικών στην πέψη. Οι μικροβιακές πρωτεάσες και οι ενδογενείς πρωτεάσες του κρέατος οδηγούν στην αποδόμηση των πρωτεϊνών και την παραγωγή ελεύθερων αμινοξέων που μεταβολίζονται από μικροοργανισμούς οδηγώντας σε ένα ευρύ φάσμα πτητικών ενώσεων που συνδέονται με την απώλεια φρεσκάδας.

Η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών και άλλων ενώσεων που περιέχουν άζωτο λόγω μηχανισμών αλλοίωσης οδηγούν στη συσσώρευση οργανικών αμινών γνωστών ως «ολικό βασικό πτητικό άζωτο» (total volatile basic nitrogen TVB-N). Πρόκειται για

τοξικές ενώσεις που προκαλούν αλλαγές στο χρώμα και τη γεύση επηρεάζοντας την ποιότητα των προϊόντων. Η συγκέντρωση των TVB-N αυξάνεται με τον χρόνο αποθήκευσης του κρέατος και συχνά σχετίζεται με άλλους δείκτες αλλοίωσης όπως το μικροβιολογικό φορτίο και αισθητηριακές αλλαγές. Πολλοί μικροοργανισμοί (συμπεριλαμβανομένων των *Pseudomonas*, και *Photobacterium*, *Vibrionaceae*) συμμετέχουν στο ποσοστό των TVB-N καθώς παράγουν αμμωνία και μεθυλαμίνες. Η τριμεθυλαμίνη αποτελεί μία οργανική αμίνη (TVB-N), και χρησιμοποιείται ως δείκτης αλλοίωσης στα ψάρια. Ωστόσο, στο κρέας δεν χρησιμοποιείται ως παράμετρος δείκτης ποιότητας λόγω έλλειψης πληροφοριών σχετικά με τα ενζυμικά συστήματα τα οποία οδηγούν στον σχηματισμό τριμεθυλαμίνης όπως συμβαίνει στην περίπτωση των ψαριών. Παρ' όλα αυτά έχουν γίνει έρευνες στις οποίες το ολικό βασικό πτητικό άζωτο (TVB-N) χρησιμοποιείται για να προσδιορίσουν εάν ένα κρέας είναι φρέσκο ή αλλοιωμένο (Bekhit et al., 2021).

3.4 Ενζυμική αλλοίωση

Ύστερα από την σφαγή ενός ζώου πολλά ενδογενή ένζυμα συμμετέχουν σε βιοχημικές αλλαγές στους μυς. Η δράση από τις πρωτεάσες κατά την αποθήκευση του κρέατος μετά την νεκρική ακαμψία, παίζει σημαντικό ρόλο στην συνολική ποιότητα του κρέατος. Παράδειγμα αποτελούν οι καλπαΐνες στην τρυφεροποίηση του κρέατος (Bhat et al., 2018) και οι αμινοπεπτιδάσες στην γεύση του κρέατος (Nishimura, 1998). Εκτός από τις ενδογενείς, και οι εξωγενείς πρωτεάσες οι οποίες παράγονται από βακτήρια έχουν παρόμοιες επιδράσεις. Η παραγωγή TVB-N, έχει συσχετιστεί με ενζυμικές δράσεις. Ακόμη, έχει βρεθεί ότι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί παράγουν πρωτεάσες, ή άλλες ενώσεις που συμβάλλουν στην αποσύνθεση των πρωτεϊνών αλλοιώνοντας την υφή του κρέατος και επηρεάζοντας την ποιότητά του (Bekhit et al., 2021). Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, οι οξειδωτικές διαδικασίες και οι υδρολυτικές αντιδράσεις που προκαλούνται από βακτήρια και ένζυμα είναι οι κύριες αιτίες αλλοίωσης του κρέατος.

3.5 Μέθοδοι προσδιορισμού αλλοίωσης

Γενικά, οι μέθοδοι για τον προσδιορισμό της αλλοίωσης ή της φρεσκάδας των προϊόντων κρέατος μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως καταστροφικές ή μη καταστροφικές.

Οι καταστροφικές μέθοδοι πραγματοποιούν χειρισμό του δείγματος τέτοιον ο οποίος μπορεί να προκαλέσει μη επιστρεπτές αλλαγές. Αυτές οι μέθοδοι περιλαμβάνουν (Bekhit et al., 2021):

- αισθητηριακή αξιολόγηση (τόσο υποκειμενική όσο και αντικειμενική)
- μικροβιολογική ανάλυση
- μέτρηση pH για προσδιορισμό κρέατος DFD
- μεθόδους ανίχνευσης οξείδωσης λιπιδίων (όπως αντιδραστικές ουσίες θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS))
- μεθόδους ανίχνευσης βιογενών αμινών
- μεθόδους ανίχνευσης οξείδωσης πρωτεϊνών
- ανίχνευση αέριων και πτητικών δεικτών αλλοίωσης (όπως τριμεθυμαλίνη (TMA), διμεθυλαμίνη (DMA), ολικό πτητικό βασικό άζωτο (TVB-N), NH_3 , CO , H_2O , οξείδιο του αζώτου και διοξείδιο του θείου).

Οι μη καταστροφικές μέθοδοι χρησιμοποιούν μια ποικιλία τεχνικών που απαιτούν ελάχιστο χειρισμό των δειγμάτων, παρέχοντας έτσι δεδομένα που αντικατοπτρίζουν με ακρίβεια την πραγματική κατάσταση των δειγμάτων χωρίς τις τροποποιήσεις που προκαλούνται από διάφορα στάδια προετοιμασίας. Παραδείγματα τεχνικών που χρησιμοποιούνται στα πλαίσια των μη καταστροφικών μεθόδων αξιολόγησης της ποιότητας περιλαμβάνονται (Bekhit et al., 2021):

- μετρήσεις χρώματος
- απεικόνιση (μέσω υπολογιστή, υπερφασματική απεικόνιση και υπερφασματική απεικόνιση κοντά στο υπέρυθρο),
- φασματοσκοπία
- ηλεκτρονική μύτη
- μετρήσεις αγωγιμότητας

Ωστόσο, οι συγκεκριμένες μέθοδοι έχουν περιορισμένη εφαρμογή σε βιομηχανική ρουτίνα.

4. Συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP)

Το ενδιαφέρον για τεχνολογίες που επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής του κρέατος αυξάνεται όσο αυξάνεται και η ζήτηση των καταναλωτών για υψηλή ποιότητα, ευκολία, ασφάλεια και φρέσκια εμφάνιση. Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την παράταση της διάρκειας ζωής και την διατήρηση της ποιότητας ενός τροφίμου καταστέλλοντας την ανάπτυξη και το μεταβολισμό των μικροοργανισμών, είναι η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) (Holck et al, 2014). Πρόκειται για έναν πολύ διαδεδομένο τρόπο συσκευασίας στη βιομηχανία τροφίμων, και συνεχίζει να έχει ενδιαφέρον. Βασίζεται στη τροποποίηση του περιβάλλοντος γύρω από το τρόφιμο και πιο συγκεκριμένα ο ατμοσφαιρικός αέρας στο πακέτο αντικαθίσταται από ένα αέριο ή μείγμα αερίων.

Η Οδηγία Αρ. 95/2/EK, είναι ειδική Οδηγία που αποτελεί μέρος της γενικής Οδηγίας 89/107/ΕΟΚ και εφαρμόζεται στην κατηγορία πρόσθετων αερίων συσκευασίας, που είναι στην ομάδα των πρόσθετων εκτός από τα χρώματα και τα γλυκαντικά. Σύμφωνα με τις Οδηγίες, τα αέρια συσκευασίας ορίζονται ως « τα αέρια, εκτός από τον αέρα, που εισάγονται σε έναν περιέκτη πριν, κατά τη διάρκεια ή μετά την τοποθέτηση ενός τροφίμου στον εν λόγω περιέκτη » (Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, 1995). Τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα αέρια συσκευασίας σε διάφορα τρόφιμα είναι το οξυγόνο (E 948), το διοξείδιο του άνθρακα (E 290) και το άζωτο (E 941). Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το αργό (E 938), το υποξείδιο του αζώτου (E 942) και το υδρογόνο (E949).

Τα μίγματα αερίων συνήθως συνδυάζουν οξυγόνο (O_2), διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) και άζωτο (N_2) σε διάφορες αναλογίες για να διατηρηθεί η ποιότητα του φρέσκου κόκκινου κρέατος, τόσο από μικροβιολογική όσο και από αισθητική άποψη. Η MAP είναι πιο αποτελεσματική όταν συνδυάζεται με ψύξη, επειδή η χαμηλή θερμοκρασία επιβραδύνει τη μικροβιολογική και άλλες είδους αλλοιώσεις των τροφίμων. Με την συσκευασία υπό προστατευτική ατμόσφαιρα, διατηρείται η ποιότητα των φρέσκων προϊόντων για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, παρατείνεται η διάρκεια ζωής στο ράφι και δίνεται η δυνατότητα στους παραγωγούς τροφίμων, ακόμη και ευπαθών προϊόντων, να έχουν πρόσβαση σε μια γεωγραφικά μεγαλύτερη αγορά.

Είναι κατάλληλη για προϊόντα κρέατος, ψάρια, γαλακτοκομικά προϊόντα, ψωμί, φρούτα και λαχανικά, καθώς και έτοιμα προϊόντα. Επιπλέον, μπορεί να εφαρμοστεί και κατά την παραγωγική διαδικασία, όπως στην αποθήκευση και τη μεταφορά φρούτων και λαχανικών σε αίθουσες ή εμπορευματοκιβώτια. Για να διασφαλιστεί η ασφάλεια του συγκεκριμένου τρόπου συσκευασίας πρέπει να ελέγχονται και να τηρούνται τα πρότυπα που απαιτούνται (Wittgas.com). Τα συστήματα ασφάλειας τροφίμων πρέπει να εφαρμόζονται και να καλύπτουν ειδικά πρότυπα και απαιτήσεις για τα τρόφιμα με αποδεκτό επίπεδο ποιότητας. Η συσκευασία κενού και η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) αποτελούν πρόσφατες καινοτομίες με ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως τεχνικές συντήρησης για τη βελτίωση της διάρκειας ζωής του κρέατος και άλλων τροφίμων (Farber et al., 2003). Στη συσκευασία κενού, ο αέρας αφαιρείται πλήρως. Η συσκευασία ελεγχόμενης ατμόσφαιρας είναι επίσης MAP, όπου η επιλεγμένη συγκέντρωση αερίου διατηρείται ενεργά καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η MAP του κρέατος προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα όπως περιγράφονται παρακάτω και μπορεί να βελτιωθεί επιπλέον με τα κατάλληλα συστήματα συντήρησης. Στα μειονεκτήματα, περιλαμβάνεται το κόστος του εξοπλισμού συσκευασίας των αερίων, των υλικών συσκευασίας, του αναλυτικού εξοπλισμού ελέγχου της ορθότητας της εισαγωγής των αερίων και του απαιτούμενου ελέγχου της θερμοκρασίας.

4.1 Τα πλεονεκτήματα της εφαρμογής τροποποιημένης ατμόσφαιρας

➤ Επέκταση του χρόνου ζωής / καλύτερη ποιότητα

Τα τρόφιμα που συσκευάζονται σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα χαλούν με πολύ πιο αργό ρυθμό. Σε συνδυασμό με συνεχή ψύξη, η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα μπορεί να επεκτείνει σημαντικά τη φρεσκάδα και τη διάρκεια ζωής στο ράφι ανάλογα με τον τύπο του προϊόντος, καθώς είναι δυνατή ακόμη και η διπλάσια διάρκεια ζωής. Γενικά, τα προϊόντα MAP διατηρούν την ποιότητά τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα φτάνοντας στον καταναλωτή στην καλύτερη δυνατή κατάσταση. (Wittgas.com).

➤ **Λιγότερα απόβλητα**

Η μεγαλύτερη ανθεκτικότητα συνδέεται με λιγότερα προβλήματα κατά την μεταφορά σε μεγάλες αποστάσεις, και μεγαλύτερη διάρκεια ζωής στο ράφι. Ως αποτέλεσμα, μειώνεται η απόρριψη αποβλήτων λόγω αλλοιωμένων τροφίμων (Wittgas.com). Πιο συγκεκριμένα, η συσκευασία του κρέατος υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα έχει οδηγήσει σε μείωση των απωλειών προϊόντων και, συνεπώς, σε μειωμένο περιβαλλοντικό αντίκτυπο της παραγωγής και κατανάλωσης κρέατος (van Velzen et al, 2008). Οι υπολογισμοί δείχνουν, ότι ο περιβαλλοντικός αντίκτυπος των απωλειών προϊόντων είναι μεγαλύτερος από τη χρήση επιπλέον υλικών συσκευασίας (Holck et al, 2014).

➤ **Περισσότερες ευκαιρίες πώλησης**

Λόγω της μεγαλύτερης διάρκειας ζωής, η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα προωθεί τις πωλήσεις σε νέες γεωγραφικές αγορές. Ιδιαίτερα τα ευπαθή προϊόντα, μπορούν να αποσταλούν σε μεγαλύτερες αποστάσεις συμμετέχοντας στην παγκόσμια αγορά, κάτι που ειδάλλως δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί (Wittgas.com).

➤ **Λιγότερα συντηρητικά**

Καθώς η συσκευασία υπό προστατευτική ατμόσφαιρα παρατείνει τη διάρκεια ζωής των τροφίμων, η χρήση συντηρητικών μπορεί να μειωθεί ή ακόμη και να εξλειφθεί εντελώς. Οι καταναλωτές τείνουν να προτιμούν προϊόντα τα οποία δεν περιέχουν τεχνητά πρόσθετα (Wittgas.com).

➤ **Ελκυστικό προϊόν**

Πέρα από τους λειτουργικούς λόγους, ο σχεδιασμός της συσκευασίας παίζει σημαντικό ρόλο στην επιλογή του προϊόντος από τους καταναλωτές αφού η εμφάνιση σε συνδυασμό με την εντύπωση ποιότητας επηρεάζουν την αγοραστική συμπεριφορά. Η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα συμβάλλει στο να παραμένει το προϊόν ελκυστικό και θελκτικό από τον καταναλωτή (Wittgas.com). Η συγκεκριμένη μέθοδος συσκευασίας φαίνεται να έλυσε μερικά από τα μειονεκτήματα της συσκευασίας κενού για τα τρόφιμα η οποία μπορεί να αναστείλει τους αυστηρά αερόβιους μικροοργανισμούς που προκαλούν αλλοίωση του φρέσκου κρέατος, αλλά δεν εγγυάται τη φρέσκια εμφάνιση και σταθερότητα χρώματος (Slavica and Radoslav, 2010).

4.2 Αέρια τροποποιημένης ατμόσφαιρας

Για την επιβράδυνση της διαδικασίας αλλοίωσης όσο το δυνατόν περισσότερο, χρησιμοποιούνται διάφορα αέρια και μείγματα αερίων με διαφορετικές ιδιότητες. Έτσι, οι αλλαγές λόγω χημικής/βιοχημικής και μικροβιακής αλλοίωσης σε συνδυασμό με την ψύξη μπορούν να επιβραδυνθούν σημαντικά. (Wittgas.com). Τα αέρια που εφαρμόζονται συνήθως στο φρέσκο κρέας και τα προϊόντα κρέατος ως αέρια συσκευασίας είναι το οξυγόνο (E 948), το διοξείδιο του άνθρακα (E 290), το άζωτο (E 941) και το μονοξείδιο του άνθρακα.

Οξυγόνο (O₂)

Το οξυγόνο γενικά προκαλεί την αλλοίωση των τροφίμων λόγω οξείδωσης και δημιουργεί τις ιδανικές προϋποθέσεις για την ανάπτυξη αερόβιων μικροοργανισμών. Ως αποτέλεσμα, σε πολλές περιπτώσεις το οξυγόνο δεν επιλέγεται για τις συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα στο κόκκινο κρέας, η επεξεργασία πραγματοποιείται εσκεμμένα με υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου, καθώς συντελεί στην διατήρηση του κόκκινου χρώματος. Μία από τις κύριες λειτουργίες του οξυγόνου στη συσκευασία MAP του κρέατος είναι η διατήρηση της μυοσφαιρίνης στην οξυγονωμένη μορφή της, την οξυμυοσφαιρίνη. Είναι υπεύθυνη για το λαμπερό κόκκινο χρώμα, το οποίο οι περισσότεροι καταναλωτές συνδέουν με το φρέσκο κόκκινο κρέας. Το οξυγόνο είναι ίσως ο κυριότερος παράγοντας που καθορίζει τη διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος καθώς αν και αναστέλλει την ανάπτυξη αναερόβιων οργανισμών, χρησιμοποιείται από τους αερόβιους οργανισμούς αναπτύσσοντας την αερόβια μικροχλωρίδα αλλοίωσης (Narasimha και Sachindra, 2002). Επιπλέον, μπορεί να επιταχύνει τις διαδικασίες οξείδωσης μειώνοντας τη διάρκεια ζωής του κρέατος, υπονομεύοντας τη συνολική ποιότητα και θρεπτική αξία του.

Η αύξηση της περιεκτικότητας του οξυγόνου στη συσκευασία σε επίπεδα υψηλότερα από 55% μπορεί να μην παρέχει επιπλέον οφέλη για την αποτροπή της αλλοίωσης του χρώματος, αλλά μπορεί να προάγει δυσοσμία και δυσάρεστες γεύσεις. Η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με υψηλό οξυγόνο (HiOx-MAP) χρησιμοποιείται συνήθως για να διατηρήσει μια ελκυστική εμφάνιση για το νωπό βοδινό κρέας που διατηρείται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Ωστόσο, το περιβάλλον με υψηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο προάγει την ανάπτυξη αερόβιων βακτηρίων, αυξάνει την

οξειδωση των λιπιδίων και οδηγεί στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων γεύσεων, επηρεάζοντας αρνητικά τη διάρκεια ζωής του κρέατος. Συνεπώς, η μείωση του O_2 και η μέτρια αύξηση των επιπέδων CO_2 από τα συμβατικά HiOx-MAP (80% O_2 /20% CO_2) αναδύεται ως μια αποτελεσματική προσέγγιση για τη βελτίωση της ποιότητας του βοδινού κρέατος και την αναστολή της ανάπτυξης βακτηρίων αλλοίωσης (Gill & Tan, 1980; Zakrys, et. al, 2009). Επίσης, η αποθήκευση σε ατμόσφαιρα υψηλού οξυγόνου προκαλεί μειωμένη τρυφερότητα του κρέατος και μειωμένο περιεχόμενο ελεύθερης πρωτεΐνης σε σύγκριση με τη συσκευασία χωρίς οξυγόνο, δείχνοντας ότι οι πρωτεΐνες του κρέατος στην πραγματικότητα οξειδώνονται όταν αποθηκεύονται σε ατμόσφαιρες υψηλού οξυγόνου (Lund et al., 2009).

Εάν χρησιμοποιούνται ατμόσφαιρες εξαιρετικά χαμηλού οξυγόνου, το οξυγόνο πρέπει να είναι λιγότερο από 1% για το χοιρινό και λιγότερο από 0,05% για το βόειο κρέας (Mancini και Hunt, 2005; Brandon et al., 2009). Τα επίπεδα 1–2% O_2 είναι υπερβολικά υψηλά. Οι ατμόσφαιρες εξαιρετικά χαμηλού οξυγόνου ελαχιστοποιούν την οξειδωση των λιπιδίων και την ανάπτυξη αερόβιων μικροοργανισμών. Οι υψηλές μερικές πιέσεις του οξυγόνου, στο σύστημα υψηλού οξυγόνου, δημιουργούν ένα βαθύ στρώμα οξυμυοσφαιρίνης στην επιφάνεια του κρέατος, με αποτέλεσμα μια πολύ φωτεινή, πιο κερασί-κόκκινη εμφάνιση και σταθερό χρώμα ακόμα και με εκτεταμένες περιόδους έκθεσης (Seyfert et al, 2004). Αντίθετα, σε σύστημα χαμηλού οξυγόνου, υπό χαμηλή μερική πίεση οξυγόνου MAP, προωθείται η οξειδωση προς καφετί μεταμυοσφαιρίνη, αλλά το κρέας αποκτά μεγαλύτερη διάρκεια αποθήκευσης ενός περιβάλλοντος χωρίς οξυγόνο.

Οι αλλαγές στην ποιότητα ενός προϊόντος κατά την αποθήκευση, η ακεραιότητα των συσκευασιών και η αποδοτικότητα της λειτουργίας των γραμμών συσκευασίας μπορεί να καθοριστούν με την ταυτοποίηση των υπολειπόμενων επιπέδων οξυγόνου σε κάθε πακέτο (Fitzgerald et al., 2001).

Διοξείδιο του άνθρακα (CO_2)

Το διοξείδιο του άνθρακα είναι άχρωμο, άοσμο και άγευστο. Οι τροποποιημένες ατμόσφαιρες μπορούν να επεκτείνουν σημαντικά τη διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος με το CO_2 ως το πιο σημαντικό προστατευτικό αέριο. Παρεμποδίζει την οξειδωση και την ανάπτυξη των περισσότερων αερόβιων βακτηρίων και μυκήτων, γι' αυτό χρησιμοποιείται συχνά για την αύξηση της διάρκειας ζωής των τροφίμων. Σε

συγκεντρώσεις άνω του 20%, το CO₂ μπορεί να μειώσει σημαντικά την μικροβιακή ανάπτυξη. Όσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση του CO₂ τόσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια ζωής των συσκευασμένων τροφίμων. Χρησιμοποιείται στη συσκευασία κρέατος σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα λόγω της ικανότητάς του να αυξάνει τη διάρκεια ζωής του κρέατος που αποθηκεύεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, μειώνοντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών ανάλογα με την συγκέντρωσή του. Αποτελεί το μόνο αέριο με άμεση αντιμικροβιακή δράση (Coma, 2008). Όταν χρησιμοποιείται σε υψηλή συγκέντρωση μέχρι 100% προσφέρει μέγιστη αναστολή της αερόβιας χλωρίδας αλλοίωσης (Thomas et al, 1984, Viana et al., 2005).

Τα προϊόντα λουκάνικων και κρέατος, π.χ., μαριναρισμένο ή καπνιστό κρέας, αντιδρούν διαφορετικά ανάλογα με την προετοιμασία. Ενώ η διάρκεια ζωής είναι μεγαλύτερη σε σχέση με το ωμό κρέας, μπορεί επίσης να επηρεαστεί θετικά με τα προστατευτικά αέρια. Ωστόσο, η συγκέντρωση του CO₂ δεν πρέπει να υπερβαίνει τα συνιστώμενα όρια για αυτά τα προϊόντα, καθώς μπορεί να εμφανιστεί ξινή γεύση αν η συγκέντρωση του CO₂ είναι πολύ υψηλή.

Επιπλέον, το αέριο μπορεί να διαχέεται από τη συσκευασία ή να απορροφάται από το προϊόν, προκαλώντας την κατάρρευση της συσκευασίας, έτσι επιπλέον χρησιμοποιούνται πληρωτικά αέρια τα οποία επιβραδύνουν αυτό το φαινόμενο (Wittgas.com). πιο συγκεκριμένα, το διοξείδιο του άνθρακα διαλύεται στους μυς και τον λιπώδη ιστό (Jakobsen και Bertelsen, 2004). Η απορρόφηση του CO₂ εξαρτάται από την υγρασία και την περιεκτικότητα σε λιπαρά του προϊόντος. Αν το προϊόν απορροφήσει διοξείδιο του άνθρακα, ο εσωτερικός όγκος της συσκευασίας θα μειωθεί, δίνοντας μια όψη συσκευασίας κενού γνωστή ως «κατάρρευση συσκευασίας». Επίσης, το διαλυμένο CO₂ μπορεί να μειώσει την ικανότητα του κρέατος να συγκρατεί το νερό, προκαλώντας κατά συνέπεια υγρά στον πάτο της συσκευασίας (Phillips, 1996; Lund et al., 2007). Η ικανότητα απορρόφησης σχετίζεται με βιολογικούς παράγοντες, δηλαδή το pH, την περιεκτικότητα σε νερό και λιπαρά, αλλά επίσης σε μεγάλο βαθμό με τις συνθήκες συσκευασίας και αποθήκευσης, συγκεκριμένα τη μερική πίεση του CO₂, τον λόγο όγκου αέρα προς όγκο κρέατος και τη θερμοκρασία αποθήκευσης.

Η αποτελεσματικότητα του CO₂ εξαρτάται από τη φάση ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Αν γίνει εφαρμογή του CO₂ πριν ξεκινήσει η ανάπτυξη των οργανισμών αλλοίωσης, παρατηρείται μια παρατεταμένη λανθάνουσα φάση, με

αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας ζωής του προϊόντος (Gill et al, 1980). Επιπλέον, αυξάνει τον χρόνο αύξησης των μικροοργανισμών αλλοίωσης. Όλα τα κύτταρα χρειάζονται CO₂ για την ανάπτυξή τους, αλλά αν η μερική πίεσή του αυξηθεί πάνω από ένα συγκεκριμένο επίπεδο, η μεταβολική δραστηριότητα θα επιβραδυνθεί. Το CO₂ συμβάλλει στην αναστολή της ανάπτυξης αντιδρώντας με το νερό και σχηματίζοντας H₂CO₃, το οποίο αποπρωτονιώνεται. Το CO₂ και το HCO₃⁻ αλληλεπιδρούν με την κατάσταση της κυτταρικής μεμβράνης και τη λειτουργία των μεμβρανικών πρωτεϊνών. Η έκθεση στο CO₂ προκαλεί οξίνιση του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος λόγω της ικανότητας του αερίου να διεισδύει στη βακτηριακή μεμβράνη (Molin, G. 2000). Η διαλυτότητα του CO₂ αυξάνεται με την μείωση της θερμοκρασίας αποθήκευσης. Επομένως, η θερμοκρασία αποθήκευσης θα πρέπει να διατηρείται όσο το δυνατόν χαμηλότερη (Erkmen abd Bozoglu, 2016). Η αποτελεσματικότητά του στην ενδοκυτταρική οξίνιση φαίνεται να είναι καλύτερη συγκριτικά με αυτήν που προκύπτει από παρόμοια εξωτερική οξίνιση, η οποία μπορεί να εξουδετερωθεί αποτελεσματικά από τον οργανισμό (Narasimha και Sachindra, 2002). Η αναστολή φαίνεται να είναι το συνολικό αποτέλεσμα πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων με αρκετές βασικές φυσιολογικές αντιδράσεις. Οι κλασικοί αντιβακτηριακοί μηχανισμοί του CO₂ περιλαμβάνουν: διείσδυση στις βακτηριακές μεμβράνες προκαλώντας αλλαγές στο ενδοκυτταρικό pH, αναστολή των ενζύμων ή επιβράδυνση των ενζυμικών αντιδράσεων, άμεση επίδραση του μοριακού CO₂ και του HCO₃⁻ στο μεταβολισμό, αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες των πρωτεϊνών (Daniels, et al., 1985; Farber, 1991).

Η ευαισθησία των μικροβίων στο CO₂ ποικίλει σημαντικά μεταξύ διαφορετικών μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, οι αερόβιοι μικροοργανισμοί, όπως οι *Pseudomonas*, που συχνά βρίσκονται στο κρέας, είναι ευαίσθητοι στο CO₂, ενώ πολλά βακτήρια γαλακτικού οξέος είναι σχετικά ανθεκτικά. Τα αναερόβια είδη δεν έχουν απαραίτητα υψηλότερη ανθεκτικότητα στο CO₂ από τα προαιρετικά αναερόβια. Επιπλέον, η επιλεκτική αναστολή του CO₂ εμφανίζεται επίσης σε επίπεδο βακτηριακών ειδών. Για παράδειγμα, τα *Lactobacillus sakei* και *Lactobacillus oligofermentans* κυριάρχησαν στη συσκευασία με υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ (100% CO₂), ενώ οι ατμόσφαιρες με χαμηλότερο CO₂ (20% CO₂/80% N₂) προώθησαν την ανάπτυξη του *Lactococcus piscium* (Nieminen et al., 2015).

Αν και η συγκεκριμένη δράση του CO₂ κατά των μικροοργανισμών δεν είναι ακόμα καλά κατανοητή, οι συνολικές βακτηριοστατικές επιδράσεις θεωρούνται ως επέκταση της φάσης καθυστέρησης ανάπτυξης και μείωση του ρυθμού ανάπτυξης κατά τη διάρκεια της λογαριθμικής φάσης (Farber, 1991). Η επίδραση του CO₂ στην ανάπτυξη των βακτηρίων είναι περίπλοκη, και η επιρροή του στην βακτηριακή κοινότητα σε μπριζόλες βοδινού κατά τη διάρκεια της ψυχόμενης αποθήκευσης δεν έχει μελετηθεί εκτενώς.

Άζωτο (N₂)

Το άζωτο είναι αδρανές αέριο και, λόγω της διαδικασίας παραγωγής του, είναι συνήθως σχετικά υψηλής καθαρότητας. Είναι ένα αδρανές αέριο με χαμηλή διαλυτότητα τόσο στο νερό όσο και στο λίπος. Η χρήση του στη συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας είναι κυρίως για την εκτόπιση του αέρα, ειδικά του ατμοσφαιρικού οξυγόνου, στις συσκευασίες τροφίμων, αποτρέποντας την οξείδωση των τροφίμων και αναστέλλοντας την ανάπτυξη αερόβιων μικροοργανισμών επηρεάζοντας έμμεσα τη διάρκεια ζωής των ευπαθών τροφίμων. Επίσης, χρησιμοποιείται ως αέριο πλήρωσης καθώς διαχέεται πολύ αργά μέσω των πλαστικών μεμβρανών και, επομένως, παραμένει περισσότερο στη συσκευασία αποτρέποντας το φαινόμενο «κατάρρευσης της συσκευασίας». Το φαινόμενο αυτό προκαλείται λόγω της απορρόφησης του CO₂ στον ιστό του κρέατος και μπορεί να προληφθεί χρησιμοποιώντας άζωτο σε συνδυασμό με CO₂ ως αδρανές πληρωτικό. Το άζωτο δεν έχει αντιβακτηριακές ιδιότητες και δεν επηρεάζει το χρώμα του κρέατος. Η τροποποίηση της ατμόσφαιρας μέσα στη συσκευασία, μειώνοντας την περιεκτικότητα σε οξυγόνο και αυξάνοντας το επίπεδο του CO₂ και/ή του N₂, έχει αποδειχθεί ότι επεκτείνει σημαντικά τη διάρκεια ζωής των ευπαθών τροφίμων σε ψυγμένη θερμοκρασία (Wittgas.com, Slavica and Radoslav, 2010).

Μονοξείδιο του άνθρακα (CO)

Το μονοξείδιο του άνθρακα είναι άχρωμο, άοσμο και άγευστο. Όπως και το οξυγόνο, διατηρεί το κόκκινο χρώμα του κρέατος λόγω του σχηματισμού καρβοξυμυοσφαιρίνης. Μέσω του σχηματισμού καρβοξυμυοσφαιρίνης παράγεται ένα λαμπερό κόκκινο

χρώμα στους μύες του κρέατος το οποίο είναι ελκυστικό στον καταναλωτή (Madsen and Clausen, 2006). Οι απαιτούμενες συγκεντρώσεις είναι πολύ χαμηλές, στο εύρος ppm (μέρη ανά εκατομμύριο) (Wittgas.com).

Η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με χαμηλά επίπεδα μονοξειδίου του άνθρακα (CO) και υψηλά επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει το χρώμα και άλλα ποιοτικά χαρακτηριστικά του βοείου και χοιρινού κρέατος (Burrows and Brougher, 2007). Η σταθερότητα της καρβοξυμυοσφαιρίνης, όταν εκτίθεται σε περιβάλλον εμπλουτισμένο με οξυγόνο, μπορεί να εξαρτάται από τη μοριακή συγγένεια και τις σχετικές μερικές πιέσεις του οξυγόνου και του μονοξειδίου του άνθρακα. Αυτό υποδηλώνει ότι η μυοσφαιρίνη μπορεί να προτιμά τη σύνδεση με το οξυγόνο παρά με το μονοξείδιο του άνθρακα. Η επέκταση της διάρκειας ζωής του φρέσκου κρέατος μπορεί να επιτευχθεί με τη συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα που περιέχει 1% CO, παρέχοντας ένα σημαντικό πλεονέκτημα για την παράταση της ζωής εμφάνισης του κρέατος (Viana et al., 2005). Η συσκευασία MAP με CO δεν προσφέρει επιπρόσθετα αντιμικροβιακά οφέλη σε σύγκριση με τη συσκευασία κενού, αλλά διατηρεί καλύτερα το χρώμα του κρέατος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η προσθήκη μικρών ποσοτήτων μονοξειδίου του άνθρακα μπορεί να αντισταθμίσει τις ανεπιθύμητες αλλαγές χρώματος που σχετίζονται με υψηλά επίπεδα CO₂. Η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με 0,4% CO συνιστάται για παρατεταμένη αποθήκευση φρέσκου χοιρινού κρέατος, διατηρώντας ένα φωτεινό, ροζ-κόκκινο φρέσκο χρώμα (Martínez et al., 2005; Wilkinson et al., 2006). Για την αντιμετώπιση των μειονεκτημάτων της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας με πολύ χαμηλό οξυγόνο, προστίθεται μονοξείδιο του άνθρακα (έως 0.4% GRAS) (Erkmen abd Bozoglu, 2016).

Η MAP με CO₂-O₂ επεκτείνει αποτελεσματικά τη διάρκεια ζωής του φρέσκου κρέατος και βελτιώνει το χρώμα του κρέατος, διευκολύνοντας την αποστολή φρέσκων προϊόντων σε μακρινούς προορισμούς.

Αντίθετα, η χρήση του CO στη συσκευασία κρέατος μένει να εγκριθεί από τις ρυθμιστικές αρχές της Ευρωπαϊκής Ένωσης καθώς λόγω ανησυχιών για την ασφάλεια του δεν έχει επιτραπεί ακόμη. Η χρήση του στην επεξεργασία τροφίμων και ο ρόλος του στη συσκευασία κρέατος επανεξετάζεται αυτήν την περίοδο (Van Rooyen et al., 2017). Και μέχρι τώρα δεν περιλαμβάνεται στην νομοθεσία για τα τρόφιμα στην

Ευρωπαϊκή Ένωση (Οδηγία 89/107/ΕΟΚ; Κανονισμός (ΕΚ) Αρ. 1333/2008). Από την άλλη, το αναερόβιο σύστημα CO-MAP, το οποίο περιλαμβάνει 0,4% CO, θεωρείται ασφαλές και έχει εγκριθεί για χρήση σε χώρες όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες, ο Καναδάς, η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία (Djenane & Roncalés, 2018).

Αργό (Ar)

Το αργό σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη θέση του αζώτου καθώς έχει τις ίδιες ιδιότητες. Πρόκειται για ένα αδρανές, άοσμο και άγευστο αέριο. Αν και αδρανές, έχει βιοχημικές δράσεις. Μπορεί να αλλάξει την δομή των πρωτεϊνών κάνοντας παρεμβολές στις θέσεις υποδοχών οξυγόνου των ενζύμων. Έρευνα που έχει γίνει σε στήθος κοτόπουλο αποθηκευμένο σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με αργό στη θέση του αζώτου αποδείχθηκε ότι είναι αποτελεσματικό (Herbert et al, 2013). Παρ' όλα αυτά, το αργό δεν χρησιμοποιείται συνήθως στα προϊόντα τροφίμων καθώς επιφέρει μεγαλύτερο κόστος, αλλά βρίσκει άλλες εφαρμογές (Masterpack group, 2023).

4.3 Αναλογία αερίου προς προϊόν (Gas to product ratio)

Ένα στοιχείο της Συσκευασίας Τροποποιημένης Ατμόσφαιρας (MAP) που συχνά παραβλέπεται είναι η αναλογία αερίου προς προϊόν. Συχνά συγχέεται με τη σύνθεση του αερίου, ωστόσο η αναλογία αναφέρεται στον όγκο του αερίου που προστίθεται στη συσκευασία προς τον όγκο του τροφίμου.

Η αναλογία αερίου προς προϊόν είναι κρίσιμη στη Συσκευασία Τροποποιημένης Ατμόσφαιρας (MAP) για διάφορους λόγους. Είναι σημαντική για τη διατήρηση της ποιότητας του προϊόντος. Αέρια όπως το διοξείδιο του άνθρακα, το άζωτο και το οξυγόνο χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία ελεγχόμενης ατμόσφαιρας στη συσκευασία, γεγονός που βοηθά στην επιβράδυνση της αλλοίωσης και στην παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Εάν η ποσότητα αερίου σε σχέση με το προϊόν δεν είναι η κατάλληλη, η ανάπτυξη βακτηρίων ή η οξείδωση δεν θα μειωθούν αποτελεσματικά, οδηγώντας σε μείωση της φρεσκάδας. Ακόμη, η αναλογία συμβάλλει στην εξασφάλιση της σωστής απορρόφησης του αερίου από το τρόφιμο. Για αέρια όπως το διοξείδιο του άνθρακα, που απορροφώνται από το προϊόν, είναι σημαντικό να

υπάρχει ο σωστός όγκος αερίου. Εάν η αναλογία είναι πολύ χαμηλή, το αέριο δεν θα αλληλεπιδράσει επαρκώς με το τρόφιμο, καθιστώντας το λιγότερο αποτελεσματικό στην αναστολή μικροβιακής ανάπτυξης. Ένας ακόμη λόγος που καθιστά την αναλογία σημαντική είναι ότι μέσω αυτής μπορεί να αποφευχθεί η κατάρρευση της συσκευασίας. Με την πάροδο του χρόνου, το CO₂ μπορεί να απορροφηθεί από το προϊόν, και αν ο όγκος του αερίου είναι πολύ μικρός, η συσκευασία μπορεί να καταρρεύσει, επηρεάζοντας την εμφάνιση και δημιουργώντας αρνητική εντύπωση στους καταναλωτές. Τέλος, συμβάλλει στην βελτιστοποίηση χρήσης των υλικών. Παρόλο που συνιστάται συνήθως μια αναλογία αερίου προς προϊόν 2:1, υπερβολικά πολύ αέριο μπορεί να δημιουργήσει μεγάλο κενό χώρο στη συσκευασία, προκαλώντας ανησυχίες σχετικά με την υπερβολική χρήση υλικών και τις επιπτώσεις στο περιβάλλον, καθώς και αυξημένο κόστος παραγωγής. Συνοψίζοντας, η σωστή αναλογία αερίου προς προϊόν στη MAP εξασφαλίζει την ασφάλεια του προϊόντος, διατηρεί την εμφάνιση και προάγει την αποτελεσματική συσκευασία (Airproducts).

5. Προρρητική μικροβιολογία (Predictive microbiology)

Η μικροβιολογική διάρκεια ζωής αναφέρεται στην περίοδο κατά την οποία ένα τρόφιμο παραμένει μικροβιολογικά ασφαλές για κατανάλωση. Η προρρητική μικροβιολογία είναι ένα επιστημονικό πεδίο που χρησιμοποιεί μαθηματικά μοντέλα και υπολογιστικά εργαλεία για να προβλέψει την ανάπτυξη, την επιβίωση και τη συμπεριφορά των μικροοργανισμών στα τρόφιμα ή σε άλλα περιβάλλοντα. Αυτά τα μοντέλα λαμβάνουν υπόψη παράγοντες όπως η θερμοκρασία, το pH, η ενεργότητα νερού και το αρχικό μικροβιακό φορτίο για να εκτιμήσουν τον ρυθμό και την έκταση της μικροβιακής ανάπτυξης. Αυτή η προσέγγιση βοηθά τους ερευνητές και τους παραγωγούς τροφίμων να αξιολογήσουν τους κινδύνους μικροβιακής μόλυνσης και αλλοίωσης, καθοδηγώντας τις αποφάσεις σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων, την ποιότητα και τη διάρκεια ζωής τους. Η προρρητική μικροβιολογία παίζει καθοριστικό ρόλο στην προώθηση της κατανόησής μας για τη συμπεριφορά των μικροοργανισμών, την ασφάλεια των τροφίμων και τον έλεγχο της ποιότητας. Χρησιμοποιώντας μαθηματικά μοντέλα και υπολογιστικά εργαλεία, αυτό το πεδίο επιτρέπει στη βιομηχανία τροφίμων να λαμβάνει τεκμηριωμένες αποφάσεις, βασισμένες σε δεδομένα, που δίνουν

προτεραιότητα στην ασφάλεια και την ικανοποίηση των καταναλωτών. Η εφαρμογή της έχει βελτιώσει σημαντικά την ικανότητα της βιομηχανίας να προβλέπει και να διαχειρίζεται τη μικροβιακή διάρκεια ζωής, οδηγώντας σε εξελίξεις στην ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων. Μέσω της χρήσης προρρητικών μοντέλων, οι ερευνητές έχουν αποκτήσει σημαντικές γνώσεις για την ανάπτυξη και τη συμπεριφορά των μικροοργανισμών σε διάφορα τρόφιμα. Αυτά τα μοντέλα βοηθούν στην αξιολόγηση των κινδύνων που σχετίζονται με τη μικροβιακή μόλυνση, υποστηρίζοντας τεκμηριωμένες αποφάσεις σχετικά με τη συντήρηση, την αποθήκευση και τη διανομή των τροφίμων. Επιπλέον, έχει συμβάλει στην ανάπτυξη στρατηγικών για την παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων, μειώνοντας έτσι τη σπατάλη τροφίμων και προάγοντας την υγεία και την ικανοποίηση των καταναλωτών (Tarlak F., 2023).

Τα μοντέλα χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των κινδύνων μικροβιακής μόλυνσης στα τρόφιμα. Με τη δημιουργία προσομοιώσεων που λαμβάνουν υπόψη περιβαλλοντικές συνθήκες, εγγενείς και εξωτερικές ιδιότητες των τροφίμων, μεθόδους επεξεργασίας και συνθήκες αποθήκευσης, οι ερευνητές μπορούν να εκτιμήσουν πώς αυτοί οι παράγοντες επηρεάζουν την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιωτικών μικροοργανισμών. Ακόμη, αυτά τα μοντέλα βοηθούν στον εντοπισμό κρίσιμων σημείων ελέγχου κατά τη διαδικασία παραγωγής, όπου μπορεί να ελεγχθεί ή να προληφθεί η μικροβιακή ανάπτυξη, υποστηρίζοντας τη διασφάλιση ποιότητας και μειώνοντας τον κίνδυνο τροφιμογενών ασθενειών (Tarlak F., 2023).

Εκτός από τους ερευνητές και τους παραγωγούς τροφίμων, οι ρυθμιστικοί φορείς χρησιμοποιούν μοντέλα προρρητικής μικροβιολογίας για να καθορίσουν κατευθυντήριες γραμμές και πρότυπα για την ασφάλεια των τροφίμων, παρέχοντας πληροφορίες για ασφαλείς συνθήκες αποθήκευσης και αποδεκτά επίπεδα μικροβιακού φορτίου (Tarlak F., 2023).

Οι παραδοσιακές μέθοδοι μοντελοποίησης περιλαμβάνουν προσεγγίσεις δύο σταδίων και ενός σταδίου, με τη χρήση πρωτογενών και δευτερογενών μοντέλων, ενώ οι τεχνικές μηχανικής μάθησης παρακάμπτουν την ανάγκη χρήσης αυτών των μοντέλων, προσφέροντας εναλλακτικούς τρόπους περιγραφής της μικροβιακής συμπεριφοράς και αλλοίωσης (Tarlak F., 2023).

5.1 Πρωτογενή μοντέλα (primary models)

Τα τροποποιημένα μοντέλα: Gompertz, λογιστικό, Baranyi και Huang, είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες συναρτήσεις σιγμοειδούς μορφής για την περιγραφή της συμπεριφοράς ανάπτυξης βακτηρίων.

Οι εξισώσεις (1) και (2) ορίζουν, αντίστοιχα, τα τροποποιημένα μοντέλα Gompertz και λογιστικό υπό σταθερές περιβαλλοντικές συνθήκες (Zwietering M.H et al., 1990).

$$x(t) = x_0 + (x_{max} - x_0) \exp \left\{ -\exp \left[\frac{r_{max} e}{x_{max} - x_0} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

$$x(t) = x_0 + \frac{x_{max} - x_0}{\left\{ 1 + \exp \left[\frac{4r_{max}}{x_{max} - x_0} (\lambda - t) + 2 \right] \right\}} \quad (2)$$

Όπου:

- t ο χρόνος (h)
- $x(t)$ είναι η συγκέντρωση πληθυσμού βακτηρίων (log CFU/g) τη στιγμή t
- x_0 είναι η αρχική συγκέντρωση πληθυσμού βακτηρίων (log CFU/g)
- x_{max} είναι η μέγιστη συγκέντρωση πληθυσμού βακτηρίων (log CFU/g)
- r_{max} είναι ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης βακτηρίων (log CFU/h)
- λ είναι η διάρκεια της φάσης καθυστέρησης (h).

Άλλες ευρέως χρησιμοποιούμενες πρωτογενείς συναρτήσεις περιλαμβάνουν τα μοντέλα Baranyi και Huang, τα οποία αναπαριστώνται από τις εξισώσεις (3) και (4), αντίστοιχα (Baranyi J., Roberts T.A.. 1994 ; Huang, L., 2017).

$$y(t) = y_0 + \mu_{max} F(t) - \ln \left(1 + \frac{e^{\mu_{max} F(t)} - 1}{e^{(y_{max} - y_0)}} \right) \quad (3)$$

$$y(t) = y_0 + y_{max} - \ln [e^{y_0} + (e^{y_{max}} - e^{y_0}) e^{-\mu_{max} B(t)}] \quad (4)$$

Όπου:

- t είναι ο χρόνος (h)
- $y(t)$ είναι η συγκέντρωση πληθυσμού βακτηρίων (ln CFU/g) τη στιγμή t
- y_0 είναι η αρχική συγκέντρωση πληθυσμού βακτηρίων (ln CFU/g)
- y_{max} είναι η μέγιστη συγκέντρωση πληθυσμού βακτηρίων (ln CFU/g)
- μ_{max} είναι ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης βακτηρίων (1/h)
- λ είναι η διάρκεια της φάσης καθυστέρησης (h)

- $F(t)$ και $B(t)$ είναι οι συναρτήσεις προσαρμογής που περιγράφονται

5.2 Δευτερογενή μοντέλα (secondary models)

Τα δευτερογενή μοντέλα χρησιμοποιούνται για να αναλύσουν τις επιπτώσεις διαφόρων περιβαλλοντικών συνθηκών σε παραμέτρους όπως η ενεργότητα νερού, η οξύτητα και η θερμοκρασία. Συνήθως, τα δευτερογενή μοντέλα εφαρμόζονται μετά την προσαρμογή των δεδομένων ανάπτυξης στα πρωτογενή μοντέλα. Η κατανόηση του πώς η ενεργότητα νερού, η οξύτητα και η θερμοκρασία επηρεάζουν τους ρυθμούς ανάπτυξης είναι ουσιώδης για τη σωστή διαχείριση της συντήρησης των τροφίμων και τη διασφάλιση της ασφάλειας και ποιότητας των προϊόντων. Το μοντέλο Ratkowsky (εξίσωση 7) απεικονίζει τη σχέση μεταξύ θερμοκρασίας και μέγιστου ειδικού ρυθμού ανάπτυξης. Το μοντέλο Arrhenius (εξίσωση 8) χρησιμοποιείται συχνά για να χαρακτηριστεί πώς η θερμοκρασία αποθήκευσης επηρεάζει την μικροβιακή ανάπτυξη στα τρόφιμα και για να περιγραφεί η εξάρτηση της θερμοκρασίας από χημικές αντιδράσεις. Για την εκτίμηση των επιπτώσεων της ενεργότητας νερού, της οξύτητας και της θερμοκρασίας στο μέγιστο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης και τη διάρκεια της φάσης καθυστέρησης, χρησιμοποιούνται συχνά τα μοντέλα που αναπαριστώνται από τις εξισώσεις (5) έως (9) (Tarlak F., 2023).

$$\mu_{max} = b_1(a_w - a_{w_min}) \quad (5)$$

$$\mu_{max} = b_1(pH - pH_{min})(pH - pH_{max}) \quad (6)$$

$$\mu_{max} = b_1(T - T_0)^2 \quad (7)$$

$$\mu_{max} = b_1 \left[e^{\frac{-Ea}{R\theta}} \right] \quad (8)$$

$$\mu_{max} = \frac{1}{\lambda} \quad (9)$$

Όπου:

- μ_{max} είναι ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (1/h) που προκύπτει από το πρωτογενές μοντέλο,
- a_w είναι η ενεργότητα νερού
- a_{w_min} είναι η ελάχιστη ενεργότητα νερού στην οποία η ανάπτυξη σταματά.

- $pH_{\min}$ είναι το ελάχιστο pH
- $pH_{\max}$ είναι το μέγιστο pH στο οποίο η ανάπτυξη σταματά.
- T είναι η θερμοκρασία ($^{\circ}C$),
- T_0 είναι η θεωρητική ελάχιστη θερμοκρασία ($^{\circ}C$) για την μικροβιακή ανάπτυξη,
- λ είναι η διάρκεια της φάσης καθυστέρησης (h) που προέρχεται από το πρωτογενές μοντέλο,
- b_1 είναι ο συντελεστής σύγκρουσης ή συχνότητας,
- E_a είναι η ενέργεια ενεργοποίησης (J/mol),
- R είναι η παγκόσμια σταθερά των αερίων (8,314 J/mol K) και
- θ είναι η απόλυτη θερμοκρασία (K).

6. Υλικά και Μέθοδοι

6.1. Συλλογή δεδομένων

Για την συλλογή δεδομένων, πραγματοποιήθηκε αναζήτηση ερευνητικών άρθρων σχετικά με την μικροβιακή ανάπτυξη συναρτήσει των συνθηκών αποθήκευσης με το πέρασμα του χρόνου. Οι συνθήκες αποθήκευσης αφορούν τη σύσταση των αερίων, την θερμοκρασία μελέτης και την αναλογία αερίου προς το προϊόν (gas to product ratio). Πιο συγκεκριμένα καταγράφηκε ο αριθμός των ολικών ζώντων μικροβίων (total viable count TVC) με την πάροδο του χρόνου. Τα τρόφιμα που μελετήθηκαν ήταν βόειο κρέας «beef steak» και φιλέτο κοτόπουλο «chicken fillet».

Τα δεδομένα παρουσιάζονται στους πίνακες 2 και 3. Στις περιπτώσεις που τα δεδομένα ήταν υπό μορφή γραφήματος πραγματοποιήθηκε ψηφιοποίηση με το λογισμικό πρόγραμμα «GetData Graph Digitizer». Η διαδικασία που πραγματοποιήθηκε ήταν: άνοιγμα του γραφήματος, ορισμός συστήματος συντεταγμένων, χειρονακτική ψηφιοποίηση και εξαγωγή των δεδομένων σε αρχείο excel.

Πίνακας 2: Συνθήκες αποθήκευσης για βόειο κρέας

Σύσταση αερίων	Θερμοκρασία διατήρησης	Gas to product ratio	Πηγή
50% O ₂ / 50% N ₂	2 °C	3:1	Yang J. et al., 2022
40% O ₂ / 15% CO ₂ / 45% N ₂	4 °C		Hou X. et al., 2023
40% O ₂ / 25% CO ₂ / 35%N ₂	4 °C		Hou X. et al., 2023
40% O ₂ / 35% CO ₂ / 25%N ₂	4 °C		Hou X. et al., 2023
40% O ₂ / 45% CO ₂ / 15%N ₂	4 °C		Hou X. et al., 2023
80% O ₂ / 20% CO ₂	4 °C	2:1	Yang X. et al., 2016
80% O ₂ / 20% CO ₂	2 °C	3:1	Yang X. et al., 2020
80% O ₂ / 20% CO ₂	6 °C		Jääskeläinen E. et al, 2016
78,8% O ₂ / 18,8% CO ₂ / 2,4% N ₂	4 °C	3:1	Lai J et al., 2022
60% CO ₂ / 40% N ₂	4 °C	3:1	Lai J et al., 2022

Πίνακας 3: Συνθήκες αποθήκευσης για φιλέτο κοτόπουλο

Σύσταση αερίων	Θερμοκρασία διατήρησης	Gas to product ratio	Πηγή
70% N ₂ / 30% CO ₂	5 °C	7:1	Boysen L. et al., 2007
70% O ₂ / 30% CO ₂	5 °C	7:1	Boysen L. et al., 2007
30% CO ₂ / 65% N ₂ / 5%O ₂	4 °C		Balamatsia C.C. et al., 2007
65% CO ₂ / 30% N ₂ / 5%O ₂	4 °C		Balamatsia C.C. et al., 2007
70% N ₂ / 30% CO ₂	4 °C	3:1	Rossaint S et al., 2014
70% O ₂ / 30% CO ₂	4 °C	3:1	Rossaint S et al., 2014
15%N ₂ / 60% O ₂ / 25% CO ₂	4 °C	3:1	Herbert U. et al., 2013
25%N ₂ / 45% O ₂ / 30% CO ₂	4 °C	3:1	Herbert U. et al., 2013
82%N ₂ / 18% CO ₂	4 °C	3:1	Herbert U. et al., 2013
30% CO ₂ / 70% N ₂	-1 °C		Cha H. et al., 2023
40% CO ₂ / 60% N ₂	-1 °C		Cha H. et al., 2023
15%O ₂ / 30% CO ₂ / 55% N ₂	-1 °C		Cha H. et al., 2023

6.2 Ανάλυση δεδομένων

Για την μελέτη της μικροβιακής ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο ανάπτυξης Baranyi και το πρόγραμμα DMFit3.5 για την προσαρμογή της καμπύλης. Χρησιμοποιώντας το συγκεκριμένο μοντέλο, έγινε υπολογισμός της κινητικής παραμέτρου του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης (k_{exp} σε d⁻¹) για τις συνθήκες αποθήκευσης.

Επίσης, έγινε προσδιορισμός της εξάρτησης των σταθερών ρυθμών μικροβιακής ανάπτυξης k , από τη θερμοκρασία και το ποσοστό του CO₂, με προσαρμογή των δεδομένων στην τροποποιημένη εξίσωση Arrhenius (10) (Koutsoumanis et al., 2000).

$$k = (k_{ref} \frac{CO_{2max} - CO_2}{CO_{2max}}) \exp \left[\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T} \right) \right] \quad (10)$$

Όπου:

- k_{ref} ο ρυθμός μικροβιακής ανάπτυξης στις συνθήκες αναφοράς (T_{ref} , [CO₂]=0)

- T_{ref} είναι η θερμοκρασία αναφοράς (K)
- T είναι η θερμοκρασία συντήρησης (K)
- E_a είναι η ενέργεια ενεργοποίησης (J/mol)
- R είναι η παγκόσμια σταθερά αερίων ίση με 8,314 J/mol.
- CO_2 είναι η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα στη συσκευασία (εκφρασμένη ως ποσοστό)
- $\text{CO}_{2\text{max}}$ είναι η θεωρητική μέγιστη συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα (εκφρασμένη ως ποσοστό) για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

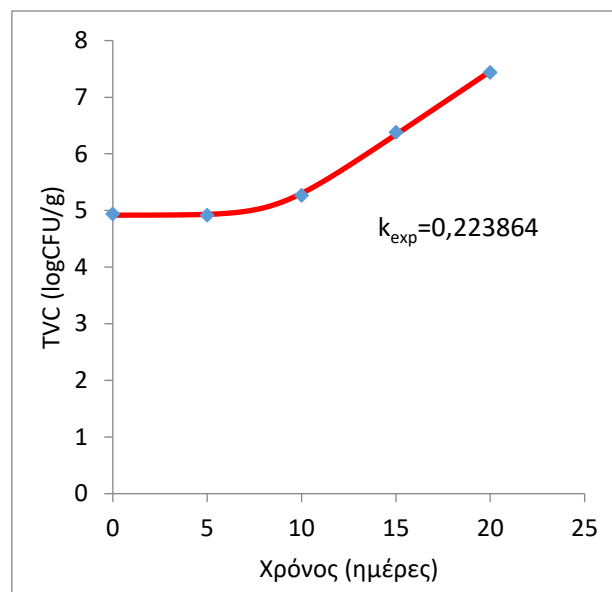
Οι τιμές της ενέργειας ενεργοποίησης (E_a), της k_{ref} και του $\text{CO}_{2\text{max}}$ προσδιορίστηκαν με την μέθοδο Ελαχίστων Τετραγώνων με χρήση του Επιλυτή (Solver).

7. Αποτελέσματα και συζήτηση

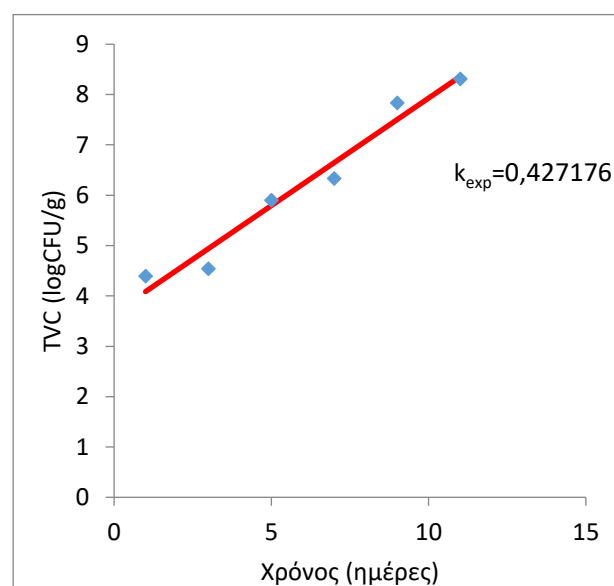
7.1 Υπολογισμός της κινητικής παραμέτρου του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης σύμφωνα με το μοντέλο Baranyi

7.1.1 Βόειο κρέας

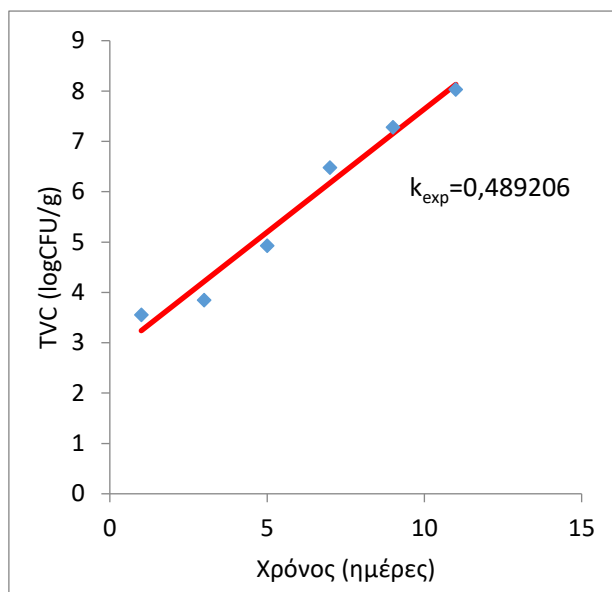
Στα σχήματα 1-10 απεικονίζονται οι καμπύλες Baranyi για τα ερευνητικά δεδομένα που βρέθηκαν για το βόειο κρέας, και οι ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης (k_{exp} σε d^{-1}) που αφορούν το ολικό μικροβιακό φορτίο (total viable count (TVC)).



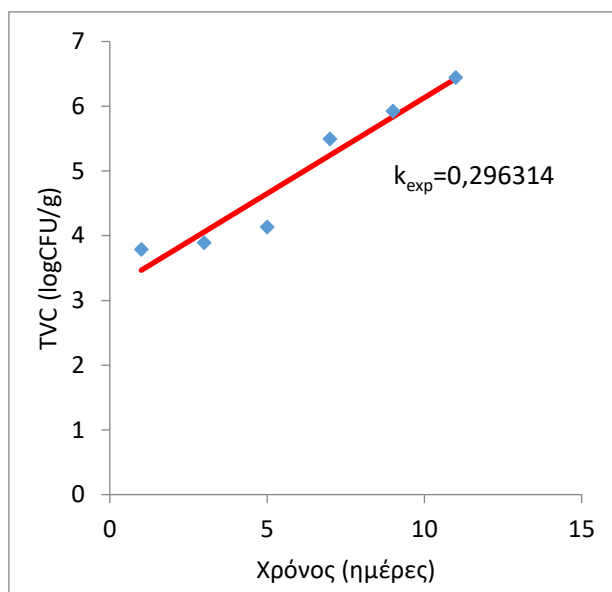
Σχήμα 1: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 50% O_2 / 50% N_2 , θερμοκρασία 2 °C και $\text{gas: product} = 3:1$



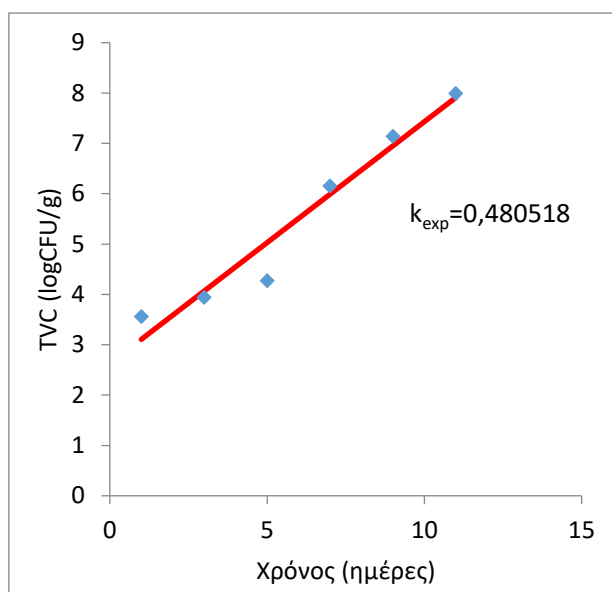
Σχήμα 2: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O_2 / 15% CO_2 / 45% N_2 και θερμοκρασία 4 °C



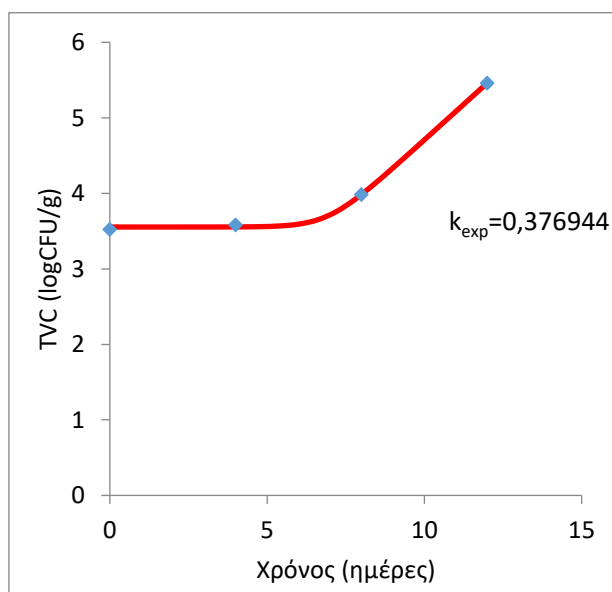
Σχήμα 3: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O₂ / 25% CO₂ / 35% N₂ και θερμοκρασία 4 °C



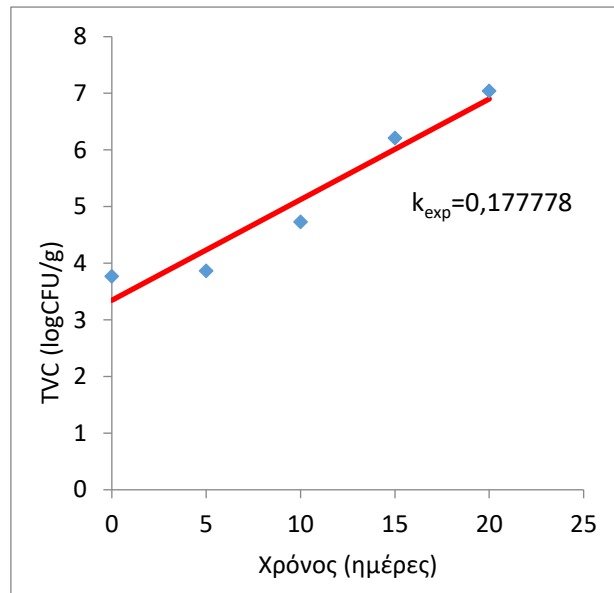
Σχήμα 4: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O₂ / 35% CO₂ / 25% N₂ και θερμοκρασία 4 °C



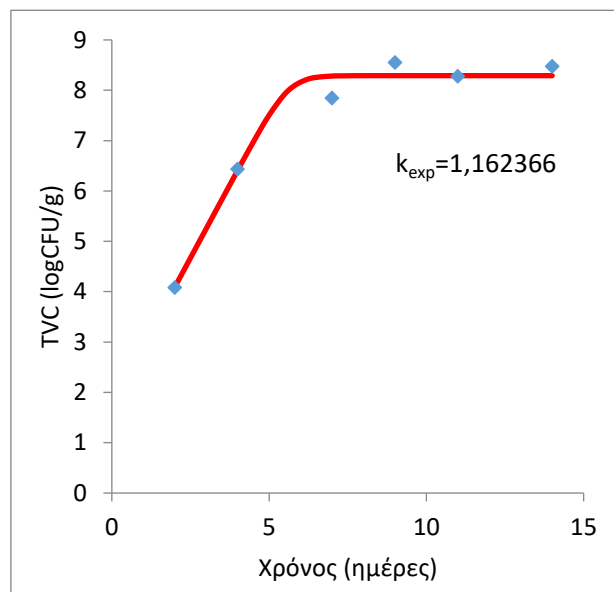
Σχήμα 5: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 40% O_2 / 45% CO_2 / 15% N_2 και θερμοκρασία 4 °C



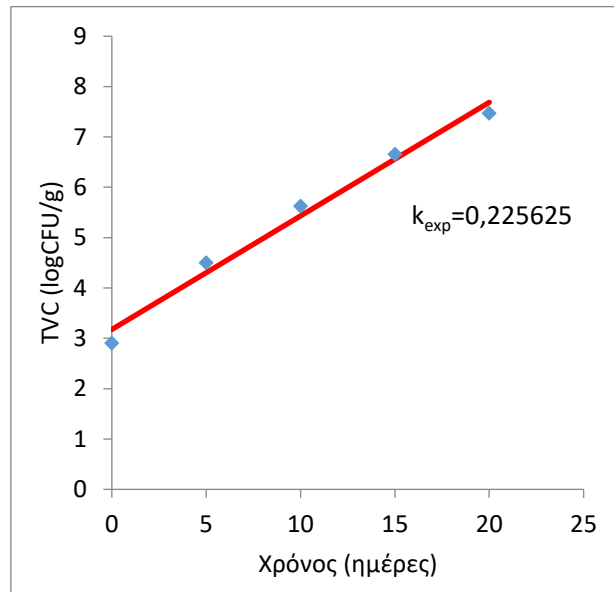
Σχήμα 6: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 80% O_2 / 20% CO_2 , θερμοκρασία 4 °C και gas:product = 2:1



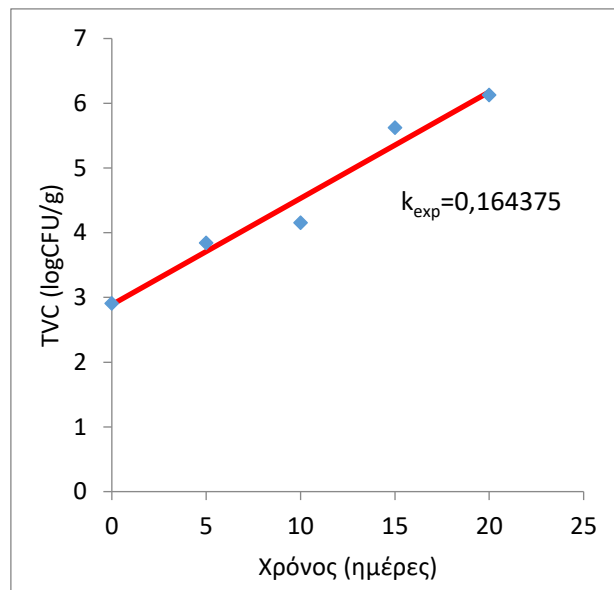
Σχήμα 7: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 80% O₂ / 20% CO₂, θερμοκρασία 2 °C και gas:product = 3:1



Σχήμα 8: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 80% O₂ / 20% CO₂, και θερμοκρασία 6 °C



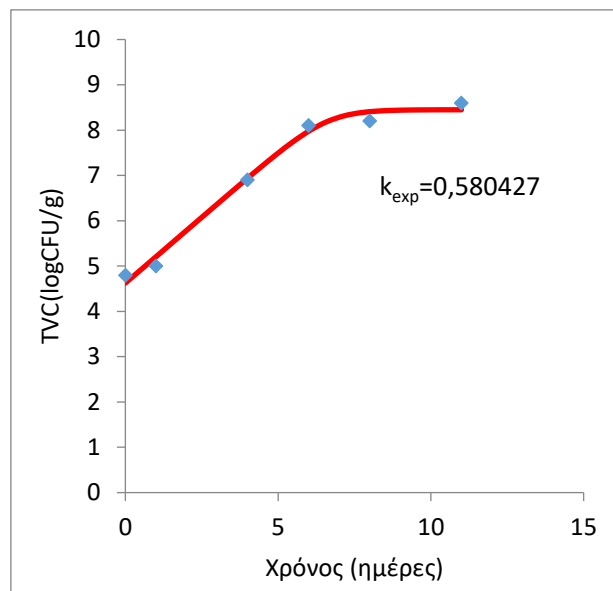
Σχήμα 9: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 78,8% O₂ / 18,8% CO₂ / 2,4% N₂, θερμοκρασία 4°C και gas:product = 3:1



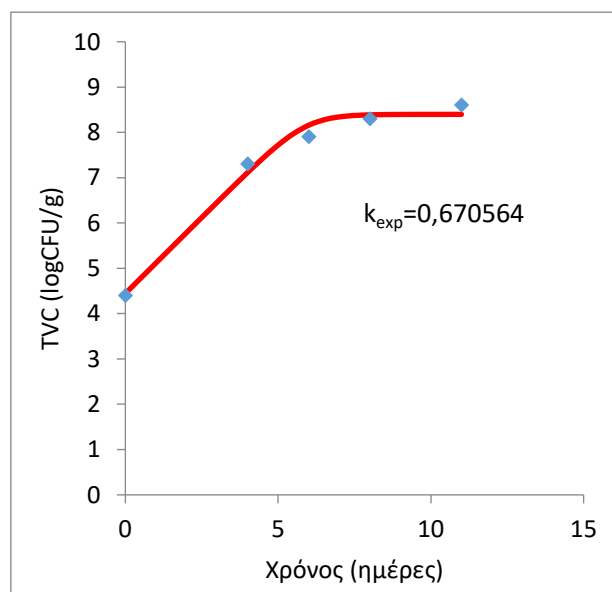
Σχήμα 10: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο μοσχαριού σε συνθήκες 60% CO₂ / 40% N₂, θερμοκρασία 4°C και gas:product = 3:1

7.2.2 Κρέας κοτόπουλο

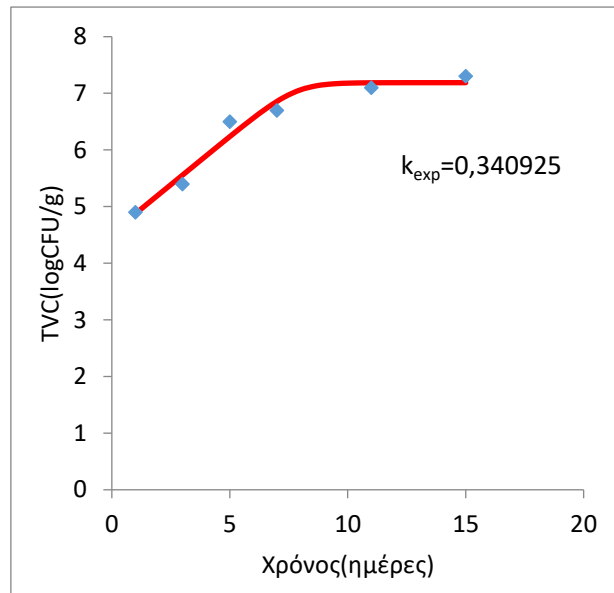
Στα σχήματα 11-22 απεικονίζονται οι καμπύλες Baranyi για τα ερευνητικά δεδομένα που βρέθηκαν για φιλέτο κοτόπουλου, και οι ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης (k_{exp} σε d^{-1}) που αφορούν το ολικό μικροβιακό φορτίο (total viable count (TVC)).



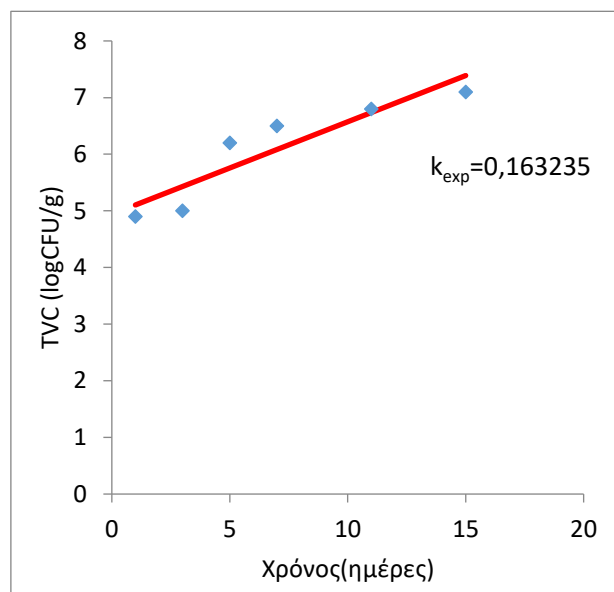
Σχήμα 11: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO_2 / 70% N_2 , θερμοκρασία 5°C και $gas:product = 7:1$



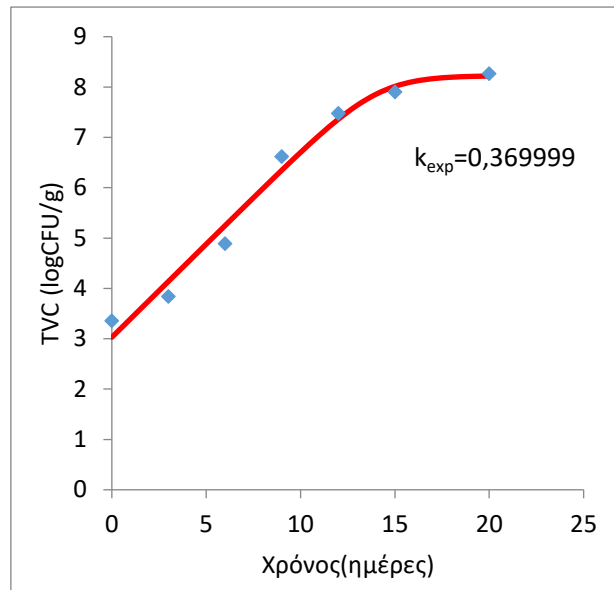
Σχήμα 12: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO_2 / 70% O_2 , θερμοκρασία 5°C και $gas:product = 7:1$



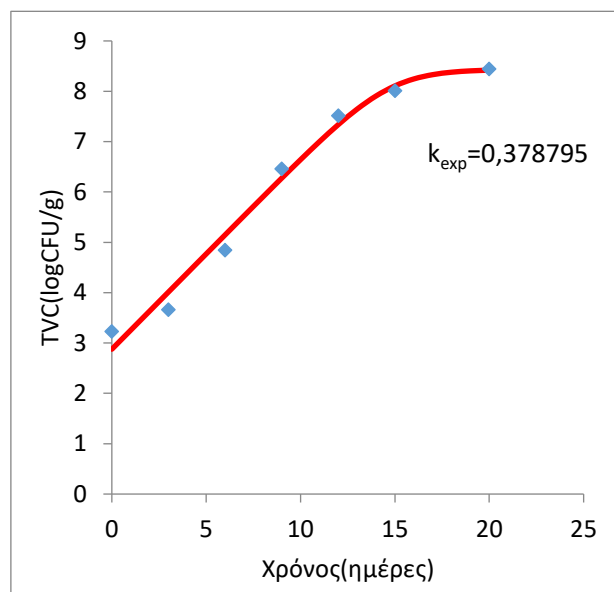
Σχήμα 13: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO₂ / 65% N₂ / 5% O₂, θερμοκρασία 4°C



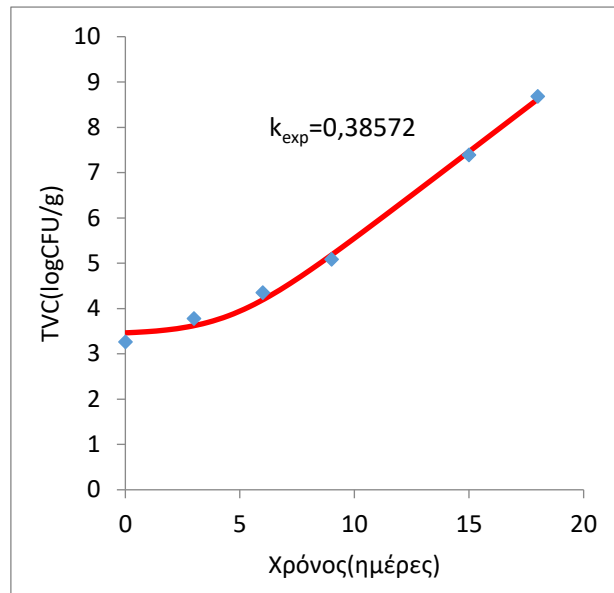
Σχήμα 14: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 65% CO₂ / 30% N₂ / 5% O₂, θερμοκρασία 4°C



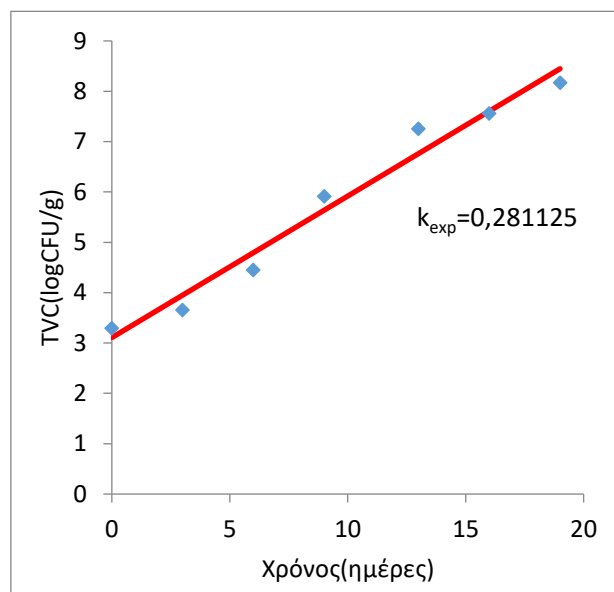
Σχήμα 15: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO₂ / 70% N₂, θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1



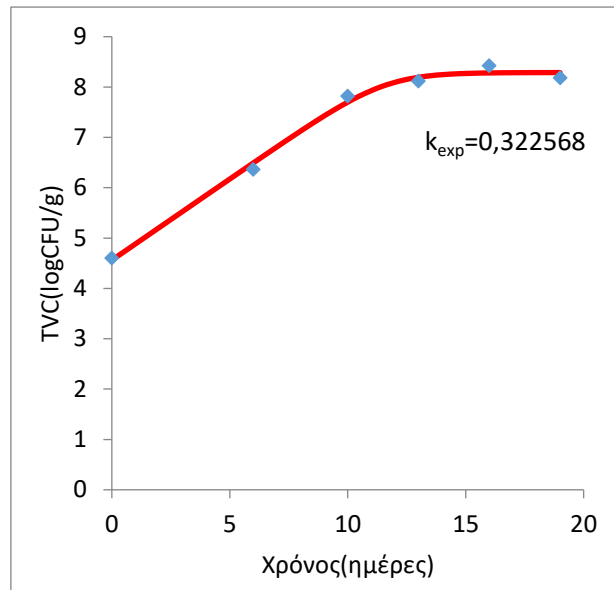
Σχήμα 16: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO₂ / 70% O₂, θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1



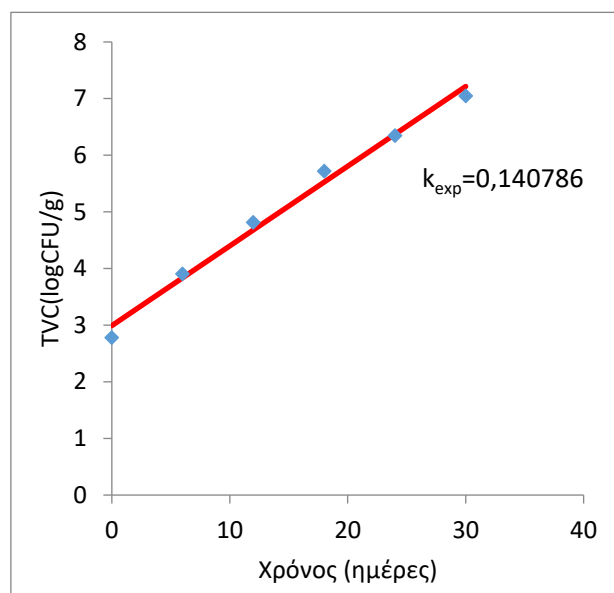
Σχήμα 17: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 25% CO₂ / 60% O₂ / 15% N₂, θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1



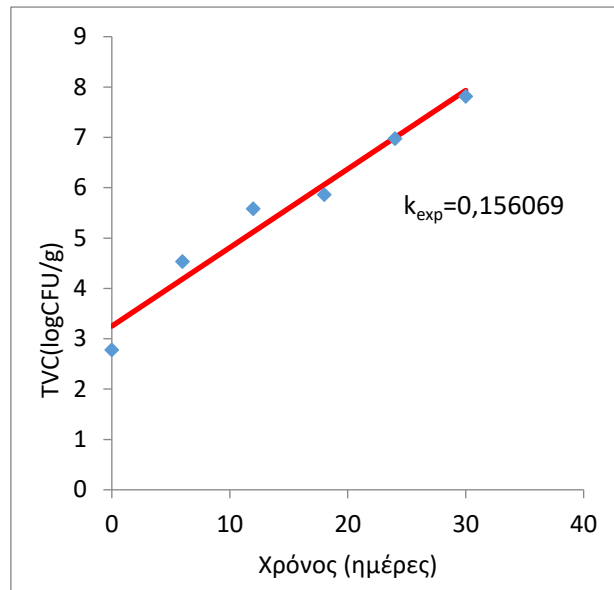
Σχήμα 18: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO₂ / 45% O₂ / 25% N₂, θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1



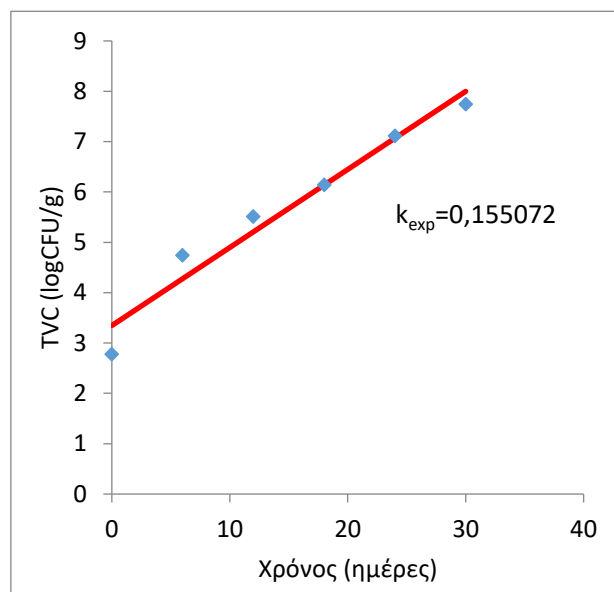
Σχήμα 19: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 18% CO₂ / 82% N₂, θερμοκρασία 4°C και gas:product =3:1



Σχήμα 20: : Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO₂ / 70% N₂, θερμοκρασία -1°C



Σχήμα 21: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 40% CO₂ / 60% N₂, θερμοκρασία -1°C



Σχήμα 22: Καμπύλη Baranyi για το μικροβιακό φορτίο TVC σε φιλέτο κοτόπουλο σε συνθήκες 30% CO₂ / 55% N₂ / 15% O₂, θερμοκρασία -1°C

7.2 Υπολογισμός της κινητικής παραμέτρου του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης με εφαρμογή της τροποποιημένης εξίσωσης Arrhenius

Με βάση τα δεδομένα που συγκεντρώθηκαν για το ολικό μικροβιακό φορτίο σε φιλέτο βόειο και φιλέτο κοτόπουλο οι εκτιμώμενες τιμές των παραμέτρων, όπως προέκυψαν από την τροποποιημένη εξίσωση Arrhenius για τους διάφορες συνδυασμούς θερμοκρασίας - % CO₂, παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. Έγινε χρήση του solver, και της μεθοόδου ελαχίστων τετραγώνων (μη γραμμική παλινδρόμηση). Ως θερμοκρασία αναφοράς T_{ref} ορίστηκαν για το βόειο οι 277,16K και για το κοτόπουλο οι 275,16K.

Πίνακας 4: Οι παράμετροι k_{ref} (d⁻¹), E_a (kJ/mol) και CO_{2 max} (%)

Κρέας	T _{ref} (K)	k _{ref} (d ⁻¹)	E _a (J/mol)	CO _{2 max} (%)
Βόειο	277,16	0,475	337282	131,1
Κοτόπουλο	275,16	0,190	304404	107,8

Με χρήση του επιλυτή (solver), έγινε εφαρμογή της τροποποιημένης εξίσωσης Arrhenius (10), και υπολογίστηκαν οι κινητικοί ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 5 (k_{pred}). Επίσης, έγινε υπολογισμός του τετραγώνου της διαφοράς μεταξύ των πειραματικών (k_{exp}) και προβλεπόμενων από την εξίσωση Arrhenius τιμών (k_{pred}), 'Standard Error' (SE).

Πίνακας 5: Κινητικοί ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης σε φιλέτο μοσχάρι για διάφορες συνθήκες αποθήκευσης, σύμφωνα με το μοντέλο Baranyi (k_{exp}) και σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius (k_{pred}).

T (°C)	T (K)	CO ₂ (%)	k _{exp} (d ⁻¹)	k _{pred} (d ⁻¹)	SE
2	275,16	0	0,22386355	0,16395616	0,0035889
4	277,16	15	0,42717586	0,42071876	4,1694E-05
4	277,16	25	0,48920614	0,38447562	0,01096848
4	277,16	35	0,29631414	0,34823248	0,00269551
4	277,16	45	0,48051829	0,31198934	0,02840201
4	277,16	20	0,37694386	0,40259719	0,00065809
2	275,16	20	0,177778	0,1389404	0,00150836
6	279,16	20	1,16236605	1,14892705	0,00018061

4	277,16	18,8	0,225625	0,40694637	0,03287744
4	277,16	60	0,164375	0,25762463	0,00869549
					SSE=0,089616582

Πίνακας 6: Κινητικοί ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης **σε φιλέτο κοτόπουλο** για διάφορες συνθήκες αποθήκευσης, σύμφωνα με το μοντέλο Baranyi (k_{exp}) και σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius (k_{pred}).

T (°C)	T (K)	CO ₂ (%)	k_{exp} (d ⁻¹)	k_{pred} (d ⁻¹)	SE
5	278,16	30	0,58042663	0,577166	1,0632E-05
5	278,16	30	0,67056418	0,577166	0,00872322
4	277,16	30	0,34092509	0,35896149	0,00032531
4	277,16	65	0,16323529	0,19741492	0,00116825
4	277,16	30	0,3699989	0,35896149	0,00012182
4	277,16	30	0,37879546	0,35896149	0,00039339
4	277,16	25	0,38572004	0,38203957	1,3546E-05
4	277,16	30	0,28112532	0,35896149	0,00605847
4	277,16	18	0,32256819	0,41434889	0,0084237
-1	272,16	30	0,14078624	0,03169921	0,01189998
-1	272,16	40	0,15606857	0,02762324	0,0164982
-1	272,16	30	0,155072	0,03169921	0,01522085
					SSE=0,068857364

7.3 Εκτίμηση του χρόνου ζωής

Με βάση τα μικροβιολογικά δεδομένα της βιβλιογραφίας και τους ρυθμούς της μικροβιακής ανάπτυξης που υπολογίστηκαν με βάση την εξίσωση Arrhenius γίνεται υπολογισμός της διάρκειας ζωής για φιλέτο βόειου και κοτόπουλου, βάσει της εξίσωσης που προτάθηκε από τους Koutsoumanis et al. (2000).

$$t_{SL} = \frac{\log N_1 - \log N_0}{\left(k_{ref} \frac{CO_{2max} - CO_2}{CO_{2max}}\right) \exp \left[\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T} \right) \right]} \quad (11)$$

Όπου:

- t_{SL} ο χρόνος ζωής (ημέρες)

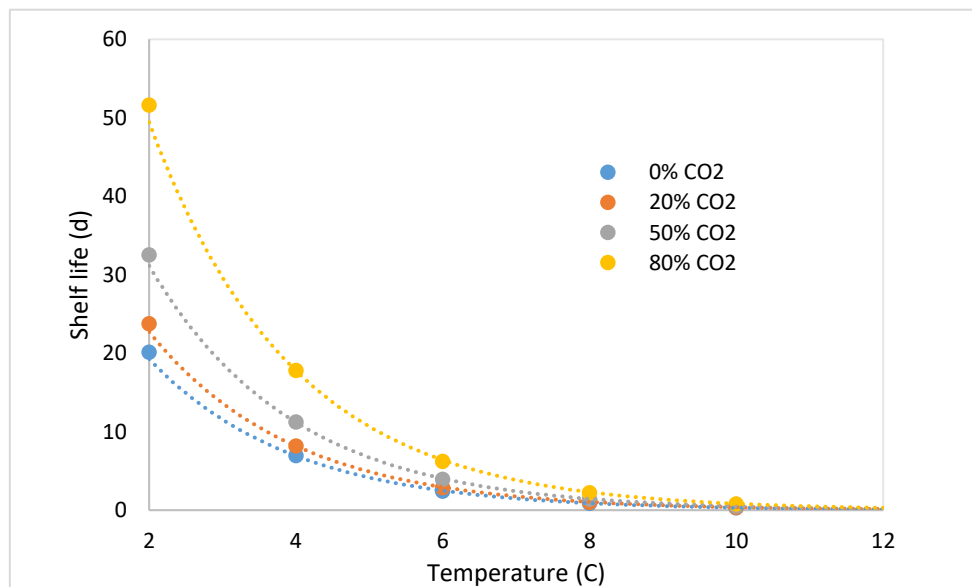
- $\log N_1$ το μικροβιολογικό όριο αποδοχής του φορτίου TVC. Ως όριο αλλοίωσης θεωρείται το 7 logCFU/g υποδεικνύοντας μικροβιολογική αλλοίωση (ICMSF, 1986).
- $\log N_0$ το αρχικό μικροβιακό φορτίο που ισούται με 3,7 logCFU/g για το βόειο κρέας και 3,8 logCFU/g για το κοτόπουλο (μέση τιμή των τιμών των επιμέρους πειραμάτων)
- k_{ref} ο ρυθμός μικροβιακής ανάπτυξης στις συνθήκες αναφοράς (πίνακας 4)
- T_{ref} η θερμοκρασία αναφοράς (K) (πίνακας 4)
- E_a η ενέργεια ενεργοποίησης (J/mol) (πίνακας 4)
- R είναι η παγκόσμια σταθερά αερίων ίση με 8,314 J/mol.
- CO_2 είναι η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα στη συσκευασία (εκφρασμένη ως ποσοστό)
- CO_{2max} είναι η θεωρητική μέγιστη συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα (εκφρασμένη ως ποσοστό) για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (πίνακας 4)

Στον πίνακα 7 και το Σχήμα 23, παρουσιάζεται η εκτιμώμενη διάρκεια ζωής για το φιλέτο βόειο για διάφορες συνθήκες συσκευασίας. Από τα αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό ότι η εφαρμογή της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας με αυξανόμενο ποσοστό CO_2 οδηγεί σε επιμήκυνση του χρόνου ζωής.

Πίνακας 7: Εκτιμώμενη διάρκεια ζωής για φιλέτο **βόειου κρέατος** για διάφορους συνδυασμούς θερμοκρασίας και ποσοστού CO_2

T (°C)	CO_2 (%)	Εκτιμώμενη διάρκεια ζωής t_{SL} (ημέρες)
2	0	20
	20	24
	50	33
	80	52
4	0	7
	20	8
	50	11
	80	18
6	0	2
	20	3

	50	4
	80	6
8	0	1
	20	1
	50	1
	80	2
10	0	0
	20	0
	50	0
	80	1
15	0	0
	20	0
	50	0
	80	0

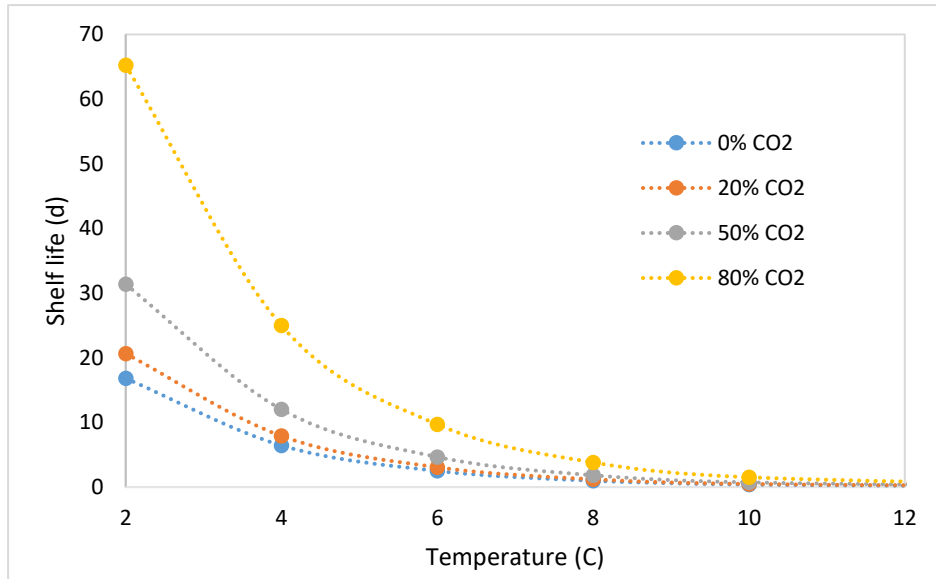


Σχήμα 23: Πρόβλεψη χρόνου ζωής βόειου κρέατος σε σχέση με την θερμοκρασία για αποθήκευση σε διάφορα ποσοστά CO₂

Στον πίνακα 8 και το Σχήμα 24, παρουσιάζεται η εκτιμώμενη διάρκεια ζωής για το φιλέτο κοτόπουλο για διάφορες συνθήκες συσκευασίας. Από τα αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό πως όπως και για το βόειο φιλέτο η εφαρμογή της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας με αυξανόμενο ποσοστό CO₂ οδηγεί σε επιμήκυνση του χρόνου ζωής.

Πίνακας 8: Εκτιμώμενη διάρκεια ζωής για φιλέτο από **κρέας κοτόπουλο** για διάφορους συνδυασμούς θερμοκρασίας και ποσοστού CO₂

T (°C)	CO₂ (%)	Εκτιμώμενη διάρκεια ζωής tSL (ημέρες)
2	0	17
	20	21
	50	31
	80	65
4	0	6
	20	8
	50	12
	80	25
6	0	2
	20	3
	50	5
	80	10
8	0	1
	20	1
	50	2
	80	4
10	0	0
	20	0
	50	1
	80	2
15	0	0
	20	0
	50	0
	80	0



Σχήμα 24: Πρόβλεψη χρόνου ζωής κρέατος κοτόπουλου σε σχέση με την θερμοκρασία για αποθήκευση σε διάφορα ποσοστά CO₂

8. Συμπεράσματα

Από την συλλογή των βιβλιογραφικών δεδομένων σχετικά με την μικροβιακή ανάπτυξη TVC (logCFU/g) σε φιλέτο βόειου και κοτόπουλου, και τους ρυθμούς της μικροβιακής ανάπτυξης που υπολογίστηκαν με βάση την εξίσωση Arrhenius έγινε υπολογισμός της διάρκειας ζωής, βάσει της εξίσωσης που προτάθηκε από τους Koutsoumanis et al. (2000), για διαφορετικούς συνδυασμούς θερμοκρασίας και ποσοστού CO₂.

Φαίνεται τελικά πως οι παράμετροι της τροποποιημένης ατμόσφαιρας έχουν σημαντική επίδραση στην διατηρησιμότητα των τροφίμων. Τόσο για το βόειο, όσο και για το κοτόπουλο, φαίνεται πως ο συνδυασμός χαμηλής θερμοκρασίας και η αύξηση του ποσοστού του CO₂ στη συσκευασία παρεμποδίζουν την μικροβιακή ανάπτυξη. Έτσι, για μία συγκεκριμένη θερμοκρασία όσο αυξάνεται το ποσοστό CO₂, τόσο αυξάνεται και ο χρόνος ζωής του κρέατος κάτι που γίνεται εμφανές από τα σχήματα 23 και 24.

Για μία συνηθισμένη θερμοκρασία αποθήκευσης, 4°C, φαίνεται πως η αύξηση του CO₂ από 0 σε 50% αυξάνει τη διάρκεια ζωής του βόειου κρέατος από 7 σε 11 μέρες και του κοτόπουλου από 6 σε 12 ημέρες. Για μεγαλύτερες θερμοκρασίες, 10 °C και 15 °C, η αύξηση του CO₂ δεν φαίνεται να έχει επίδραση στον χρόνο ζωής καθώς πρόκειται για μεγάλες θερμοκρασίες στις οποίες πραγματοποιείται ταχεία μικροβιακή ανάπτυξη και δεν μπορεί να διατηρηθεί το κρέας.

Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία αποθήκευσης, για συγκεκριμένο ποσοστό CO₂, μειώνεται η διάρκεια ζωής κρέατος όπως γίνεται εμφανές από τα σχήματα 23 και 24, και όσο πιο μικρή η θερμοκρασία, τόσο πιο πολύ διατηρείται.

Όσον αφορά την επίδραση της αναλογίας αερίου προς προϊόν (gas to product ratio) σε μία συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, δεν μπορεί να εξαχθεί συμπέρασμα από όλες τις μελέτες που βρέθηκαν, καθώς δεν περιείχαν την συγκεκριμένη πληροφορία. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψιν τις μελέτες που περιείχαν την αναλογία αυτή, γίνεται αντιληπτό ότι για την αποθήκευση βόειου κρέατος σε συγκεκριμένη θερμοκρασία 4 °C και περίπου ίδια ποσοστά αερίων όπως φαίνεται στον πίνακα 9 με αύξηση της αναλογίας gas to product μειώνεται ο ρυθμός της μικροβιακής ανάπτυξης, αυξάνοντας τον χρόνο ζωής.

Πίνακας 9: Επίδραση της αναλογίας αερίου προς προϊόν στον ρυθμό μικροβιακής ανάπτυξης

Σύσταση αερίων	T	Gas:product	Πηγή	$k_{exp} (d^{-1})$
80% O ₂ / 20% CO ₂	4 °C	2:1	Yang X. et al., 2016	0,37694386
78,8% O ₂ / 18,8% CO ₂ / 2,4% N ₂	4 °C	3:1	Lai J et al., 2022	0,225625

Η πραγματοποίηση πειραματικών μελετών που περιλαμβάνουν την αναλογία αερίου προς το προϊόν θα οδηγήσουν σε καλύτερα συμπεράσματα σχετικά με την συγκεκριμένη επίδραση, και την εύρεση της πιο αποτελεσματικής αναλογίας στην επέκταση του χρόνου ζωής.

9. Βιβλιογραφία

- Airproducts, *Your in-depth guide to Modified Atmosphere Packaging*
- Al-Nehlawi, A., Saldo, J., Vega, L., Guri, S., 2013. *Effect of high carbon dioxide atmosphere packaging and soluble gas stabilization pre-treatment on the shelf-life and quality of chicken drumsticks*. Meat Sci. 94, 1–8.
- Asensio, M.A., Ordoñez, J.A., Sanz, B., 1988. *Effect of carbon dioxide and oxygen enriched atmospheres on the shelf-life of refrigerated pork packed in plastic bags*. J. Food Prot. 51 (5), 356-360.
- Bailey, J.S., Reagan, J.O., Carpenter, J.A., Schuler, G.A., Thomson, J.E., 1979a. *Types of bacteria and shelf-life of evacuated carbon dioxide-injected and ice-packed broilers*. J. Food Prot. 42 (3), 218-221.
- Balamatsia C.C., Patsias A., Kontominas M.G., Savvaidis I.N., 2007, *Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere-packaged chicken fillets: Correlation with microbiological and sensory attributes*, Food Chemistry 104 1622–1628
- Baranyi J., Roberts T.A.. 1994, *A dynamic approach to predicting bacterial growth in food*. Int. J. Food Microbiol., 23, 277–294.
- Barlow, J., Kitchell, A.G., 1966. *A note on the spoilage of prepacked lamb chops by Microbacterium thermosphactum*. J. Appl. Bacteriol. 29 (1), 185-188
- Bekhit, A. E.-D. A., Holman, B. W. B., Giteru, S. G., & Hopkins, D. L., 2021, *Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review*. Trends in Food Science & Technology, 109, 280–302.
- Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., & Bekhit, A. E. D. A., 2018, *Role of calpain system in meat tenderness: A review*. Food Science and Human Wellness, 7, 196–204.
- Borch, E., Kant-Muermans, M.L., Blixt, Y., 1996. *Bacterial spoilage of meat and cured meat products*. Int. J. Food Microbiol. 33 (1), 103-120.
- Boysen L., Knøchel S. & Rosenquist H., 2007, *Survival of Campylobacter jejuni in different gas mixtures*, Federation of European Microbiological Societies, 266, 152-157
- Brandon, K., Beggan, M., Allen, P. & Butler, F., 2009. *The performance of several oxygen scavengers in varying oxygen environments at refrigerated temperatures: implications for low-oxygen modified atmosphere packaging of meat*. International Journal of Food Science and Technology, 44, 188–196
- Brewer, M. S., Zhu, L. G., Bidner, B., Meisinger, D. J. and McKeith, F. K. , 2001b, *Measuring pork color: effects of blooming time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters*. Meat Science, 57, 169–176.
- Burrows, K. V. & Brougher, C., 2007. *Federal Regulation of Substances Generally Recognized As Safe (GRAS) and the Use of Carbon Monoxide in Packaging for Meat and Fish*. Congressional Research Service Report for Congress
- Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D. & Richardson, R.I., 2006. *Flavour perception of oxidation in beef*. Meat Science, 72, 303–311
- Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G.J., Villani, F., Ercolini, D., 2015. *Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage*. Food Microbiol. 45, 83-102
- Cha H., Liang S., Shi K., Xu Z., Ge C., Zhao P., Xiao Z., 2023, *Effect of modified atmosphere packaging on the quality characteristics and bacterial community succession of super-chilled chicken meat in biopreservation*, LWT - Food Science and Technology 189 115547
- Chizzolini, R., Novelli, E. & Zanardi, E., 1998. *Oxidation in Traditional Mediterranean Meat Products*. Meat Science, Vol. 49, No. Suppl. I, S87-S99
- Cornelis, P., 2010. *Iron uptake and metabolism in pseudomonads*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 86 (6), 1637-1645

- Coma, V., 2008). *Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products*. Meat Science, 78, 90–103.
- Daniels, J. A., Krishnamurthi, R., & Rizvi, S. S., 1985, *A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality*. Journal of Food Protection, 48(6), 532–537.
- Dave, D., & Ghaly, A. E., 2011, *Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review*. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 6(4), 486.
- Djenane, D., & Roncal' es, P., 2018, *Carbon monoxide in meat and fish packaging: Advantages and limits*. Foods, 7(2), 12.
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G. J. E., 2012, *Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions*. International Journal of Food Microbiology, 157(2), 130–141.
- Doulgeraki, A.I., Paramithiotis, S., Kagkli, D.M., Nychas, G.J.E., 2010. *Lactic acid bacteria population dynamics during minced beef storage under aerobic or modified atmosphere packaging conditions*. Food Microbiol. 27 (8), 1028-1034
- Dransfi eld, E., 2005. *Consumer importance in creating demands for meat and meat product safety*. Tehnologija mesa, 46 (1-2), 3-10.
- Duskova, M., Kamenik, J., Karpiskova, R., 2013. *Weissella viridescens in meat products-a review*. Acta Vet. Brno 82 (3), 237-241.
- Enfors, S.O., Molin, G., Ternstro'm, A., 1979. *Effect of packaging under carbon dioxide, nitrogen or air on the microbial flora of pork stored at 4 °C*. J. Appl. Bacteriol. 47 (2), 197-208.
- Erkmén, O., Bozoglu, T.F., 2016. *Spoilage of meat and meat products*. In: Erkmén, O., Bozoglu, T.F. (Eds.), Food Microbiology: Principles into Practice. John Wiley & Sons.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2010. *Analysis of the baseline survey on the prevalence of Campylobacter in broiler batches and of Campylobacter and Salmonella on broiler carcasses in the EU, 2008, Part A: Campylobacter and Salmonella prevalence estimates*. EFSA J. 2010 (8), 1e100.
- FAO G., 2011. *Global Food Losses and Food Waste-Extent, Causes and Prevention*. Save Food: An Initiative on Food Loss and Waste Reduction.
- Farber, J. M., 1991, *Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology-a review*. Journal of Food Protection, 54(1), 58–70
- Farber, J. N., Harris, L. J., Parish, M. E., Beuchat, L. R., Suslow, T. V., Gorney, J. R., Garrett, E. H. & Busta, F. F., 2003. *Microbiological Safety of Controlled and Modified Atmosphere Packaging of Fresh and Fresh-Cut Produce*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 2 (Supplement).
- Farkas, J., 2007. *Physical methods of food preservation*, Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, thirded. American Society of Microbiology, pp. 685-712
- Feiner, G., 2006. *Definitions of terms used in meat science and technology*. Meat Products Handbook, 46–71.
- Fitzgerald, M., Papkovsky, D. B., Smiddy, M., Kerry, J. P., O' Sullivan, C. K., Buckley, D. J. & Guilbault, G. G., 2001. *Non-destructive monitoring of oxygen profiles in packaged foods using phase-fl uorimetric oxygen sensor*. Journal of Food Science, 66, 105-110.
- Garcia de Fernando, G.D., Nychas, G.-J.E., Peck, M.W., Ordonez, J.A., 1995. *Growth/survival of psychrotrophic pathogens on meat packaged under modified atmospheres*. Int. J. Food Microbiol. 28, 221 – 232
- Gill, C.O., 1976. *Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces*. J. Appl. Bacteriol. 41 (3), 401-410.
- Gill, C.O, 1996. *Extending the storage life of raw chilled meats*. Meat Sci. 43, 99-109.
- Gill, C. O., and K. H. Tan. 1980. *Effect of carbon-dioxide on growth of meat spoilage bacteria*. Appl. Environ. Microbiol. 39:317–319.

- Gill, C.O., Penney, N., 1988. *The effect of the initial gas volume to meat weight ratio on the storage life of chilled beef packaged under carbon dioxide*. Meat Sci. 22 (1), 53-63.
- Herbert, U., Rossaint, S., Khanna, M.-A., & Kreyenschmidt, J., 2013. *Comparison of argon-based and nitrogen-based modified atmosphere packaging on bacterial growth and product quality of chicken breast fillets*. Poultry Science, 92(5), 1348–1356.
- Holck A. L., Pettersen M.K., Moen M.H., Sorheim O., 2014, *Prolonged Shelf Life and Reduced Drip Loss of Chicken Filets by the Use of Carbon Dioxide Emitters and Modified Atmosphere Packaging*, Journal of Food Protection, Vol. 77, No. 7, 2014, Pages 1133–1141
- Hou X., Zhao H., Yan L., Li S., Chen X., Fan J., 2023, *Effect of CO₂ on the preservation effectiveness of chilled fresh boneless beef knuckle in modified atmosphere packaging and microbial diversity analysis*, LWT - Food Science and Technology 187
- Huang, L., 2017, *Global Fit—A one-step direct data analysis tool for predictive microbiology*. Int. J. Food Microbiol. 262, 38–48.
- Huis in't Veld, J.H., 1996. *Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview*. Int. J. Food Microbiol. 3 (1), 1-18.
- Hunt, M. C., 1991. *American meat science association committee on guidelines for meat color evaluation*. Proc. Recip. Meth. Conf., 44, 1–14
- ICMSF, 1986, *Microorganisms in foods vol. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications (2nd ed.)*. Toronto: University of Toronto Press
- Iulietto, M.F., Sechi, P., Borgogni, E., Cenci-Goga, B.T., 2015. *Meat spoilage: a critical review of a neglected alteration due to ropy slime producing bacteria*. Italian J. Anim. Sci. 14 (3), 4011.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A., 2005. *Modern Food Microbiology*, seventh ed. Springer Science and Business Media, NY, pp. 63-101, ISBN: 0387231803
- 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
- Koch, G. A., Christensen, H., Eides, S. P. & Meinert L., 2009. *Requirements to shelf-life of fresh meat and meat products*. In Proceedings of the 55th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Copenhagen, Denmark
- Koutsoumanis, K. P., Taoukis, P. S., Drosinos, E. H., & Nychas, G.-J. E., 2000. *Applicability of an Arrhenius Model for the Combined Effect of Temperature and CO₂ Packaging on the Spoilage Microflora of Fish*. Applied and Environmental Microbiology, 66(8), 3528–3534.
- Lai J., Wang Y., Zhang X., Zhou L., Zhu Y., 2022, *Effects of active modified atmosphere on lipid and protein oxidation, moisture migration and quality properties of beef steaks*, Packaging Technology and Science 36, 111–123.
- Lawrie, R., 2006. In: Ledward, D. (Ed.), *Lawrie's Meat Science, seventh ed.* Woodhead Publishing Ltd, Abington, pp. 157-188
- Lindahl, G., Karlsson, A. H., Lundstrom, K. & Andersen, H. J., 2006a. *Significance of storage time on degree of blooming and colour stability of pork loin from different crossbreeds*. Meat Science, 72, 603–612.
- Lindahl, G., Henckel, P., Karlsson, H. A. & Andersen, H. J., 2006b. *Significance of early postmortem temperature and pH decline on colour characteristics of pork loin from different crossbreeds*. Meat Science, 72, 613–623
- Lund, M. N., Lametsch, R., Miklos, R., Hviid, M. S. & Skibsted L. H., 2009. *Protein oxidation in meat during chill storage in high-oxygen atmospheres*. In Proceedings of the 55th International Congress of Meat Science and Technology, (ICoMST), Copenhagen, Denmark.

- Madsen, T. N. & Clausen, I., 2006. *Sensory evaluation of beef steaks stored in MA combinations of CO₂, N₂ and O₂* In Proceedings of the International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Dublin, Ireland
- Mancini, R. A. & Hunt, M. C., 2005. *Current research in meat color*. Meat Science, 71, 100-121
- Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N., 2017, *Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review*. Food Research International, 94, 90–100.
- Martínez, L., Djenane, Dj., Cilla, I., Beltrán, J. A. & Roncalés, P. ,2005. *Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere*. Meat Science, 71, 563–570.
- Masterpack group, 2023, *Which gases are typical used in map (and which aren't?)*
- Meinert, L., Kock, G. A., Blom-Hanssen, J., Bejerholm, C., Madsen, T. N. & Christensen, H., 2009. *Predicting the shelf-life of fresh pork and beef*. In Proceedings of the 55th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST). Copenhagen, Denmark
- Meredith, H., Valdramidis, V., Rotabakk, B., Sivertsvik, M., McDowell, D., Bolton, D., 2014. *Effect of different modified atmospheric packaging (MAP) gaseous combinations on Campylobacter and the shelf-life of chilled poultry fillets*. Food Microbiol. 44, 196–203
- Mohareb, F., Iriondo, M., Doulgeraki, A.I., Van Hoek, A., Aarts, H., Cauchi, M., Nychas, G.-J.E., 2015. *Identification of meat spoilage gene biomarkers in Pseudomonas putida using gene profiling*. Food Contr. 57, 152–160.
- Molin, G. 2000. *Modified atmospheres*, p. 214–234. In B. M. Lund, T. C. Baird-Parker, and G. W. Gould (ed.), The microbiological safety and quality of food, vol. 1. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
- Narasimha, R. D. & Sachindra, N. M., 2002. *Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products*. Food Reviews International, 18 (4), 263–293
- Nieminen, T. T., Nummela, M., & Bjorkroth, J. ,2015, *Packaging gas selects lactic acid bacterial communities on raw pork*. Journal of Applied Microbiology, 119(5), 1310–1316
- Nishimura, T., 1998, *Mechanism involved in the improvement of meat taste during postmortem aging*. Food Science and Technology International, 4, 241–249
- Nychas, G-J E, Drosinos, E H and Board, R G, 1998, *Chemical changes in stored meat*, in Board, R G and Davies, A R (eds), The Microbiology of Meat and Poultry, London, Blackie Academic and Professional, 288–326
- Nychas, G.J., Dillon, V., Board, R.G., 1988. *Glucose, the key substrate in the microbiological changes occurring in meat and certain meat products*. Biotechnol. Appl. Biochem. 10 (3), 203-231.
- Nychas, G. J. E., & Drosinos, E. H., 2014, *Spoilage of meat*. In C. A. Batt, & M. L. Tortorello (Eds.), Encyclopedia of food microbiology (2nd ed., pp. 514–520). Elsevier.
- Nychas, G.-J. E., & Skandamis, P. N., 2005. *Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging (MAP)*. Improving the Safety of Fresh Meat, 461–502.
- Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N., Tassou, C.C., Koutsoumanis, K.P., 2008. *Meat spoilage during distribution*. Meat Sci. 78 (1-2), 77-89.
- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., & Nicorescu, V., 2017, *Mechanisms of oxidative processes in meat and toxicity induced by postprandial degradation products: A review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 16, 96–123
- Park, S. Y., Kim, Y. J., Lee, H. C., Yoo, S. S., Shim, J. H. & Chi, K. B., 2008. *Effects of Pork Meat Cut and Packaging Type on Lipid Oxidation and Oxidative Products during Refrigerated Storage (8C)*. Journal of Food Science, 73 (3), C127 - C134
- 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 25 575– 581

- Pin, C., de Fernando, G.D.G., Ordoñez, J.A., 2002. *Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by Brochothrix thermosphacta*. Appl. Environ. Microbiol. 68 (9), 4441-4447
- Pothakos, V., Devlieghere, F., Villani, F., Bjořkroth, J., Ercolini, D., 2015. *Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage*. Meat Sci. 109, 66-74
- Purslow P.P., 2017, *New Aspects of Meat Quality From Genes to Ethics*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, United Kingdom
- Radetić, P., Milijašević, M., Jovanović, J., Velebit, B., 2007, *Modified atmosphere packaging for fresh meat – trend that lasts!* Tehnologija mesa, 48 (1-2), 99-108.
- Ramanathan, R., Lambert, L. H., Nair, M. N., Morgan, B., Feuz, R., Mafi, G., & Pfeiffer, M. ,2022, *Economic loss, amount of beef discarded, natural resources wastage, and environmental impact due to beef discoloration*. Meat and Muscle Biology, 6(1).
- Ritchie, H., Roser, M., 2018. *Meat and Seafood Production and Consumption*, 12. Our World in Data, p. 2018, Retrieved September
- Rossaint S., Klausmann S., Herbert U., Kreyenschmidt J., 2014, *Effect of package perforation on the spoilage process of poultry stored under different modified atmospheres*, Food packaging and shelf life 1 68-76
- Seyfert, M., Hunt, M. C., Mancini, R. A., Hachmeister, K. A., Kropf, D. H. & Unruh, J.A., 2004. *Accelerated chilling and modified atmosphere packaging affect colour and colour stability of injection-enhanced beef round muscles*. Meat Science, 68, 209–219.
- Silva, A.R., Paulo, E'.N., Sant'Ana, A.S., et al., 2011. *Involvement of Clostridium gasigenes and C. algidicarnis in 'blown pack' spoilage of Brazilian vacuum-packed beef*. Int. J. Food Microbiol 148 (3), 156-163.
- Slavica G., Radoslav G., 2010, *Effects of Modified Atmosphere Packaging on Quality and Safety of Fresh Meat*, Quality of Life (Banja Luka) – APEIRON
- Soares A.L., Marchi, D. F., Matsushita, M., Guarneri, P. D., Droval, A. A., Ida, E. I. & Shimokomaki, M., 2009. *Lipid Oxidation and Fatty Acid Profile Related to Broiler*. Braz. Arch. Biol. Technol., 52 (6), 1513-1518.
- Suman, S. P., Faustman, C., Lee, S., Tang, J., Sepe, H. A., Vasudevan, P., Annamalai, T., Manojkumar, M., Marek, P. & Venkitanarayanan K. S., 2005. *Effect of erythorbate, storage and high-oxygen packaging on premature browning in ground beef*. Meat Science, 69, 363–369.
- Tarlak F., 2023, *The Use of Predictive Microbiology for the Prediction of the Shelf Life of Food Products*, Foods, 12, 4461
- Thomas, Y. O., A. A. Kraft, R. E. Rust, and D. K. Hotchkiss. 1984. *Effect of carbon-dioxide flushing and packaging methods on the microbiology of packaged chicken*. J. Food Sci. 49:1367–1371.
- Van Velzen, E. U. T., and A. R. Linnemann, 2008. *Modified atmosphere packaging of fresh meats—sudden partial adaptation caused an increase in sustainability of dutch supply chains of fresh meats*. Packag. Technol. Sci. 21:37–46.
- Vandendriessche, F. , 2008, *Meat products in the past, today and in the future*. Meat Science. 78, 104–113.
- Van Rooyen, L. A., Allen, P., & O'Connor, D. I., 2017, *The application of carbon monoxide in meat packaging needs to be re-evaluated within the EU: An overview*. Meat Science, 132, 179–188.
- Viana, E. S., Gomide, L. A. M. & Vanetti, M. C. D., 2005. *Effect of modified atmosphere on microbiological, colour and sensory properties of refrigerated pork*. Meat Science. 71, 696-705.
- Wilkinson, B. H. P., Janz, J. A. M., Morel, P. C. H., Purchas, R. W. & Hendriks, W. H., 2006. *The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master-packaged fresh pork*. Meat Science, 73, 605–610
- Wittgas.com, *How Modified Atmosphere Packaging extends the shelf life of food products*

- Yang X., Luo X., Zhang Y., Hopkins D.L., Liang R., Dong P., Zhu L., 2020, *Effects of microbiota dynamics on the color stability of chilled beef steaks stored in high oxygen and carbon monoxide packaging*, Food Research International 134
- Yang J., Yang X., Liang R., Zhu L., Mao Y., Dong P., Hopkins D.L., Luo X., Zhang Y., 2022, *The response of bacterial communities to carbon dioxide in high-oxygen modified atmosphere packaged beef steaks during chilled storage*, Food Research International 151
- Yang, X., Youssef, M.K., Gill, C.O., Badoni, M., Lo'pez-Campos, O'., 2014. *Effects of meat pH on growth of 11 species of psychrotolerant clostridia on vacuum packaged beef and blown pack spoilage of the product*. Food Microbiol. 39, 13-18
- Yang X., Zhang Y., Zhu L., Han M., Gao S., Luo X., 2016, *Effect of packaging atmospheres on storage quality characteristics of heavily marbled beef longissimus steaks*, Meat Science 117
- Zakrys, P. I., O'sullivan, M. G., Allen, P., & Kerry, J. P., 2009, *Consumer acceptability and physiochemical characteristics of modified atmosphere packed beef steaks*. Meat Science, 81(4), 720–725
- Zwietering M.H., Jongenburger I., Rombouts F.M., Van't Riet K.J.A.E.M., 1990, *Modeling of the bacterial growth curve*. Appl. Environ. Microbiol. 56, 1875–1881.
- Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, 1995, *Οδηγία 95/2/EΚ, του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 20ής Φεβρουαρίου 1995 για τα πρόσθετα τροφίμων πλην των χρωστικών και των γλυκαντικών*

10. Abstract

Food undergoes complex processes that lead to spoilage, negatively impacting consumer acceptance and significantly contributing to food waste. Today, consumers expect food products to have a long shelf life, as well as good nutritional value, visual quality, and safety. For this reason, the food industry has developed modern packaging technologies to meet consumer demands. One of these technologies is modified atmosphere packaging. Meat and meat products fall into the category of highly perishable foods because they have a high nutritional content that supports rapid microbial growth, high activity levels, a pH of 5.5 or higher, autolytic enzymes, and a significant amount of fats and lipids that promote oxidation and spoilage.

In this thesis, the qualitative characteristics of meat are initially discussed, such as appearance, mainly color, flavor, texture, particularly tenderness, juiciness/water retention, and odor. Following this, the spoilage of meat is analyzed, specifically microbial spoilage with various types of microbial growth in meat and its characteristics, lipid oxidation, protein oxidation, and enzymatic spoilage. Subsequently, modified atmosphere packaging is discussed, a method that extends shelf life and maintains food quality by inhibiting microbial growth and metabolism. The advantages of this method are highlighted, along with the gases used, mainly oxygen, carbon dioxide, and nitrogen, and the gas-to-product ratio.

The study also explores predictive microbiology, a scientific field that uses mathematical models and computational tools to predict the growth, survival, and behavior of microorganisms in food or other environments, with reference to specific primary and secondary models.

In this research, data were collected on microbial growth (TVC) as a function of storage conditions over time for beef steak and chicken fillet. The software "GetData Graph Digitizer" was used to digitize the data, and the Baranyi growth model and DMFit3.5 program were employed to study microbial growth by fitting growth curves. These tools were used to calculate the kinetic parameter of microbial growth rate (k_{exp} in d^{-1}) under the given storage conditions. The dependency of microbial growth rate constants on temperature and CO_2 percentage was also determined, fitting the data to the modified Arrhenius equation, with the 'standard error' between the two calculated.

Finally, based on microbiological data from the literature and microbial growth rates calculated using the Arrhenius equation, the shelf life of beef and chicken fillets was estimated under different storage conditions, demonstrating the impact of storage parameters, namely temperature and CO₂ percentage, on the shelf life of these specific meats.