



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ
ΥΓΙΕΙΝΗ»



**ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ
ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ
ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΣΤΟ ΒΟΕΙΟ ΚΡΕΑΣ ΞΗΡΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΧΑΤΖΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ, 2021



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ
ΥΓΙΕΙΝΗ»



**ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ
ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ
ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΣΤΟ ΒΟΕΙΟ ΚΡΕΑΣ ΞΗΡΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΧΑΤΖΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ, 2021

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Ανδρεάνα Πεξάρá
(Επίκουρη Καθηγήτρια ΠΘ)

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Αλέξανδρος Γκόβαρης (Καθηγητής ΠΘ)

Ανδρεάνα Πεξάρá (Επίκουρη Καθηγήτρια ΠΘ)

Νικόλαος Σολωμάκος (Επίκουρος Καθηγητής ΠΘ)

Στους γονείς μου Κωνσταντίνο & Χρυσούλα

Περίληψη

Σημαντικοί όροι: Βόειο κρέας ξηρής ωρίμανσης, μικροβιολογικά χαρακτηριστικά, ζύμες, μύκητες, οξυγαλακτικά βακτήρια.

Σκοπός εργασίας

Ξηρή ωρίμανση είναι η διαδικασία όπου το βόειο κρέας ωριμάζει για αρκετές εβδομάδες ή και μήνες σε ελεγχόμενες συνθήκες, εντός ψυκτικού θαλάμου, με στόχο την ανάπτυξη ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Πριν τη διάθεση στον καταναλωτή προηγείται η αφαίρεση του επιφανειακού στρώματος, σε έκταση ανάλογη του χρόνου ωρίμανσης (αποκοπή, trimming). Για τη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του παραγόμενου προϊόντος πολύ σημαντική είναι η μικροβιολογική χλωρίδα κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, ιδιαίτερα συγκεκριμένων ομάδων μικροοργανισμών όπως οι ζύμες, οι μύκητες και τα οξυγαλακτικά βακτήρια.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η μελέτη της ποικιλομορφίας της μικροβιακής χλωρίδας του βόειου κρέατος, κυρίως όσον αφορά το είδος των ζυμών, των μυκήτων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται και πώς αυτοί μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης.

Υλικά και μέθοδοι

Τεμάχια βόειου κρέατος «μπριζόλες» υπέστησαν ξηρή ωρίμανση σε θάλαμο ξηρής ωρίμανσης (θερμοκρασία $1\pm 1^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία $75\pm 5\%$, ταχύτητα ροής αέρα: 1 m/s) για διάστημα 60 ημερών. Στην πρώτη ύλη (ημέρα 0) και στα δείγματα που προέκυψαν μετά την διαδικασία αποκοπής («τελικό προϊόν») και στην «ζώνη αποκοπής» στις ημέρες 21, 30, 40, 50, 60 πραγματοποιήθηκε μικροβιολογική ανάλυση για την απομόνωση των οξυγαλακτικών βακτηρίων, ζυμών και μυκήτων. Ακολούθησε ταυτοποίηση των απομονωθέντων αποικιών με τη μέθοδο Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Spectrometry (MALDI-TOF MS).

Αποτελέσματα

Την ημέρα 0 (α' ύλη) τα οξυγαλακτικά βακτηρία *Lactococcus garviae*, και *Enterococcus faecalis* ταυτοποιήθηκε σε ποσοστό 66,66% και 33,33% των εξεταζόμενων στελεχών και *Yarrowia lipolytica* και *Candida zeylanoides* μεταξύ των ζυμών και μυκήτων σε ποσοστό 33,33% και για τα δύο είδη.

Στο τελικό προϊόν και στη ζώνη αποκοπής σε όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης ο *Lactobacillus sakei* ήταν το οξυγαλακτικό βακτήριο που ταυτοποιήθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό, 55,55%, 66,66%, 77,77% τις ημέρες 21, 30, 40, 50 αντίστοιχα και έφτασε το 100% την ημέρα 60 στο τελικό προϊόν, ενώ στη ζώνη αποκοπής τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 66,66% την ημέρα 21, 55,55% τις ημέρες 30 έως 50 και 77,77% την ημέρα 60. Την ημέρα 21 στο τελικό προϊόν και στη ζώνη αποκοπής το 44,44% και 33,33% των στελεχών ταυτοποιήθηκε ως *L. garviae*, αντίστοιχα.

Στο τελικό προϊόν σε όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης ο μύκητας *C. zeylanoides* ταυτοποιήθηκε σε ποσοστά από 33,33% έως 55,55% των εξεταζόμενων στελεχών, ενώ τις ημέρες 40 και 50 και ο μύκητας *Candida famata* σε ποσοστό 22,22% που αυξήθηκε σε 33,33% τις ημέρες 50 και 60. Αντίστοιχα και στη ζώνη αποκοπής το κυρίαρχο είδος ήταν ο μύκητας *C. zeylanoides* σε ποσοστό 77,77% τις ημέρες 21 και 30 και παρέμεινε σε ποσοστό 55,55% μέχρι το τέλος της ωρίμανσης.

Abstract

Keywords: Dry aged beef, microbiological characteristics, yeasts, moulds, lactic acid bacteria.

Objective

Dry aging is the process where beef primal cuts are aged for several weeks or even months under controlled conditions in a refrigerated room, in order enhanced meat organoleptic characteristics to be developed. Prior to its disposal to the consumer, the outer crust layer is trimmed off, to an extent proportional to the aging time. The microbiological quality of the product during aging, particularly the growth of specific groups of microorganisms such as yeasts, moulds and lactic acid bacteria, is very important for development of the sensory attributes of the product.

The objective of this study was to evaluate the diversity of the microbiological community of dry aged beef, focusing on the species of yeast, moulds and lactic acid bacteria during dry aging process.

Materials and methods

Ribeye steaks were dry aged in a cold room (temperature $1\pm 1^{\circ}\text{C}$, relative humidity $75\pm 5\%$, air flow: 1 m/s) for 60 days. In the unaged beef (day 0) and in the samples obtained after trimming ("final product") and in the "trimming zone", on days 21, 30, 40, 50, 60 microbiological analysis was performed for the isolation of the yeast, moulds and lactic acid bacteria. The isolates were further identified by applying the matrix-assisted laser desorption ionization, time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS).

Results

On day 0 ("unaged beef") the lactic acid bacteria *Lactococcus garviae* and *Enterococcus faecalis* were identified in 66,66% and 33,33% of the examined isolates and *Yarrowia lipolytica* and *Candida zeylanoides* among yeasts and moulds in 33,33% of isolates, for both species.

In the final product and in trimming zone *Lactobacillus sakei* was the predominant lactic acid bacteria species throughout the aging process, identified in 55,55%, 66,66%, 77,77% of isolates on days 21, 30, 40, 50 respectively and reached 100% on day 60 in the final product, while in the trimming zone the respective percentages were 66,66% on day 21, 55,55% on days 30 to 50 and 77,77% on day 60. On day 21, 44,44% and 33,33% of the lactic acid bacteria isolates were identified as *L. garviae* in the final product and in the trimming zone, respectively.

In the final product throughout the aging process, *C. zeylanoides* was the predominant mould, making up 33,33% to 55,55% of the isolates, while on days 40 and 50 *Candida famata* was identified in 22,22% of isolates and increased to 33,33% on days 50 and 60. In the trimming zone the predominant species was the mould *C. zeylanoides* in 77,77% of isolates on days 21 and 30 and remained in 55,55% until the end of aging process.

Περιεχόμενα

| | |
|---|-----------|
| Ευχαριστίες..... | i |
| Κατάσταση πινάκων..... | iii |
| Κατάσταση σχημάτων..... | iv |
| ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | v |
| Εισαγωγή..... | vi |
| Σκοπός της διπλωματικής εργασίας | viii |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο | 1 |
| ΚΡΕΑΣ ΞΗΡΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ | 1 |
| 1) Ορισμός..... | 1 |
| 1.1) Περιγραφή της μεθόδου | 2 |
| 1.1.2) Η πρώτη ύλη της ξηρής ωρίμανσης | 2 |
| 1.1.3) Η διαδικασία της ξηρής ωρίμανσης..... | 7 |
| 1.2) Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά | 8 |
| 1.2.1) Γεύση..... | 8 |
| 1.2.2) Τρυφερότητα | 9 |
| 1.2.3) Χυμώδες..... | 10 |
| 1.2.4) Χρώμα..... | 10 |
| 1.3) Απώλειες | 11 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο | 12 |
| 2) Μικροβιολογική χλωρίδα στο κρέας ξηρής ωρίμανσης..... | 13 |
| 2.1) Βακτηριακή ανάπτυξη..... | 13 |
| 2.2) Ζύμες-Μύκητες | 13 |
| 2.2.3) Οξυγαλακτικά βακτήρια | 17 |
| ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 20 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο | 21 |
| 3.1) Συλλογή και χειρισμός των δειγμάτων | 21 |
| 3.2) Μικροβιολογική ανάλυση | 23 |
| 3.3) Απομόνωση των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Lactic acid bacteria, LAB)..... | 23 |
| 3.4) Απομόνωση των ζυμών και μυκήτων (Yeast/Mold) | 23 |
| 3.5) Ταυτοποίηση των υπό εξέταση μικροοργανισμών..... | 24 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο | 26 |
| 4.1) ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..... | 26 |
| 4.2) Συζήτηση-Συμπεράσματα..... | 32 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 37 |

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω ολόψυχα τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στην επιβλέπουσα καθηγήτρια της διπλωματικής μου εργασίας κ. Πεξαρά Ανδρεάνα (Επίκουρη Καθηγήτρια του Π.Θ.) για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα. Οι υποδείξεις, παρατηρήσεις και η συνεχής καθοδήγηση της σε όλα τα στάδια της μελέτης ήταν καθοριστικής σημασίας για την περάτωση της παρούσας μελέτης. Σε οποιονδήποτε προβληματισμό μου πάντα εκεί πρόθυμη να βοηθήσει, να με κατευθύνει σωστά. Υπάρχουν πολλοί λόγοι που με έκαναν να την θεωρήσω ξεχωριστή. Όμως αν έπρεπε να διαλέξω έναν, αυτός δεν θα μπορούσε να είναι άλλος από την αμεσότητα της στην επικοινωνία με τον φοιτητή κάτι το οποίο είναι αξία ανεκτίμητη. Πέρα από την καθοριστικής σημασίας συμβολή της στην περάτωση της παρούσας μελέτης και κάτι το οποίο υπήρξε πιο καθοριστικό ήταν η υποστήριξη και κατανόηση της σε προσωπικό επίπεδο.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Γκόβαρη Αλέξανδρο, καθηγητή Π.Θ. καθώς και τον κ. Σολωμάκο Νικόλαο Επίκουρο καθηγητή Π.Θ. για τις πολύτιμες συμβουλές τους και τον χρόνο που μου αφιέρωσαν.

Ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στον Κλαυδιανό Ευστάθιο η συμβολή του οποίου υπήρξε πολύ σημαντική στην ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστώ το Εργαστήριο Υγιεινής τροφίμων του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και το Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας, του Ιατρικού τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την παροχή υποδομών για την εκτέλεση του πειραματικού μέρους.

Από τα βάθη της ψυχής μου θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου στους οποίους χρωστάω οτιδήποτε έχω καταφέρει στη ζωή μου. Πάντα πίστευαν σε εμένα και μου το έδειχναν έμπρακτα στηρίζοντας τις επιλογές μου. Η ενθάρρυνση και η υποστήριξη τους σε όλες μου τις αποφάσεις ήταν η κινητήριος δύναμη.

Ένα απέραντο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στον συνοδοιπόρο και συνταξιδιώτη μου στη ζωή, Θεοδωρή. Υπήρξε ο άνθρωπος που υπέμενε τις ψυχολογικές μεταπτώσεις με πλήρη κατανόηση και υποστήριξη. Πάντα δίπλα μου να με σηκώνει και να μου δίνει δύναμη να συνεχίζω. Δίχως την υποστήριξη και την υπομονή του η παρούσα μελέτη δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί.

Κατάσταση πινάκων

| |
|----------------------|
| Πίνακας 1.....σελ.27 |
| Πίνακας 2.....σελ.28 |
| Πίνακας 3.....σελ.30 |
| Πίνακας 4.....σελ.31 |

Κατάσταση σχημάτων

| | |
|--------------|--------|
| Σχήμα 1..... | σελ.22 |
|--------------|--------|

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Το κρέας αποτελεί βασικό συστατικό της ανθρώπινης διατροφής γιατί παρέχει θρεπτικά συστατικά όπως οι πρωτεΐνες, τα λίπη, οι υδατάνθρακες, τα άλατα και οι βιταμίνες, τα οποία είναι απαραίτητα για τον οργανισμό (Μπλούκας, 2007; Πετρούλα, 2015).

Οι ορισμοί που έχουν δοθεί για το κρέας είναι πολλοί και διαφορετικοί. Ως κρέας ορίζεται η σάρκα των θερμόαιμων ζώων και πτηνών που αποτελείται κυρίως από μυϊκό ιστό και η οποία μετά τη σφαγή του ζώου/πτηνού έχει υποστεί μεταθανάτιες βιοχημικές μεταβολές που την καθιστούν τρυφερή και εύγευστη. Ως κρέας με την ευρεία έννοια του όρου, ορίζεται το σύνολο ζωικών ιστών που είναι κατάλληλοι για ανθρώπινη κατανάλωση (Μπλούκας, 2007; Πετρούλα, 2015).

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό κανονισμό (ΕΛ) 853/2004, ως κρέας ορίζονται τα εδώδιμα μέρη των ζώων όπως τα βοοειδή, οι χοίροι, τα αιγοπρόβατα, τα οικόσιτα μόνοπλα, τα εκτρεφόμενα πτηνά, τα κουνέλια, οι λαγοί, καθώς και τα άγρια και εκτρεφόμενα θηράματα (Ευρωπαϊκός κανονισμός 853/2004; Παπασημάκης, 2017).

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μεγάλη αύξηση του ενδιαφέροντος των καταναλωτών γύρω από τα τρόφιμα, ιδιαίτερα όσον αφορά το κρέας και τα προϊόντα του. Αυτό που επιζητούν είναι η ποιότητα και τα ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Στις μέρες μας υπάρχουν διάφορες μέθοδοι συντήρησης του κρέατος. Η μέθοδος που θα επιλεγεί εξαρτάται από τη φύση του προϊόντος, τον επιδιωκόμενο στόχο, τον επιθυμητό χρόνο συντήρησης, την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, τη διασφάλιση της υγείας του καταναλωτή, τη διατήρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και της θρεπτικής αξίας του προϊόντος, καθώς επίσης και από το κόστος της μεθόδου (Ρόδης, 1995; Παπασημάκης, 2017).

Σύμφωνα με το άρθρο 89^α του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, 2014 για την παραγωγή προϊόντων με βάση το κρέας και παρασκευασμάτων κρέατος, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι παρακάτω επεξεργασίες:

- 1) **Θερμική επεξεργασία:** Είναι η επεξεργασία σε τέτοιες συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου ώστε να επιφέρουν τη μετουσίωση των πρωτεϊνών του κρέατος και μείωση ή καταστροφή του μικροβιακού φορτίου ανάλογα με το είδος του προϊόντος και τον πιθανό συνδυασμό άλλων μεθόδων επεξεργασίας.
- 2) **Κάπνιση:** Πρόκειται για επεξεργασία των προϊόντων σε ειδικούς θαλάμους με άμεσο ή έμμεσο τρόπο με καπνο από υγρή ή αέρια μορφή. Στόχος της κάπνισης είναι να προσδώσει ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Στα προϊόντα με βάση το κρέας, η κάπνιση συνδυάζεται πάντοτε και με μία άλλη επεξεργασία που συνήθως είναι η θέρμανση ή η αφυδάτωση, είτε η ζύμωση-ωρίμανση. Στα παρασκευάσματα κρέατος δεν συνοδεύεται από θερμική επεξεργασία ή αφυδάτωση.
- 3) **Αλάτιση:** Η επεξεργασία με τη χρήση μαγειρικού αλάτος με στόχο να προσδώσει ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και να συμβάλλει στην ικανότητα συντήρησης του προϊόντος.
- 4) **Μάλαξη (tumbling):** Πρόκειται για την ανάδευση εντός ειδικού εξοπλισμού ανάδευσης τεμαχίων κρέατος στα οποία έχει γίνει έγχυση ενδομυϊκά ή προσθήκη διαλύματος αλάτος (άλμης) με σκοπό την ικανότητα συγκράτησης νερού.

- 5) Ανάμιξη: Είναι η ανάδευση τεμαχίων κρέατος ή και σύγκοπτου κρέατος με άλλα συστατικά (τρόφιμα, καρυκεύματα, πρόσθετα).
- 6) Ζύμωση- Ωρίμανση: Η επεξεργασία που γίνεται κάτω από ειδικές συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και αερισμού που ευνοούν την ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων και την παραγωγή οργανικών οξέων. Η ωρίμανση συνήθως γίνεται μετά τη ζύμωση, συνοδεύεται από ελαφρά ή έντονη αφυδάτωση.
- 7) Ξήρανση- Αφυδάτωση: Με τον όρο ξήρανση εννοείται η απομάκρυνση ποσότητας νερού που υπάρχει στο προϊόν με βάση το κρέας σε τέτοιο ποσοστό ώστε να μπορεί να συντηρηθεί ακόμη και σε συνθήκες περιβάλλοντος. Ως αφυδάτωση εννοείται η πλήρης απομάκρυνση νερού που περιέχεται στο προϊόν με βάση το κρέας.
- 8) Μαρινάρισμα: Είναι η επεξεργασία (τοποθέτηση) του κρέατος μέσα σε μίγμα υγρών και στερεών συστατικών το οποίο περιέχει κυρίως μπαχαρικά, καρυκεύματα, αρωματικά φυτά, κρασί κ.α.
- 9) Καρύκευση: Επιτρέπεται η προσθήκη καρυκευμάτων. Μπορεί να είναι είτε υγρή είτε ξηρή. Ως υγρή καρύκευση εννοείται η εμβάπτιση σε μίγμα υγρού (π.χ. έλαιου) με άλλα συστατικά (π.χ. ρίγανη) σε τέτοια ποσότητα ώστε να μην δημιουργείται μετουσίωση των πρωτεϊνών. Στην ξηρή καρύκευση επιτρέπεται η προσθήκη καρυκευμάτων).
- 10) Άλλες επεξεργασίες: Επιτρέπεται η χρήση και άλλων τεχνολογιών επεξεργασίας και συντήρησης όπως η χρήση συνδυασμού θερμικής επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση κ.α. (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2014).

Η μέθοδος ωρίμανσης του βόειου κρέατος είναι γνωστή επί σειρά ετών. Οι αυξημένες απαιτήσεις των καταναλωτών οδήγησε στη χρήση διαφορετικών μεθόδων ωρίμανσης (ξηρή, υγρή κ.α.). Παρά το αυξημένο του κόστος, το κρέας ξηρής ωρίμανσης έχει κερδίσει αρκετούς καταναλωτές και τείνει να γίνει γαστρονομική τάση.

Με τον όρο κρέας ξηρής ωρίμανσης περιγράφεται το τεμαχισμένο κρέας σε ημιμόρια ή τεταρτημόρια ή σε μικρότερα τεμάχια που μπαίνει σε ειδικά διαμορφωμένο θάλαμο, χωρίς συσκευασία και αφήνεται να υποστεί την ωρίμανση του για εβδομάδες ή ακόμη και μήνες, υπό συγκεκριμένες και ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και κίνησης του αέρα (Dashdorj et al., 2016). Οι ιδιαίτερες αυτές συνθήκες έχουν ως αποτέλεσμα να δημιουργούνται διάφορες διαδικασίες μέσα από τις οποίες βελτιώνονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρέατος (Lepper-Blilie et al., 2012; Perry, 2012; Dashdorj et al., 2016; Oh et al., 2019;).

Δυστυχώς, αυτή η μέθοδος ωρίμανσης έχει απώλειες, όπου σε συνδυασμό με την ποιότητα της πρώτης ύλης, αυξάνεται σημαντικά η τιμή του παραγόμενου προϊόντος.

Η διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών εξαρτάται από την μικροβιολογική χλωρίδα κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (Dashdorj et al., 2016; Khan et al., 2016; Lee et al., 2019; Oh et al., 2019). Επίσης, λαμβάνοντας υπόψιν την φύση της διαδικασίας (διατήρηση νωπού κρέατος χωρίς συσκευασία), εγείρεται ανησυχία για την ασφάλεια των προϊόντων (Dashdorj et al., 2016; Ryu et al., 2018; Oh et al., 2019)

Μέσα από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε, οι μελέτες που υπάρχουν γύρω από το βόειο κρέας ξηρής ωρίμανσης είναι λιγοστές. Από αυτές οι περισσότερες αφορούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (Dashdorj et al., 2016; Ryu et al., 2018; Bernardo et al., 2019; Oh et al., 2019), ενώ όσον αφορά τη μικροβιολογική ποικιλομορφία, τα χαρακτηριστικά και την ασφάλεια του βόειου κρέατος παρόλο που οι

πληροφορίες είναι ελάχιστες, φαίνεται ότι μεταξύ των ομάδων μικροοργανισμών που φαίνεται να έχουν ιδιαίτερη σημασία είναι οι ζύμες, οι μύκητες και τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Dashdorj et al., 2016). Η ανάπτυξη αυτών των μικροοργανισμών φαίνεται ότι επηρεάζεται από τις συνθήκες συντήρησης του κρέατος (θερμοκρασία, υγρασία, ταχύτητα της ροής του αέρα), με ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο να παίζει η μεταβολή στην ταχύτητα της ροής του αέρα (Lee et al., 2019). Οι ζύμες, οι μύκητες και τα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν ιδιαίτερη σημασία γιατί εκτός του ότι ασκούν επιρροή στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Ryu et al., 2018) επηρεάζουν και την ποιότητα και ασφάλεια του κρέατος ξηρής ωρίμανσης. Ειδικά στη χώρα μας παρά το γεγονός ότι οι καταναλωτές δείχνουν ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια στα συγκεκριμένα προϊόντα δεν υπάρχουν καθόλου δεδομένα για τη μικροβιολογική χλωρίδα του κρέατος ξηρής ωρίμανσης με ιδιαίτερη έμφαση στον πληθυσμό και το είδος των ζυμών/μυκήτων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ωρίμανσης.

Σκοπός της διπλωματικής εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της ποικιλομορφίας της μικροβιολογικής χλωρίδας του βόειου κρέατος, με ιδιαίτερη έμφαση στον πληθυσμό και στο είδος των ζυμών/μυκήτων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται, και πώς αυτοί μεταβάλλονται κατά την διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης,

Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε απομόνωση και ταυτοποίηση των ζυμών/μυκήτων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια ξηρής ωρίμανσης βόειου κρέατος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΚΡΕΑΣ ΞΗΡΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ

1) Ορισμός

Με τον όρο κρέας ξηρής ωρίμανσης περιγράφεται το τεμαχισμένο κρέας σε ημιμόρια ή τεταρτημόρια ή σε μικρότερα τεμάχια που μπαίνει σε ειδικά διαμορφωμένο θάλαμο, χωρίς συσκευασία και αφήνεται να υποστεί την ωρίμανση του για εβδομάδες ή ακόμη και μήνες, υπό συγκεκριμένες και ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και κίνησης του αέρα (Dashdorj et al., 2016; Πεξαρά, 2019) (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Κρέας ξηρής ωρίμανσης (Πηγή: <https://www.istockphoto.com/photo/dry-aged-grass-fed-beef-ribin-traditional-uk-butchers-shop-gm996304668-269635544>)

Η πολυπλοκότητα του κάθε θαλάμου εξαρτάται από τον σκοπό που πρέπει να πετύχει (Katekawa & Silva, 2006; Clemente et al., 2011). Οι θάλαμοι που χρησιμοποιούνται συχνότερα είναι οι ενιαίοι, γιατί η λειτουργία τους είναι σχετικά απλή και τα αποτελέσματα που δίνουν είναι αρκετά ικανοποιητικά (Clemente et al., 2011). Στους θαλάμους αυτούς υπάρχει κατάλληλη μονάδα ψύξης, ράφια που συνήθως είναι από ανοξείδωτο ατσάλι, διάτρητα ράφια, άγκιστρα, συστήματα φιλτραρίσματος αέρα και υπεριώδες φως (Baird, 2008). Το μέγεθος των θαλάμων αυτών ποικίλλει. Έτσι υπάρχουν θάλαμοι στους οποίους μπορούν να τοποθετηθούν τεμάχια κρέατος, θάλαμοι στους οποίους μπορούν να τοποθετηθούν ημιμόρια ή τεταρτημόρια, και θάλαμοι στους οποίους χωράνε και τεμάχια και τεταρτημόρια του κρέατος (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Θάλαμοι ξηρής ωρίμανσης (Πηγή: <https://www.alamy.com/stock-photo/dry-aged-beef.html>)

1.1) Περιγραφή της μεθόδου

Η μέθοδος ξηρής ωρίμανσης είναι γνωστή επί σειρά ετών. Σκοπός της είναι η βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (Smith et al., 2008). Παραδοσιακά ήταν ένας συνηθισμένος τρόπος, να διατηρείται και να αναδεικνύεται η τρυφερότητα του βόειου κρέατος (Dashdorj et al., 2016). Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μεγάλη αύξηση του ενδιαφέροντος γύρω από το κρέας ξηρής ωρίμανσης, μιας και οι αυξημένες απαιτήσεις των καταναλωτών για πιο γευστικά και ποιοτικά τρόφιμα οδήγησε στη χρήση διαφορετικών μεθόδων ωρίμανσης (ξηρή, υγρή ωρίμανση κ.α.). Στη χώρα μας η μέθοδος ξηρής ωρίμανσης έχει κερδίσει αρκετούς καταναλωτές, παρόλο το αυξημένο κόστος του παραγόμενου προϊόντος.

1.1.2) Η πρώτη ύλη της ξηρής ωρίμανσης

Όσον αφορά την τεχνική για την παρασκευή του βόειου κρέατος ξηρής ωρίμανσης αρχικά επιλέγεται η πρώτη ύλη που παίζει ίσως και τον σημαντικότερο ρόλο. Η ποιότητα της πρώτης ύλης εξαρτάται κυρίως από τα ζώα και πιο συγκεκριμένα η φυλή, η ηλικία, η διατροφή των ζώων, το βάρος τους και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους επηρεάζουν την ποιότητα του κρέατος, την εναπόθεση λίπους και την περιεκτικότητα του κρέατος σε λιπαρά οξέα (Campo et al., 1999; Desmet et al., 2004; Khan et al., 2016).

Επίσης η ποιότητα της πρώτης ύλης επηρεάζεται και από την επιλογή των τεμαχίων. Η φυλή του ζώου είναι ένας παράγοντας που ασκεί σημαντική επιρροή στην τρυφερότητα και τη βελτίωση της γεύσης, για αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη (Monson et al., 2005; Khan et al., 2016). Η φυλή επίσης επηρεάζει τις φυσικοχημικές και οργανοληπτικές παραμέτρους του κρέατος, την περιεκτικότητα του σε λιπαρά οξέα, την τρυφερότητα

καθώς επίσης και το χρώμα (Li et al., 2014; Khan et al., 2016). Η διατροφή των ζώων επηρεάζει τη διαμόρφωση του σφάγιου, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρέατος όπως τα λιπαρά οξέα, την τρυφερότητα και το χρώμα (Li et al., 2014; Khan et al., 2016). Ένας εξίσου σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την πρώτη ύλη είναι το stress που δημιουργείται στα ζώα προ σφαγής κατά τον χειρισμό τους, τις κλιματικές συνθήκες, τη θρεπτική τους κατάσταση και η κόπωση (Grandin, 1997; Mormede et al., 2002; Fazio & Ferlazzo, 2003; Apple et al., 2005; Khan et al., 2016). Κατά το stress προ σφαγής υπάρχει μια ραγδαία αύξηση κατεχολαμινών που έχει ως αποτέλεσμα την εξάντληση του γλυκογόνου (Lacourt and Tarrant, 1982; Khan et al., 2016) και την αύξηση του pH με αποτέλεσμα το κρέας να αποκτά σκούρο χρώμα (Kannan et al., 2002; Khan et al., 2016).

Μετά τη σφαγή οι συνθήκες αποθήκευσης και επεξεργασίας επηρεάζουν τη γεύση και την τρυφερότητα του κρέατος (Perry, 2012; Khan et al., 2016), και παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη βελτίωση της ποιότητας του τελικού προϊόντος (Honkavaara et al., 2003; Khan et al., 2016). Παράγοντες όπως η θερμοκρασία, κυκλοφορία αέρα, σχετική υγρασία και το υπεριώδες φως επηρεάζουν την ποιότητα της πρώτης ύλης. Το tenderloin (φιλέτο) και το loin απαιτούν μικρότερο χρόνο ξήρης ωρίμανσης επειδή είναι μαλακοί μυς και περιέχουν μικρότερη ποσότητα συνδετικού ιστού (Hwang et al., 2003; Khan et al., 2016).

Ως μαρμάρωση (“marbeling”) ορίζεται η διασπορά λίπους εντός του κρέατος (ενδομυϊκό λίπος) (Vonseggern et al., 2013; Liu et al., 2020). Σύμφωνα με έρευνες η μαρμάρωση συνδέεται με την τρυφερότητα (Chriki et al., 2013; Liu et al., 2020), όπως επίσης με το χυμώδες και τη γεύση που βελτιώνονται καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα σε ενδομυϊκό λίπος (Dransfield et al., 2003; Thompson, 2004; Hocquette et al., 2011; Liu et al., 2020).

Η εναπόθεση ενδομυϊκού λίπους ή η μαρμάρωση στους μυς είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας που καθορίζει το βαθμό ποιότητας του κρέατος στα βοοειδή με τους καταναλωτές να δείχνουν ιδιαίτερη προτίμηση στο μαρμαρωμένο κρέας εξαιτίας της πλούσιας γεύσης του (Park et al., 2018; Beak et al., 2021)

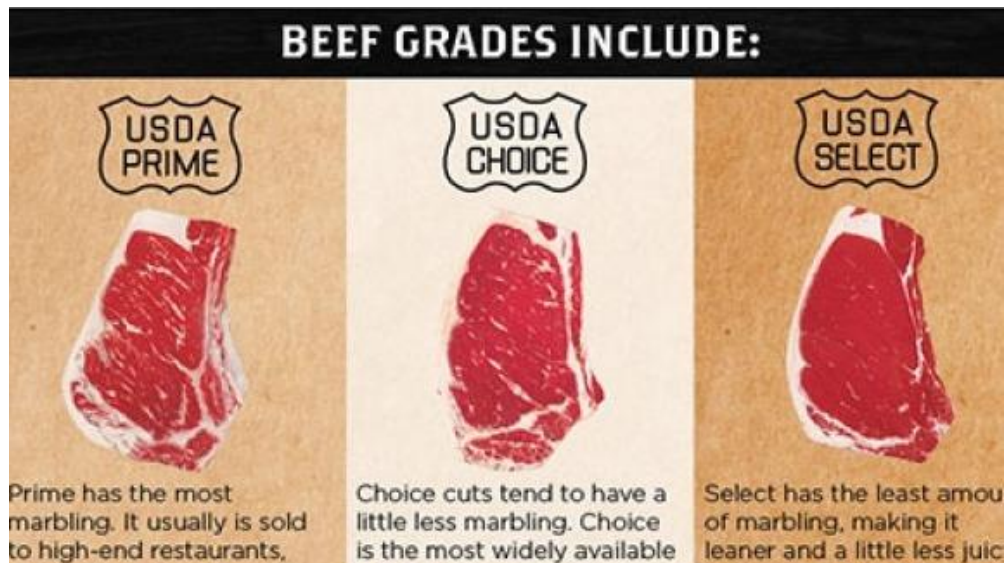
Σύμφωνα με την USDA (United States Department of Agriculture) οι βαθμοί ποιότητας βασίζονται σε δύο πολύ σημαντικούς παράγοντες. Ο πρώτος παράγοντας είναι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (τρυφερότητα, χυμώδες, γεύση) και ο δεύτερος παράγοντας αφορά στη μαρμάρωση του (Meadows, 2019).

Η ταξινόμηση κατά USDA χρησιμοποιείται ως δείκτης ασφάλειας υψηλής ποιότητας για το Αμερικανικό βόειο κρέας. Οι βαθμοί ποιότητας χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία βόειου κρέατος κάνοντας τις επιχειρηματικές συναλλαγές ευκολότερες και είναι ζωτικής σημασίας για την υποστήριξη της αγροτικής οικονομίας (Meadows, 2019).

Υπάρχουν οκτώ διαφορετικοί βαθμοί ταξινόμησης κατά USDA:

- ✓ Prime
- ✓ Choice
- ✓ Select
- ✓ Standard
- ✓ Commercial
- ✓ Utility
- ✓ Cutter
- ✓ Canner

Το Prime χαρακτηρίζει το κρέας υψηλής ποιότητας ενώ το Canner το χαμηλής ποιότητας κρέας. Μιλώντας για μπριζόλες η προσοχή στρέφεται στο Prime, Choice και Select όπως φαίνεται στη εικόνα 3.



Εικόνα 3. Οι σημαντικότεροι βαθμοί ταξινόμησης του βόειου κρέατος (Πηγή: <https://beef2live.com/story-beef-quality-grades-eight-97-103755>).

Το κύριο κριτήριο που χρησιμοποιεί η USDA όταν βαθμολογεί το βόειο κρέας είναι το ενδομυϊκό λίπος και η ωριμότητα του κρέατος (Meadows, 2019).

Το χρώμα και η υφή του βόειου κρέατος επίσης λαμβάνονται υπόψιν όταν αυτό βαθμολογείται (Meadows, 2019).

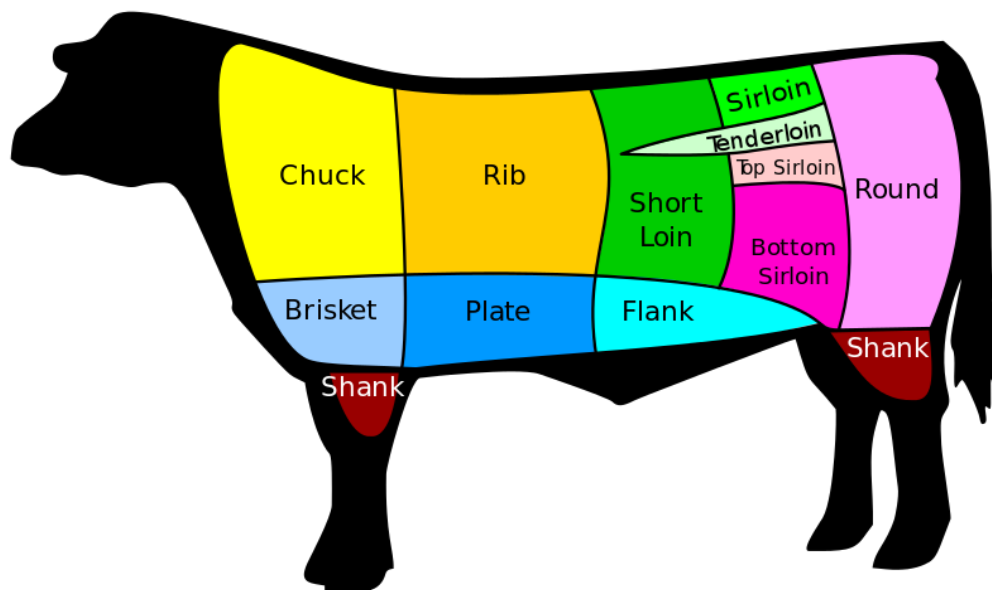
Η ταξινόμηση Prime είναι η καλύτερη ποιότητα βόειου κρέατος που υπάρχει. Έχει το περισσότερο ενδομυϊκό λίπος που το καθιστά τρυφερό, χυμώδες και του δίνει πλούσια γεύση (Meadows, 2019).

Οι Select μπριζόλες έχουν έλλειψη ενδομυϊκού λίπους. Σε σύγκριση με το Choice και το Prime είναι λιγότερο χυμώδες και λιγότερο γευστικό εξαιτίας της έλλειψης μαρμάρωσης (Meadows, 2019).

Οι Choice μπριζόλες έχουν περισσότερο ενδομυϊκό λίπος από το βαθμό Select αλλά έχουν λιγότερη μαρμάρωση από τις Prime μπριζόλες (Meadows, 2019).

Στη συνέχεια ακολουθεί τεμαχισμός σε ημιμόρια και τεταρτημόρια και ακολούθως μπαίνουν στους θαλάμους για ωρίμανση, σύμφωνα με συγκεκριμένες και ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και κίνησης του αέρα όπως ήδη αναφέρθηκε. Πολύ βασικό είναι στους θαλάμους να υπάρχουν σε εμφανές σημείο καταγραφικά των συνθηκών που επικρατούν για να είναι εύκολος και ο έλεγχος τους, όταν αυτός απαιτείται (Clemente et al., 2011).

Μπορεί να γίνει και επιπλέον τεμαχισμός σε μικρότερα τεμάχια όπως φαίνεται και στην εικόνα 4 όπου παρουσιάζονται οι κυριότερες κοπές και στη συνέχεια γίνεται η αποθήκευσή τους στους θαλάμους όπως φαίνεται και στην εικόνα 6.



*Εικόνα 4. Οι κυριότερες κοπές βόειου κρέατος
(Πηγή: <https://www.pandespani.com/syntages/kreas/meat-cuts-english-greek/>).*

Chuck: Τράχηλος ή ελιά. Πρόκειται για μαλακό, νόστιμο κομμάτι μοσχαριού.

Rib: Μπριζόλες. Από τον 7^ο - 13^ο σπόνδυλο παίρνουμε την κυρίως μπριζόλα ή Ribeye. Συχνά όμως η Ribeye περιορίζεται από τον 8^ο – 12^ο σπόνδυλο.

Tenderloin: Φιλέτο. Είναι ο πιο μαλακός και τρυφερός μυς γιατί βρίσκεται στο εσωτερικό.

Short loin: Κόντρα φιλέτο. Γνωστό και ως T-bone. Πρόκειται για ένα ενιαίο τεμάχιο που από τη μια του πλευρά βρίσκεται το φιλέτο και από την άλλη μια λωρίδα μπριζόλας. Στη μέση βρίσκεται ένα κόκκαλο σε σχήμα T.

Top Sirloin: Κιλότο. Πρόκειται για το σημείο από τον τελευταίο οσφυϊκό σπόνδυλο ως τη λεκάνη.

Sirloin: Η άκρη του κιλότου (κόντρα).

Plate: Λάπα (κοιλιά).

Flank: Η άκρη της λάπας.

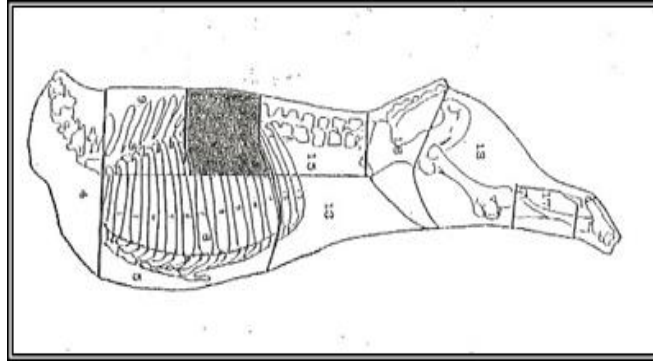
Brisket: Στήθος. Είναι το πιο λιπαρό μέρος και περιέχει αρκετά οστά και συνδετικό ιστό.

Round: Στρογγυλό. Πρόκειται για το πρόσθιο εξωτερικό τμήμα του μηρού που εκτείνεται μέχρι το γόνατο. Ιδιαίτερα τρυφερό κρέας με χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος.

Shank: Ποντίκι. Το κρέας από το κότσι του ποδιού. Πρόκειται για σκληρό κρέας.

Bottom Sirloin: Κόντρα (φιλέτο) (<https://barbq.com.gr/kopes-kreatos-barbq/>).

Στην χώρα μας υποβάλλεται σε διαδικασία ξηρής ωρίμανσης κυρίως το τεμάχιο μπριζόλες και δευτερευόντως το τεμάχιο κόντρα. Το τεμάχιο μπριζόλες έχει ως οστέινο υπόβαθρο τα άνω τμήματα των 7-11 οστέινων πλευρών και τα ημίσεια των αντίστοιχων θωρακικών σπονδύλων και περιλαμβάνει κυρίως τους θωρακοσφυϊκούς μύες (τμήμα του πλατέος ραχιαίου, μέσο τμήμα της ενιαία μάζας και τμήματα των έξω και έσω μεσοπλευρίων μυών) (Αντωνόπουλος, 2002) (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Τεμάχιο «μπριζόλες» σε σχηματογράφημα της εξωτερικής όψεως ημιμορίου σφαγίου βοοειδούς σύμφωνα με το Π.Δ. 186/81

Τα τρόφιμα για να θεωρηθούν ασφαλή ως προς την κατανάλωση τους θα πρέπει να μην περιέχουν παθογόνους μικροοργανισμούς ή καλύτερα οι πληθυσμοί των παθογόνων μικροοργανισμών να είναι χαμηλότεροι από ένα όριο ασφάλειας. Για το λόγο αυτό έχουν οριστεί στα τρόφιμα οι «δείκτες» όπου είναι ο πληθυσμός κάποιων μικροοργανισμών (Πεξαρά και συν., 2016).

Οι μικροβιολογικοί αυτοί δείκτες είναι ειδικοί για κάθε είδος τροφίμου και τα όρια τους καθορίζονται από το είδος του τροφίμου. Οι κυριότερες ομάδες μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως δείκτες είναι:

- ✓ Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα
- ✓ Εντεροβακτήρια
- ✓ Κολοβακτηρίδια
- ✓ Εντερόκοκκοι
- ✓ *Bifidobacteria* (Πεξαρά και συν., 2016).



Εικόνα 6. Τεμαχισμός και διατήρηση στο θάλαμο ξηρής ωρίμανσης (Πηγή: <https://www.alamy.com/stock-photo/dry-aged-beef.html>).

1.1.3) Η διαδικασία της ξηρής ωρίμανσης

Σχετικά με τις συνθήκες που πρέπει να τηρούνται οι κυριότερες παράμετροι είναι:

- **Διάρκεια:** Οι απόψεις είναι πολλές και διαφορετικές γύρω από το θέμα αυτό. Σύμφωνα με τη επικρατέστερη, πρέπει να κυμαίνεται από 28-55 μέρες, παρά το γεγονός ότι έχουν εφαρμοστεί διαφορετικοί χρόνοι (από 14 έως 80 ημέρες) και έχει μελετηθεί η επίδραση τους στους χρόνους αυτούς (USMEF, 2014; Dashdorj et al., 2016). Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές από 14-40 ημέρες είναι ο χρόνος που απαιτείται για να δώσει τα επιθυμητά αποτελέσματα η διαδικασία ξηρής ωρίμανσης (Savell et al., 2007; Dashdorj et al., 2016). Σε άλλη έρευνα που έγινε βρέθηκε ότι για την πλειοψηφία των προϊόντων χρειάστηκαν 21 ημέρες για να επιτευχθεί η διαδικασία ξηρής ωρίμανσης. Επίσης βρέθηκε ότι σε προϊόντα 28 ημερών ξηρής ωρίμανσης δεν υπήρχε σημαντική αύξηση της γεύσης σε σύγκριση με αυτή των 21 ημερών (Dashdorj et al., 2016; Degreer et al., 2019). Τελευταία όλο και περισσότεροι αναζητούν τρόπους να ανακαλύψουν νέες γεύσεις δοκιμάζοντας μεγαλύτερους χρόνους όπως 35,42,56,75 ή και περισσότερο (Dashdorj et al., 2016).

Επίσης η διάρκεια της ωρίμανσης εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Όσο αυξάνεται ο χρόνος ωρίμανσης, τόσο μικρότερες θερμοκρασίες επιλέγονται. Ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία που θα επιλεγεί η τρυφερότητα αυξάνεται στα αρχικά στάδια της ωρίμανσης και μειώνεται όσο περνά ο χρόνος (Dashdorj et al., 2016).

- **Θερμοκρασία:** Η θερμοκρασία είναι ένα κρίσιμο σημείο για την ξηρή ωρίμανση. Θεωρείται ιδανική όταν κυμαίνεται από 0-4°C. Εξαρτάται κυρίως από το χρόνο ωρίμανσης. Έτσι όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος ξηρής ωρίμανσης, επιλέγονται μικρότερες θερμοκρασίες για λόγους που αφορούν την ασφάλεια (Farmer-Stockman, 2011; Dashdorj et al., 2016). Σε περίπτωση αύξησης της θερμοκρασίας προωθείται η βακτηριακή ανάπτυξη οπότε η διαδικασία της ξηρής ωρίμανσης γίνεται σε όσο το δυνατόν μικρότερες θερμοκρασίες χωρίς να παγώνει το κρέας (Savell, 2008; AMPC & MLA, 2010; Dashdorj et al., 2016). Επίσης έχει βρεθεί ότι αν η θερμοκρασία είναι μικρότερη της θερμοκρασίας ψύξης, οι ενζυματικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα επιβραδύνονται με αποτέλεσμα το κρέας να μην αποκτά τα επιθυμητά χαρακτηριστικά (AMPC & MLA, 2010; Perry, 2012; Dashdorj et al., 2016).

- **Σχετική υγρασία:** Η σχετική υγρασία διαδραματίζει επίσης κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία ξηρής ωρίμανσης. Αν η υγρασία είναι αυξημένη, τα αλλοιογόνα βακτήρια μπορούν να βρουν πρόσφορο έδαφος για να αναπτυχθούν, κάτι το οποίο θα είχε δυσμενείς επιπτώσεις στη γεύση. Από τη άλλη αν η υγρασία είναι πολύ χαμηλή περιορίζει την βακτηριακή ανάπτυξη, αλλά ευνοεί την εξάτμιση με απώλειες στο βάρος του κρέατος. Έτσι το κρέας θα αφυδατωθεί πολύ γρήγορα εξωτερικά με αποτέλεσμα να μην έχει το επιθυμητό χυμώδες του (Perry, 2012; Dashdorj et al., 2016). Παρόλο που έχουν δοκιμαστεί συνθήκες υγρασίας από 61 - 85%, χρησιμοποιούνται επίπεδα από 75-80%, γιατί σύμφωνα με μελέτες αυτά τα επίπεδα υγρασίας προσδίδουν στο κρέας τα επιδιωκόμενα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Smith et al., 2008; Perry, 2012).

- **Ροή αέρα:** Η ροή του αέρα επηρεάζει τη διαδικασία της ξηρής ωρίμανσης γι' αυτό θα πρέπει να υπάρχει σε επάρκεια ώστε να παρέχεται η κυκλοφορία του σε όλα τα σημεία. Σε περίπτωση που δεν υπάρχει επαρκής αέρα, το κρέας δεν μπορεί να απομακρύνει την απαραίτητη υγρασία για να επιτευχθεί η διαδικασία ξηρής ωρίμανσης. Από την άλλη αν υπάρχει πολύς αέρας, το κρέας θα αφυδατωθεί πολύ γρήγορα και θα αυξηθούν οι απώλειες αποκοπής στο τελικό προϊόν (Dashdorj et al., 2016; Savell, 2008). Η ταχύτητα του αέρα πρέπει να είναι από 0,5-2 m/sec. Είναι μία πολύ σημαντική παράμετρος και γι' αυτό θα πρέπει να δίνεται μεγάλη σημασία στον σχεδιασμό των χώρων ψύξης και στη τοποθέτηση των τεμαχίων (Baird, 2008; USMEF, 2014; Dashdorj et al., 2016). Για να αποφευχθεί οποιαδήποτε αλλοίωση, τα τεμάχια κρέατος θα πρέπει να βρίσκονται σε αρκετή απόσταση μεταξύ τους έτσι ώστε να επιτρέπεται επαρκής και ελεγχόμενη κυκλοφορία αέρα (USMEF, 2014; Dashdorj et al., 2016). Σημαντικό είναι το γεγονός ότι πριν τη διάθεση του στον καταναλωτή αφαιρείται το επιφανειακό στρώμα, σε έκταση που είναι ανάλογη του χρόνου ωρίμανσης (αποκοπή, trimming) (Dashdorj et al., 2016).

1.2) Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Σύμφωνα με αρκετές μελέτες έχει βρεθεί ότι η ξηρή ωρίμανση έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του κρέατος, κυρίως του αρώματος και της γεύσης (Warren & Kastner, 1992; Campbell et al., 2001; Corbin et al., 2015; Berger et al., 2018).

1.2.1) Γεύση

Το άρωμα-γεύση είναι το σημαντικότερο χαρακτηριστικό. Κατά τη διαδικασία της ξηρής ωρίμανσης οι χυμοί απορροφώνται από το κρέας, υπάρχει ομοιόμορφη κατανομή των πρωτεϊνών και του λίπους και αυτό οδηγεί στη βελτίωση της γεύσης (Warren & Kastner., 1992; Savell., 2008; Dashdorj et al., 2016). Η βελτίωση της γεύσης εν μέρει οφείλεται στη μείωση σακχάρων, απελευθέρωση αμινοξέων και πεπτιδίων (Spanier et al., 1997; Mottarm et al., 2013; Dashdorj et al., 2016). Κάποιες από αυτές τις αλλαγές οφείλονται στις υδρολυτικές διεργασίες κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης. Όμως οι σημαντικότερες αλλαγές συνδέονται με πρωτεϊνολυτικής φύσεως διεργασίες όπου τα ένζυμα διασπούν τις πρωτεΐνες σε πεπτίδια και αμινοξέα. Τα αμινοξέα που ελευθερώνονται είναι υπεύθυνα για αυτή τη γλυκιά γεύση, ενώ αυτά περιέχουν και γλουταμινικό και ασπαριγινικό που συνδέονται με τη γεύση umami. Επιπλέον οι υδατάνθρακες διασπούν τα σάκχαρα, ενώ τα λιπαρά μετατρέπονται σε αρωματικά λιπαρά οξέα (Nishimura et al., 1998; Perry, 2012; Dashdorj D. et al., 2015; Dashdorj et al., 2016). Κατά τη διάρκεια μαγειρέματος οι γεύσεις αλληλεπιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας πτητικές ενώσεις που εμπλουτίζουν το άρωμα ακόμη περισσότερο (Dashdorj et al., 2016; Khan et al., 2016). Σύμφωνα με κάποιες έρευνες βρέθηκε ότι η γεύση επιτυγχάνεται μετά τις 14 ημέρες και εντείνεται στην πορεία. Όσο περισσότερο διαρκεί η ξηρή ωρίμανση τόσο πιο έντονες και πολύπλοκες γίνονται οι γεύσεις (Bischoff, 1984; Blilie et al., 2012; Dashdorj et al., 2016). Σε κάποιες μελέτες βρέθηκε ότι θα μπορούσαν να δημιουργηθούν και ανεπιθύμητες γεύσεις λόγω βακτηριακής ανάπτυξης ή τάγγισης του λίπους (Garlough et al., 2012; Dashdorj et al., 2016).

1.2.2) Τρυφερότητα

Ένα άλλο σημαντικό οργανοληπτικό χαρακτηριστικό είναι η τρυφερότητα. Αυτή οφείλεται κυρίως στη δράση των ενζύμων (Καλπαίνες) (Savell, 2008; Πεξαρά, 2019). Σύμφωνα με αρκετές μελέτες η τρυφερότητα του κρέατος αυξάνεται, όσο αυξάνεται ο χρόνος ωρίμανσης με μείωση της δύναμης διατομής (shear force) (Lepper-Blilie et al., 2013; Dashdorj et al., 2016; Πεξαρά, 2019). Στη βελτίωση της τρυφερότητας σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν παράγοντες όπως η θερμοκρασία, το pH, τα τεμάχια κρέατος, η διάρκεια και η ηλικία (Lepper-Blilie, 2013; Πεξαρά, 2019).

Σε μια περίοδο ξηρής ωρίμανσης 4 εβδομάδων η θερμοκρασία που επιλέγεται είναι -0,5 °C, ενώ αν η διάρκεια ξηρής ωρίμανσης είναι 2 εβδομάδες επιλέγεται θερμοκρασία 5°C, που σημαίνει ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος ωρίμανσης επιλέγονται μικρότερες θερμοκρασίες, κυρίως για λόγους ασφάλειας. Ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία που επιλέγεται, η τρυφερότητα του κρέατος αυξάνεται κατά τα αρχικά στάδια της ξηρής ωρίμανσης και μειώνεται με το χρόνο (Dashdorj et al., 2016).

Το pH του κρέατος είναι ακόμη ένας παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την βελτίωση της τρυφερότητας. Ιδανικό θεωρείται όταν κυμαίνεται από 5,4-5,74 (AMPC & MLA., 2010; Perry, 2012; Πεξαρά, 2019).

Τα τεμάχια του κρέατος που θα επιλεγούν παίζουν σημαντικό ρόλο στην τρυφερότητα του κρέατος και εξαρτάται από το είδος της μυϊκής ομάδας, την ποσότητα του συνδετικού ιστού που υπάρχει, καθώς επίσης και από το χρώμα.. Αυτό συμβαίνει γιατί, διαφορετικές μυϊκές ομάδες απαιτούν διαφορετικό χρόνο ξηρής ωρίμανσης για να επιτευχθεί η κατάλληλη τρυφερότητα σύμφωνα με τις προσδοκίες των καταναλωτών (Bratcher et al., 2005; Monson et al., 2005; Khan et al., 2016). Σχετικά με το χρώμα, το σκούρο κρέας ωριμάζει πιο δύσκολα σε σχέση με ένα πιο ζωηρό κόκκινο τεμάχιο κρέατος.

Σύμφωνα με έρευνες σε μπριζόλες ξηρής ωρίμανσης 14 ημερών η τρυφερότητα ήταν περισσότερο αυξημένη συγκρινόμενη με εκείνες των 7 ημερών (Campbell et al., 2001; Dashdorj et al., 2016), ενώ η διαφορά ήταν εμφανώς αισθητή στις 28 ημερών μπριζόλες όπου απέκτησαν το μέγιστο της ωρίμανσης (Lepper-Blilie., 2013; Dashdorj et al., 2016).

Η ηλικία του ζώου είναι ακόμη ένας παράγοντας που διαδραματίζει τον ρόλο του. Έχει βρεθεί ότι στο κρέας που προέρχεται από μεγαλύτερης ηλικίας ζώα παρουσιάζει μεγαλύτερη τρυφερότητα σε σύγκριση με το κρέας που προερχόταν από μικρότερης ηλικίας ζώα (Campbell et al., 2001; Dashdorj et al., 2016).

Από την άλλη υπάρχει και μια μερίδα ερευνητών οι οποίοι δεν υιοθετούν την άποψη αυτή και θεωρούν ότι 14 ημέρες είναι αρκετές ώστε η τρυφερότητα να αποδώσει το μέγιστο (Warren & Kastner, 1992). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης οι μυϊκές ίνες μετουσιώθηκαν ή καταστράφηκαν. Δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στο κρέας ξηρής ωρίμανσης 14 ημερών, ενώ μετά τις 21 ημέρες υπήρξε ακόμη μεγαλύτερη καταστροφή της δομής των μυϊκών ινών (Gudjonsdottir et al., 2015; Dashdorj et al., 2016).

1.2.3) Χυμώδες

Ένα εξίσου σημαντικό οργανοληπτικό χαρακτηριστικό είναι το χυμώδες του κρέατος. Μελέτες έχουν δείξει ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος ωρίμανσης αυξάνεται και το χυμώδες του. Το χυμώδες ήταν αυξημένο σε κρέας 21 ημερών συγκριτικά με εκείνο των 14 ημερών (Campbell et al., 2001; Dashdorj et al., 2016). Σε άλλη έρευνα διαπιστώθηκε ότι το κρέας μετά το μαγείρεμα είχε πολύ πιο αυξημένη την αίσθηση του χυμώδους σε σχέση με πριν (Degreer et al., 2009; Lam., 2013; Dashdorj et al., 2016). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην απώλεια της ικανότητας συγκράτησης ύδατος, με αποτέλεσμα την αυξημένη αίσθηση χυμώδους κατά τη μάσηση. Η απώλεια υγρασίας κατά τη διάρκεια ξηρής ωρίμανσης αυξάνει την αναλογία λίπους και αυτό οδηγεί στο να συγκεντρώνονται όλες οι γεύσεις όταν αυτό καταναλώνεται (Degreer et al., 2019; Lam, 2013; Dashdorj et al., 2016).

1.2.4) Χρώμα

Το χρώμα στην επιφάνεια του κρέατος είναι κρίσιμη παράμετρος που σχετίζεται με το κατά πόσον αυτό μπορεί να είναι εμπορεύσιμο (Khan et al., 2016). Για πολλούς καταναλωτές το χρώμα είναι κριτήριο ποιότητας, θεωρώντας πως το έντονο κόκκινο χρώμα (εικόνα 6), σχετίζεται και με το κατά πόσον αυτό είναι φρέσκο (Khan et al., 2016). Το χρώμα στο νωπό κρέας οφείλεται στη μυοσφαιρίνη που είναι και η κυριότερη χρωστική. Η μυοσφαιρίνη που υπάρχει στο κρέας εξαρτάται από διάφορους παράγοντες (Khan et al., 2016). Οι αλλαγές στο χρώμα κατά τη διάρκεια συντήρησης του οφείλεται στη μετατροπή της μυοσφαιρίνης σε οξυμυοσφαιρίνη και μεταμυοσφαιρίνη (Γαβριήλ, 2009). Στο νωπό κρέας οι αντιδράσεις αυτές βρίσκονται σε ισορροπία. Αύξηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στο περιβάλλον έχει ως αποτέλεσμα την οξειδωση της μυοσφαιρίνης σε οξυμυοσφαιρίνη και ως εκ τούτου το κρέας αποκτά έντονο κόκκινο χρώμα, ενώ μια μείωση του οξυγόνου έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή της μυοσφαιρίνης και το σχηματισμό της μεταμυοσφαιρίνης (Γαβριήλ, 2009). Στο νωπό κρέας οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια του δεδομένου ότι το οξυγόνο είναι αυξημένο οπότε η διείδυση στο εσωτερικό του είναι μηδαμινή. Καθώς όμως περνούν οι ημέρες συντήρησης το οξυγόνο καταναλώνεται από τη μικροβιακή χλωρίδα με αποτέλεσμα το οξυγόνο να εισχωρεί στο εσωτερικό του κρέατος (Γαβριήλ, 2009). Η μεταμυοσφαιρίνη ανευρίσκεται σε περιοχές όπου η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι χαμηλή. Είναι συνήθως παρούσα μεταξύ του εσωτερικού του κρέατος και της ζώνης που έρχεται σε επαφή στην επιφάνεια που βρίσκεται η οξυμυοσφαιρίνη. Με την πάροδο του χρόνου το στρώμα της επεκτείνεται και γίνεται εμφανής κάτω από το λεπτό στρώμα της οξυμυοσφαιρίνης, που αντίστοιχα μειώνεται.

Ο χρόνος που απαιτείται για τον σχηματισμό της οξυμυοσφαιρίνης είναι ελάχιστος σε αντίθεση με την μεταμυοσφαιρίνη που απαιτεί πολύ περισσότερο χρόνο και το αποτέλεσμα της είναι να αποκτά το κρέας χρώμα καφέ-κόκκινο, όπως φαίνεται και στην εικόνα 7 (Γαβριήλ, 2009). Η διάρκεια της ωρίμανσης επηρεάζει το χρωματισμό του κρέατος, με αποτέλεσμα όσο παρατείνεται ο χρόνος το κρέας αποκτά πιο σκούρο κόκκινο χρώμα. Η υδρόλυση των πρωτεϊνών έχει ως αποτέλεσμα να παράγονται διαφορετικά αμινοξέα που μπορεί να οδηγήσουν και σε αύξηση του pH (Gasperlin et al., 2001; Jayasooriya et al., 2007; Khan et al., 2016), αφυδατώνοντας την επιφάνεια του (Kim & Hunt, 2011).



Εικόνα 7. Έντονο κόκκινο χρώμα νωπού κρέατος (Πηγή:<https://www.alamy.com/stock-photo/dry-aged-beef.html>).



Εικόνα 8. Σκούρο κόκκινο-καφέ χρώμα κατά τη διάρκεια ωρίμανσης (Πηγή:<https://www.istockphoto.com/photos/dry-aged-beef>)

1.3) Απώλειες

Η μέθοδος ξηρής ωρίμανσης έχει σημαντικές απώλειες. Οι απώλειες αυτές οφείλονται σε διάφορους λόγους εκ των οποίων η αφυδάτωση και η αποκοπή συνιστούν τους δύο πιο σημαντικούς. Ο πρώτος λόγος είναι κυρίως η αφυδάτωση που υφίσταται το κρέας στις συνθήκες διατήρησης που αναφέρθηκαν και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να είναι πιο ακριβό σε σύγκριση με το βόειο κρέας υγρής ωρίμανσης (Parrish et al., 1991 Smith et al., 2008;). Η αφυδάτωση επηρεάζεται από την ικανότητα συγκράτησης ύδατος, το pH, και τις συνθήκες συντήρησης του.

Ως ικανότητα συγκράτησης ύδατος ορίζεται, η ικανότητα του κρέατος να προσλαμβάνει μια ποσότητα ξένου νερού να το δεσμεύει και να το συγκρατεί μαζί με το δικό του, έστω και αν ασκηθεί στο μυϊκό ιστό κάποια σχετική πίεση όπως είναι ο τεμαχισμός ή κατά την θέρμανση (Παπαβέργου, 2014). Η ικανότητα συγκράτησης ύδατος και το χρώμα σχετίζονται με το pH και χρησιμοποιούνται ως δείκτες ποιότητας του κρέατος (Khan et al., 2016). Η ικανότητα συγκράτησης ύδατος του κρέατος αυξάνεται από την παρουσία κολλαγονολυτικών ενζύμων και πρωτεϊνών των μυϊκών ινών που προκαλούν καταστροφή του συνδετικού ιστού (Khan et al., 2016).

Το pH του κρέατος σχετίζεται με την ικανότητα των μυϊκών ιών να συγκρατούν νερό οπότε αυτό καθιστά ιδιαίτερα σημαντικό. Κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης τα ιόντα υδρογόνου συσσωρεύονται και αυτό οδηγεί σε πτώση του pH. Η ικανότητα των πρωτεϊνών των μυϊκών ιών να συγκρατούν το νερό μειώνεται καθώς μειώνεται το pH και φτάνει προς το ισοηλεκτρικό τους σημείο. Όταν το pH φτάσει το ισοηλεκτρικό σημείο ο αριθμός των θετικών και αρνητικών ιόντων βρίσκεται σε ισορροπία και επιτρέπει στις πρωτεΐνες να ενωθούν, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο διαθέσιμος χώρος για νερό εντός των μυϊκών ιών και το ποσό του ύδατος που μπορεί να συγκρατηθεί.

Από την άλλη όταν οι πρωτεΐνες έχουν μεγάλο φορτίο, η δομή τους έχει την ικανότητα να επεκτείνεται εξαιτίας της χαρακτηριστικής τους ιδιότητας να μπορούν να απωθούν επιπλέον φορτίο. Ως εκ τούτου το νερό μπορεί να διηθηθεί εντός των μυϊκών ιών, κάτι το οποίο αυξάνει την ικανότητα συγκράτησης του ύδατος (Huff-Lonergan & Lonergan., 2005; Ribeiro et al., 2021). Επίσης η θερμοκρασία, σχετική υγρασία, κυκλοφορία του αέρα και ο χρόνος ξηρής ωρίμανσης θα πρέπει να βρίσκονται σε ισορροπία γιατί επηρεάζουν τον βαθμό αφυδάτωσης (Savell, 2008; Ribeiro et al., 2021). Έρευνες έχουν δείξει ότι ολόκληρο σφάγιο μετά από 14 ημέρες ξηρής ωρίμανσης είχε 4-6% απώλεια, ενώ σε τεμάχια κρέατος βρέθηκε απώλεια 3,31- 4,74% (Parrish et al., 1991; Khan et al., 2016).

Παράλληλα όσο επιμηκύνεται ο χρόνος ξηρής ωρίμανσης τόσο αυξάνονται και οι απώλειες (Lemenager, 2002; Dashdorj et al., 2016). Ο δεύτερος λόγος που υπάρχουν απώλειες οφείλεται στη διαδικασία αποκοπής του κρέατος (trimming), πριν διατεθεί στον καταναλωτή. Ενδεικτικά, η διαδικασία ξηρής ωρίμανσης οδήγησε σε μία σημαντική απώλεια στο λιανικό εμπόριο (περίπου 43%), εξαιτίας της αφυδάτωσης της επιφάνειας και της ανάγκης αποκοπής του σκούρου χρώματος από την επιφάνεια του κρέατος (Ha et al., 2019). Η έκταση των απωλειών βρίσκεται σε συνάρτηση με την κάλυψη λίπους, τα οστά, την ποιότητα του τεμαχίου και τις συνθήκες διατήρησης του (Parrish et al., 1991; Πεξαρά, 2019). Τεμάχια κρέατος που έχουν εξωτερικά λεπτό στρώμα λίπους, θα χάσουν λιγότερη υγρασία από τεμάχια με παχύτερο στρώμα λίπους, λόγω του γεγονότος ότι το λίπος προστατεύει από την αφυδάτωση (Warren & Kastner, 1992; Dashdorj et al., 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

Τα τρόφιμα φέρουν μικροοργανισμούς γιατί είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά και μπορούν να μολυνθούν εύκολα. Οι μικροοργανισμοί είτε αποτελούν μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του τροφίμου είτε βρίσκονται στο τρόφιμο εξαιτίας της μόλυνσης του κατά το στάδιο παραγωγής/παρασκευής ή κατά τη συντήρηση και διακίνηση του. Για να αλλοιωθεί ένα τρόφιμο το οποίο έχει μολυνθεί από μικροοργανισμούς θα πρέπει τα μικρόβια να αυξηθούν σε αριθμό. Οι παράγοντες που μπορούν να αυξήσουν ή να μειώσουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών μπορεί να είναι (Πεξαρά και συν., 2016):

I. Ενδογενείς που σχετίζονται με το είδος και τη σύνθεση των τροφίμων.

- ✓ pH
- ✓ Νερό
- ✓ Οξυγόνο
- ✓ Οξειδοαναγωγικό δυναμικό
- ✓ Θρεπτικά συστατικά
- ✓ Αντιμικροβιακοί παράγοντες

- ✓ Ανταγωνιστική χλωρίδα
- ✓ Βιολογικές δομές (Πεξαρά και συν., 2016).

II. Εξωγενείς που έχουν να κάνουν με την επεξεργασία, τον χειρισμό και τη συντήρηση των τροφίμων.

- ✓ Θερμοκρασία συντήρησης
- ✓ Συνθήκες συντήρησης
- ✓ Σχετική υγρασία
- ✓ Συσκευασία
- ✓ Παρουσία και δράση άλλων μικροοργανισμών

Οι παράγοντες αυτοί είναι αλληλοεξαρτώμενοι και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (Πεξαρά και συν., 2016).

2) Μικροβιολογική χλωρίδα στο κρέας ξηρής ωρίμανσης

Ελάχιστα είναι τα δεδομένα για την ποικιλομορφία και τα χαρακτηριστικά της μικροβιακής χλωρίδας του κρέατος ξηρής ωρίμανσης, κυρίως όσο αφορά τους μύκητες, τις ζύμες και τα οξυγαλακτικά βακτήρια, και το πως αυτοί οι μικροοργανισμοί διαμορφώνονται κατά τη διάρκεια της παραγωγής του. Ιδιαίτερα στη χώρα μας, παρά την ευρεία αποδοχή αυτών των προϊόντων, μέσα από την αναζήτηση της βιβλιογραφίας, δεν υπάρχουν καθόλου δεδομένα για τη μικροβιακή χλωρίδα του κρέατος ξηρής ωρίμανσης, κυρίως όσο αφορά τον πληθυσμό και το είδος των ζυμών, των μυκήτων, και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της ξηρής ωρίμανσης.

Για την διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η διαμόρφωση της μικροβιακής χλωρίδας κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (Dashdorj et al, 2016). Σε παγκόσμια κλίμακα έχουν πραγματοποιηθεί ορισμένες μελέτες στις οποίες αξιολογούνται τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του βόειου κρέατος ξηρής ωρίμανσης (Dashdorj et al., 2016; Ryu et al., 2018; Bernardo et al., 2019; Oh et al., 2019).

2.1) Βακτηριακή ανάπτυξη

Κατά την διαδικασία ξηρής ωρίμανσης υπάρχει περιορισμένη βακτηριακή ανάπτυξη κυρίως λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών συντήρησης, ενώ η χαμηλή τιμή του συντελεστή ενεργού ύδατος ($\Sigma EY, a_w$) στο εξωτερικό στρώμα αφυδάτωσης, φαίνεται πως επηρεάζει και αυτή σημαντικά την ανάπτυξη βακτηρίων (Nicholson et al., 2008; Smith et al., 2008; Dashdorj et al., 2016; Πεξαρά, 2019).

2.2) Ζύμες-Μύκητες

Ο καταγεγραμμένος αριθμός των μυκήτων ανέρχεται σε περίπου 95.000, ενώ υπολογίζεται πως τα υπάρχοντα είδη ξεπερνούν το 1,5 εκατομμύριο. Μόλις το 5% του συνολικού αριθμού είναι τα γνωστά είδη μυκήτων (Σκαρλάτος, 2018). Πρόκειται για ευκαρυωτικούς, ετερότροφους, μονοκύτταρους ή πολυκύτταρους οργανισμούς (μονοκύτταρους οργανισμούς αποτελούν οι ζύμες). Οι υφές αποτελούν το σώμα των

μυκήτων (λεπτά σωληνοειδή νημάτια), αυξάνονται κατά μήκος και έχουν την τάση να διακλαδίζονται προς όλες τις κατευθύνσεις και δημιουργούν το βλαστικό σώμα ή μυκήλιο (Σκαρλάτος, 2018).

Η πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων γίνεται με προσρόφηση από το εξωτερικό περιβάλλον μέσω του κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταρικής μεμβράνης (Σκαρλάτος, 2018).

Πολλαπλασιάζονται με επιμήκυνση στο άκρο της υψής τους (βλαστική αναπαραγωγή ή με σχηματισμό εγγενών (ασκοσπόρια, ζυγοσπόρια), ή αγενών (αρθροσπόρια, κονίδια, σποραγγειοσπόρια) σπορίων (Μπάκα, 2010; Πραγκαλάκη, 2011).

Με βάση τη μορφολογία τους ταξινομούνται σε:

- Ζυμομύκητες ή ζύμες ή βλαστομύκητες (yeasts).
- Μυκηλιακοί ή νηματοειδείς (molds).
- Δίμορφοι (25 °C μυκηλιακή μορφή, 37 °C ζυμομύκητες) (Σιώπη, 2018).

Είναι κυρίως αερόβιοι οργανισμοί, μπορούν να προσαρμοστούν και να επιζήσουν σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών κυρίως στην επιφάνεια του υποστρώματος, ακόμη και αν η υγρασία είναι χαμηλή (Μπάκα, 2010).

Τα κυριότερα γένη μυκήτων είναι: *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Wallemia*, *Xeromyces*, *Boytris*.
Ενώ τα κυριότερα γένη ζυμών είναι: *Candida*, *Saccharomyce*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Debaromyce*, *Bettanomyce* (Τζίντη, 2016).



Εικόνα 9. Ανάπτυξη μυκήτων σε τρυβλίο καλλιέργειας πετρί (Πηγή: <https://www.dreamstime.com/photos-images/petri-dish-mold.html>)

Η ανάπτυξη τους ευνοείται από την επίδραση ορισμένων συνθηκών. Η θερμοκρασία είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες. Είναι κοινώς αποδεκτό ότι οι μύκητες έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (0-60 °C), ενώ η ευνοϊκότερη θερμοκρασία για αυτούς είναι 10-35 °C. Μύκητες όπως ο *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* δείχνουν προτίμηση σε αυξημένες θερμοκρασίες, ενώ ο *Penicillium* που είναι ψυχρόφιλο χρειάζεται χαμηλές θερμοκρασίες (Ζόμα, 2017).

Η υγρασία είναι ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει την ανάπτυξη τους. Οι κατάλληλες συνθήκες ανάπτυξης τους είναι όταν η υγρασία είναι αυξημένη (πάνω από 70%) και η θερμοκρασία 20-30°C (Τζιαμουράνη, 2018). Από την άλλη μεριά η υγρασία σε έναν χώρο μπορεί να είναι μειωμένη αλλά να ευνοείται η ανάπτυξη μυκήτων με την προϋπόθεση ότι υπάρχει αυξημένη υγρασία σε μία επιφάνεια. Επιπρόσθετα όταν ένα τρόφιμο αποθηκεύεται σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας χάνει από μόνο του υγρασία (αφυδάτωση) με αποτέλεσμα ποιοτική υποβάθμιση και οικονομικές απώλειες (Τζίντη, 2016).

Επίσης η τιμή a_w (η ποσότητα νερού σε ένα τρόφιμο που είναι διαθέσιμη για τις ανάγκες ανάπτυξης των μικροοργανισμών) διαδραματίζει τον δικό της ρόλο. Κατά τη διαδικασία της ξηρής ωρίμανσης λόγω της παρατεταμένης αφυδάτωσης μειώνεται η τιμή a_w (Πραγκαλάκη, 2011). Οι περισσότεροι μύκητες αρχίζουν να αναπτύσσονται με a_w από 0,85-0,90. Αν η τιμή a_w φτάσει το 0,6 θεωρείται μικροβιολογικά ασφαλές γιατί δεν αναπτύσσονται μικροοργανισμοί (Τζιαμουράνη, 2018). Η τιμή a_w του τροφίμου επηρεάζεται από την υγρασία του περιβάλλοντος. Έτσι τρόφιμα με χαμηλή τιμή a_w όταν αποθηκεύονται σε περιβάλλον με αυξημένη υγρασία προσλαμβάνουν υγρασία για να μπορέσουν να αποκαταστήσουν την ισορροπία με αποτέλεσμα να αυξάνεται η τιμή a_w , ενώ το αντίθετο συμβαίνει σε τρόφιμα με υψηλή τιμή a_w που αποθηκεύονται σε περιβάλλον με χαμηλή υγρασία (Τζίντη, 2016).

Όσον αφορά το pH, η μείωση του σε τιμές που πλησιάζουν το ισοηλεκτρικό σημείο ευνοεί την απομάκρυνση νερού από το κρέας με συνέπεια τη μείωση a_w κάτω από 0,90 κάτι το οποίο συμβάλλει στη μικροβιολογική ασφάλεια του προϊόντος (Πραγκαλάκη, 2011). Για την ανάπτυξη τους απαιτείται κυρίως όξινο pH που κυμαίνεται από 3 μέχρι 5, με το βέλτιστο της ανάπτυξης τους παρατηρείται σε pH 5.

Από μελέτες που έχουν γίνει, οι ζύμες και οι μύκητες κατέχουν σημαντική θέση, τόσο για την μικροβιολογική ποιότητα και την ασφάλεια όσο και για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρέατος ξηρής ωρίμανσης. Για αυτό τον λόγο θεωρείται αναγκαίο τα προϊόντα ξηρής ωρίμανσης να ελέγχονται για το είδος των μυκήτων. Σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί (Primesafe, 2020), βρέθηκε ότι ο συχνότερος μύκητας που απαντάται στην επιφάνεια του κρέατος ξηρής ωρίμανσης είναι ο *Thamnidium* spp. και πιο συγκεκριμένα τα στελέχη *T. elegans* & *T. chaetocladioides*. Αυτός ο μύκητας είναι πολύ σημαντικός γιατί τα ένζυμα του έχουν την ικανότητα να εισχωρούν μέσα στο κρέας, βελτιώνοντας τη γεύση. Η δράση του μύκητα αυτού σχετίζεται με την απελευθέρωση πρωτεασών και κολλαγονολυτικών ενζύμων με αποτέλεσμα τη διάσπαση των μυϊκών ινών και του συνδετικού ιστού. Ως εκ τούτου η δράση αυτή αποφέρει τρυφερότητα και ιδιαίτερη γεύση στο κρέας (Dashdorj et al., 2016; Primesafe, 2020).

Άλλοι μύκητες που μπορούν να ανιχνευθούν στο κρέας ξηρής ωρίμανσης είναι αυτοί που ανήκουν στα γένη *Rhizopus*, *Mucor*, *Candida*, *Torulopsis*, *Penicillium*, *Monillia*, *Trichosporon*. Αυτοί οι μύκητες, εκτός από το ότι σχετίζονται με μολυσματικές ασθένειες των ανθρώπων και εγείρουν θέμα δημόσιας υγείας, φαίνεται ότι δεν συμβάλλουν και στα επιθυμητά χαρακτηριστικά για το κρέας ξηρής ωρίμανσης (Dashdorj et al., 2016; Ryu et al., 2018; Oh et al., 2019). Οι μύκητες μπορούν να προκαλέσουν αλλεργίες (με τον αέρα σπόρια μυκήτων εισχωρούν μέσω της αναπνευστικής οδού), είτε να προκαλέσουν μυκοτοξικώσεις. Ο μύκητας του γένους *Mucor* για παράδειγμα μπορεί να προκαλέσει μολύνσεις στους πνεύμονες, στον εγκέφαλο, στα μάτια και στο δέρμα. Ο μύκητας του

γένους *Penicillium* μπορεί να προκαλέσει νεφροπάθειες ενώ ο μύκητας του γένους *Candida* μπορεί να προκαλέσει την καντιντίαση (Λιόλου, 2009; Τζιαμουράνη, 2018).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι τοξίνες (μυκοτοξίνες) που παράγονται από ορισμένα γένη μυκήτων. Ως τοξίνη ορίζεται η ουσία που παράγεται στους ζωντανούς οργανισμούς ή στα κύτταρα, και μπορεί να προκαλέσει πρόβλημα υγείας στον καταναλωτή. Μυκοτοξίνες μπορούν να παράγουν οι μύκητες *Aspergillus* (εικόνα 9), *Fusarium*, *Penicillium*. Οι κυριότερες μυκοτοξίνες είναι οι αφλατοξίνες, φουμοσίνες και η ωχρατοξίνες. Πιο διαδεδομένη είναι η αφλατοξίνη που παράγεται από τον *Aspergillus* (εικόνα 9) (Σκαρλάτος, 2018). Όσον αφορά τις ωχρατοξίνες η πιο σημαντική είναι η ωχρατοξίνη Α αφού είναι η περισσότερο τοξική (Λιόλου, 2009). Παράγεται κυρίως από τους μύκητες του γένους *Penicillium* και *Aspergillus*. Η ωχρατοξίνη έχει νεφροτοξική, ανοσοκατασταλτική, τερατογόνο, μεταλλαξιογόνο και καρκινογόνο και ηπατοτοξική δράση (Λιόλου, 2009).



Εικόνα 10. Αποικία μύκητα του γένους *Aspergillus* σε τρυβλίο καλλιέργειας petri (Πηγή: <https://pxhere.com/en/photo/1583873>)

Η επίδραση των μυκοτοξινών σχετίζεται με καρκινογένεση, νεφροτοξικότητα, ηπατοτοξικότητα, αναπαραγωγικές και πεπτικές διαταραχές, διαταραχές ανοσοκαταστολής καθώς και δερματικές αλλοιώσεις (Τζιαμουράνη, 2018).

Η πρώτη εργασία που αξιολόγησε την παρουσία μυκήτων στην επιφάνεια του βόειου κρέατος ξηρής ωρίμανσης είναι αυτή των Ryu et al, (2018). Σύμφωνα με αυτή, βρέθηκε ότι κατά το αρχικό στάδιο της διαδικασίας ξηρής ωρίμανσης (~25 ημέρες), υπήρχαν ζύμες και μύκητες οι οποίοι θα μπορούσαν να γίνουν επιβλαβείς (*Candida* sp., *Cladosporium* sp., *R. glutinis* και *R. mucilaginosa*). Θετικό είναι το γεγονός ότι οι μικροοργανισμοί αυτοί δεν ανιχνεύτηκαν μετά από την παράταση της διάρκειας ξηρής ωρίμανσης (~60 ημέρες). Είναι γνωστό ότι αυτοί οι αλλοιογόνοι μύκητες είναι οι πιο γνωστοί στα προϊόντα κρέατος εξαιτίας των πιθανών τοξικών ιδιοτήτων τους αλλά μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν έρευνες που να αφορούν το κρέας ξηρής ωρίμανσης. Αξιοσημείωτο είναι ότι μετά από παράταση του χρόνου ξηρής ωρίμανσης καταγράφηκε αύξηση των *Penicillium camemberti* και *Debaromyces hansenii*, οι οποίοι έχουν χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή τυριού. Στην εργασία των Matsuishii, (1993), η ξηρή ωρίμανση αποδείχτηκε μια διαδικασία η οποία είχε ως αποτέλεσμα μια γλυκιά γεύση γάλακτος ή άρωμα που μοιάζει με εκείνο του τυριού, (τα αμινοξέα γλουταμινικό και ασπαραγινικό

σχετίζονται με τη γεύση umami) και λόγω αυτού θεωρήθηκε ότι ο *P. camemberti* και ο *D. hansenii* συμβάλλουν στην ανάπτυξη γεύσης του βόειου κρέατος ξηρής ωρίμανσης (Matsuishi et al., 1993; Ryu et al., 2018).

Σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι ενώ οι αποικίες ζυμών/μυκήτων ήταν παρόμοιες, παρατηρήθηκαν διαφορετικά χαρακτηριστικά ανάλογα με την ταχύτητα του αέρα. Πιο συγκεκριμένα την ημέρα 28 απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από την επιφάνεια του κρέατος ζύμες/μύκητες. Σε ταχύτητα αέρα 0 m/sec ο κυρίαρχος μικροοργανισμός ήταν ο *Pilaria anomala* (99,8%), ενώ σε πολύ μικρότερη αναλογία βρισκόταν ο *Debaromyces hansenii* (0,2%). Καθώς αυξήθηκε η ταχύτητα του αέρα σε 2,5 m/sec και 5 m/sec παρατηρήθηκε αύξηση του *D. hansenii* (15,9% και 14,7% αντίστοιχα). Ο μύκητας του γένους *Candida* ανιχνεύτηκε σε μικρές ποσότητες σε ταχύτητα αέρα 2,5 m/sec και 5 m/sec (0,1% και 0,1% αντίστοιχα), ενώ είδος του γένους *Rhodotorula* αναπτύχθηκε μόνο σε ταχύτητα αέρα 2,5 m/sec σε ποσοστό 0,3%.

Έτσι θεωρήθηκε ότι, η ταχύτητα του αέρα είναι ένας ακόμη παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει τη μικροβιακή χλωρίδα στην επιφάνεια του κρέατος με επιπτώσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος γιατί οι μικροοργανισμοί έχουν διαφορετικές πρωτεϊνολυτικές και λιπολυτικές δραστηριότητες (Lee et al., 2019).

2.2.3) Οξυγαλακτικά βακτήρια

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι γνωστά από αρχαιοτάτων χρόνων. Κάνοντας μια ιστορική αναδρομή, είναι εύκολο να διαπιστωθεί η εφαρμογή τους στα τρόφιμα κατά το παρελθόν (Σαραφianού, 2015).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic Acid Bacteria, LAB), είναι Gram θετικοί, μη σπορογόνοι οργανισμοί και χαρακτηρίζονται από την ικανότητα τους να εξασφαλίζουν τη σωστή υφή και το κατάλληλο άρωμα καθώς αποτελούν βιολογικά συντηρητικά, προκαλώντας μείωση του pH, παράγοντας γαλακτικό οξύ με αποτέλεσμα την παραγωγή ενέργειας. Αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες από 5°C-45°C (Κατίκου, 2006), ενώ η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι 30-40°C και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα οξέα (Σκληβανίτης, 2014; Σαραφianού, 2015).

Τα κυριότερα γένη οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weisella*, *Tetragenococcus* (Σκληβανίτης, 2014; Σαραφianού, 2015).

Χρησιμοποιούν τη γλυκόζη και τη λακτόζη ως πηγές άνθρακα και διακρίνονται σε:

- i. Ομοζυμωτικά: Η ζύμωση των υδατανθράκων έχει ως αποτέλεσμα μόνο την παραγωγή γαλακτικού οξέος (Σαραφianού, 2015). Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα γένη *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* (Σκληβανίτης, 2014).
- ii. Ετεροζυμωτικά: Το αποτέλεσμα της ζύμωσης είναι η παραγωγή περισσότερων ουσιών όπως το CO₂, αιθανόλη και γαλακτικό οξύ. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα γένη *Leuconostoc*, και ορισμένα είδη του γένους *Lactobacillus* (Σκληβανίτης, 2014).

Η επίδραση των οξυγαλακτικών βακτηρίων στα προϊόντα ζύμωσης-ωρίμανσης είναι πολύ σημαντική για τη διατήρηση των θρεπτικών ιδιοτήτων ενός προϊόντος επιμηκύνοντας το χρόνο συντήρησης και εμποδίζοντας—την ανάπτυξη αλλοιογόνων και παθογόνων

μικροοργανισμών. Η δράση αυτή οφείλεται αφενός μεν στον ανταγωνισμό για θρεπτικές ουσίες, αφετέρου δε στην παραγωγή ουσιών όπως είναι το γαλακτικό οξύ, η αιθανόλη, το διοξείδιο του άνθρακα, υπεροξείδιο του υδρογόνου, με τη μεγαλύτερη σπουδαιότητα να κατέχουν οι βακτηριοσίνες, οι οποίες θεωρείται ότι εμποδίζουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών (Egan, 1983; O' Sullivan et al., 2002; Κατίκου, 2006 Μεταξόπουλος και συν., 2003; Πεξαρά, 2019; Σαραφianού, 2015).

Τα οξυγαλακτικά αποτελούν την πλειονότητα του μικροβιακού πληθυσμού κρεάτων και κρεατοσκευασμάτων συσκευασμένων υπό κενό (Egan, 1983; Shaw et al., 1984; Rickie & Ketton, 1997; Κατίκου, 2006), λόγω της ιδιότητας τους να αναπτύσσονται απουσία O₂, παρουσία CO₂, και είναι ικανά να αναπτύσσονται σε συγκεντρώσεις με σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε αλάτι. Επιπλέον μπορούν να αναπτυχθούν σε χαμηλότερο pH από τα Gram αρνητικά βακτήρια που συχνά συναντώνται στα κρέατα, ειδικά κάτω από αναερόβιες συνθήκες (Egan, 1983). Παρόλα αυτά η απουσία O₂ από τα τρόφιμα που είναι συσκευασμένα υπό κενό μπορεί να δημιουργήσει πρόσφορο έδαφος για παραγωγή τοξινών, ιδιαίτερα από το *Clostridium botulinum*. Ακόμη η απουσία αερόβιας ανταγωνιστικής μικροχλωρίδας μπορεί να ευνοήσει την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών (Πεξαρά και συν., 2016).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι ο αριθμός των βακτηρίων αυξήθηκε ραγδαίως κατά τη διάρκεια ξηρής ωρίμανσης ενώ παρουσίασαν μεγάλη ανθεκτικότητα στη χαμηλή τιμή a_w. Σημαντικό είναι ότι παρατηρήθηκε αύξηση βακτηρίων στην επιφάνεια των δειγμάτων που είχαν υποστεί ξηρή ωρίμανση μέχρι και την ημέρα 50, ενώ η ανάπτυξη τους μειώθηκε σημαντικά μετά την ημέρα 50 (Ryu et al., 2018).

Στην έρευνα των Lee et al., (2019), βρέθηκε ότι πριν τη διαδικασία της ξηρής ωρίμανσης η μικροβιακή χλωρίδα αποτελούνταν από τον *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* και *Enterobacterium* (55,5%, 42,7%, 1,7% και 0,1% αντίστοιχα). Μετά τις 28 ημέρες ξηρής ωρίμανσης σε διαφορετικές συνθήκες ταχύτητας του αέρα (0, 2,5 και 5 m/sec) παρατηρήθηκε αύξηση των *Pseudomonas* και *Enterobacterium*, με την μόνη διαφορά ότι όταν η ταχύτητα του αέρα ήταν 5 m/sec η περιεκτικότητα σε *Enterobacterium* μειώθηκε. Εν τω μεταξύ οξυγαλακτικά του γένους *Lactobacillus* που ήταν ο κυρίαρχος μικροοργανισμός πριν την έναρξη της διαδικασίας ξηρής ωρίμανσης παρουσίασε μείωση, πιθανόν λόγω του ότι αυξήθηκε το βακτήριο του γένους *Pseudomonas* κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης. Επιπλέον σε ταχύτητες αέρα 2,5 m/sec και 5 m/sec παρατηρήθηκε μεγαλύτερη ανάπτυξη *Lactobacillus*, *Flavobacterium* σε σύγκριση με ταχύτητα αέρα 0 m/sec

Τα οξυγαλακτικά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως καλλιέργειες εκκίνησης. Ως καλλιέργεια εκκίνησης ορίζεται: «Το μικροβιακό παρασκεύασμα ενός τουλάχιστον μικροοργανισμού το οποίο προστίθεται σε φρέσκο υλικό με σκοπό την παραγωγή προϊόντος ζύμωσης, μέσω της επιτάχυνσης της ζυμωτικής διαδικασίας» (Σκληβανίτης, 2014). Το αποτέλεσμα είναι η διαδικασία ζύμωσης-ωρίμανσης να εξελίσσεται ομαλά, την παραγωγή ποιοτικών προϊόντων, τη μειωμένη βακτηριακή ανάπτυξη, την αναστολή ανάπτυξης επιφανειακών μυκήτων και μυκοτοξινών, τη βελτίωση του αρώματος και του χρώματος και τη σωστή υφή (Egan, 1983; Μπάκα, 2010; Πεξαρά, 2019). Ως καλλιέργειες εκκίνησης χρησιμοποιούνται ο *Lb. sakei*, *Lb. Plantarum*, *Lb. Curvatus* κ.α. (Τσιάβαλος, 2018)

Ορισμένα οξυγαλακτικά παρέχουν και προβιοτική δράση. Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) των Ηνωμένων Εθνών και Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας όρισε ως προβιοτικά: «Τους ζωντανούς μικροοργανισμούς οι οποίοι κατά την κατάποση ή όταν εφαρμόζονται σε τοπικό επίπεδο σε επαρκή αριθμό παρέχουν ένα ή περισσότερα αποδεδειγμένα οφέλη για την υγεία του υποδοχέα-ασθενή» (Τσιάβαλος, 2018).

Ως προβιοτικά χρησιμοποιούνται διάφορα γένη μικροοργανισμών όπως τα οξυγαλακτικά. Προστίθενται στα τρόφιμα έχοντας ως σκοπό τη βελτίωση της κατάστασης της υγείας του καταναλωτή, μέσω της ενίσχυσης της μικροβιακής του εντέρου και του ανταγωνισμού κατά των παθογόνων μικροοργανισμών (Leroy et al., 2006; Πραγκαλάκη, 2011). Τα προβιοτικά όταν καταναλωθούν σε κατάλληλες ποσότητες, μπορούν να έχουν ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία του ανθρώπου. Η πλειοψηφία των προβιοτικών οργανισμών ανήκει κυρίως στα είδη του γένους *Lactobacillus* και του γένους *Bifidobacterium* (Κατίκου, 2006; Μπάκα, 2010; Σκληβανίτης, 2014).

Δυστυχώς μέχρι σήμερα λίγες είναι οι έρευνες που καταδεικνύουν την σημασία των LAB στο κρέας ξηρής ωρίμανσης. Στην εργασία των Ryu et al. (2018) αναφέρεται ότι στο σαλάμι, διάφορα *Lactobacillus* spp., συμπεριλαμβανομένων των *L. sakei* και *L. plantarum*, ανιχνεύθηκαν στην επιφάνεια του κρέατος και επηρέασαν έντονα τη γεύση κατά την περίοδο ωρίμανσης. Κατά την διάρκεια ωρίμανσης για 60 ημέρες δεν ανιχνεύθηκαν παθογόνοι μικροοργανισμοί συμπεριλαμβανομένων των *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. Λόγω αυτού θεωρήθηκε ότι η διαδικασία ξηρής ωρίμανσης με διάρκεια 60 ημέρες είναι ασφαλής για τα τρόφιμα (Ryu et al., 2018).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

3.1) Συλλογή και χειρισμός των δειγμάτων

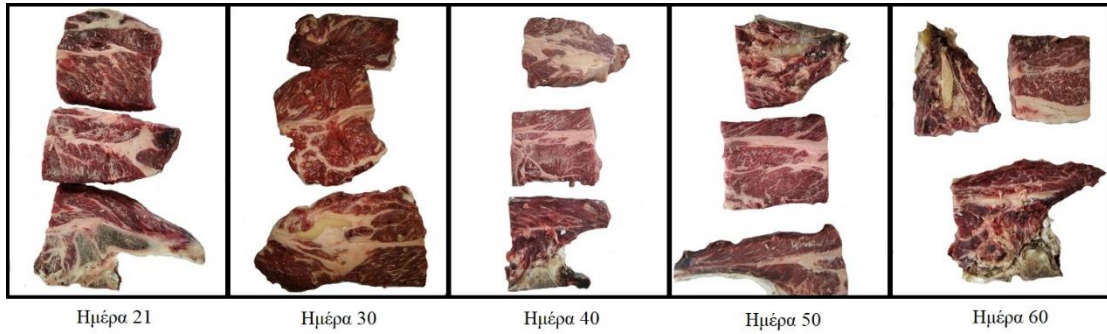
Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις του πειραματισμού. Χρησιμοποιήθηκε το τεμάχιο σφαγίου βοοειδούς «μπριζόλες». Τα τεμάχια προέρχονταν από ζώα της φυλής Limousine. Τα ζώα είχαν χώρα προέλευσης την Ελλάδα και η ημερομηνία σφαγής τους ήταν η 5^η Οκτωβρίου 2020, σε σφαγείο στην Οιχαλία Τρικάλων. Η ταξινόμηση των σφαγίων βοοειδούς ήταν DO3 (σφάγιο θήλεων ζώων, που έχουν ήδη γεννήσει/αρκετά καλή διάπλαση/μέσος βαθμός πάχυνσης). Τα τεμάχια υπέστησαν ξηρή ωρίμανση σε θάλαμο ξηρής ωρίμανσης Frenox στους $1\pm 1^{\circ}\text{C}$, με σχετική υγρασία $75\pm 5\%$ και ταχύτητα ροής αέρα 1 m/s, στην εγκεκριμένη μονάδα παραγωγής βόειου κρέατος ξηρής ωρίμανσης στη Λάρισα.



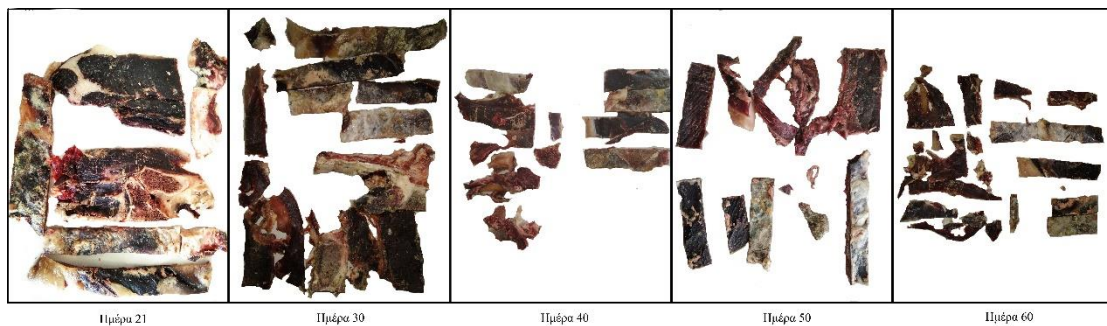
Εικόνα 11. Τεμάχιο «μπριζόλες» βόειου κρέατος στη διαδικασία ξηρής ωρίμανσης.

Το πλάνο δειγματοληψίας απεικονίζεται στο σχήμα 1. Την ημέρα 0 της μελέτης (μία ημέρα μετά τη σφαγή), έγινε δειγματοληψία ενός τμήματος από το κάθε τεμάχιο («μπριζόλες») («α' ύλη»), ενώ τα υπόλοιπα τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ξηρής ωρίμανσης.

Στις επόμενες δειγματοληψίες, που πραγματοποιήθηκαν κατά τις ημέρες 21, 30, 40, 50 και 60, λήφθηκαν 3 τμήματα ανά ημέρα (ένα ανά τεμάχιο) και σε καθένα έγινε η διαδικασία αποκοπής (απομάκρυνση της ξηρής εξωτερικής στρώσης από την επιφάνειά τους) ώστε να προκύψει το τελικό προϊόν που διατίθεται στον καταναλωτή. Οπότε σε κάθε δειγματοληψία είχαμε δύο δείγματα («ζώνη αποκοπής» και «τελικό προϊόν») από καθένα εκ των τριών τμημάτων. Συνολικά εξετάστηκαν 3 δείγματα για την «α' ύλη», 6 δείγματα (3 «τελικό προϊόν», 3 «ζώνη αποκοπής») ανά ημέρα δειγματοληψίας και κατά συνέπεια 30 δείγματα για τη διαδικασία ωρίμανσης 60 ημερών.

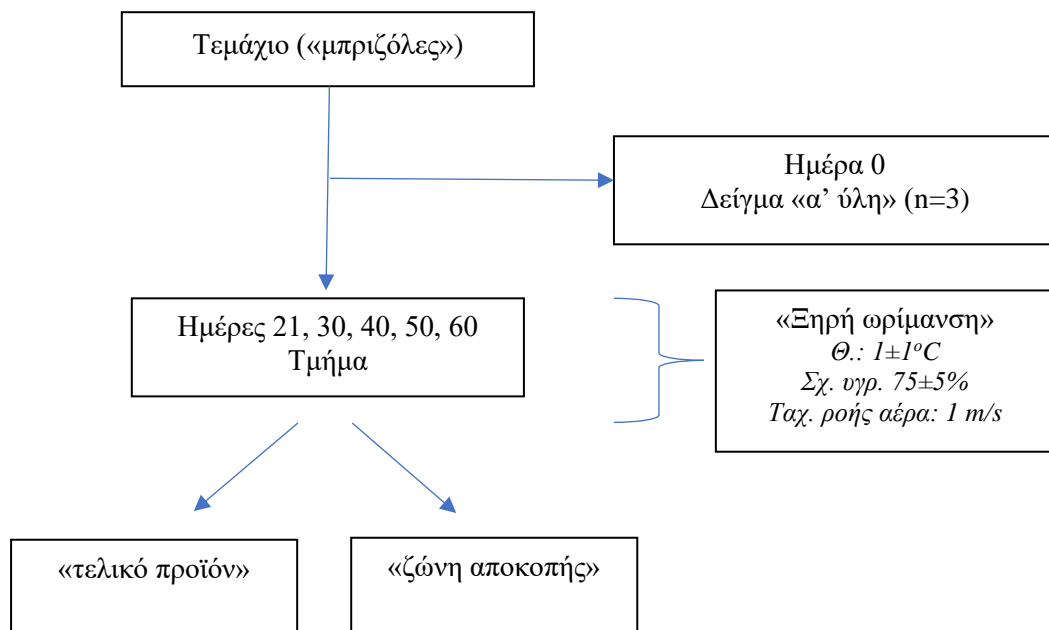


Εικόνα 13. Τελικό προϊόν στις ημέρες ξηρής ωρίμανσης βόειου κρέατος 21, 30, 40, 50 και 60.



Εικόνα 12. Ζώνες αποκοπής στις ημέρες ξηρής ωρίμανσης βόειου κρέατος 21, 30, 40, 50 και 60.

Σχήμα 1. Πλάνο δειγματοληψίας.



Η 21^η ημέρα ωρίμανσης επιλέχθηκε ως πρώτη ημέρα δειγματοληψίας μετά την έναρξη της διαδικασίας, γιατί σύμφωνα με τα αποτελέσματα των περισσότερων ερευνών, είναι η ημέρα κατά την οποία λαμβάνει χώρα η μεγαλύτερη διαφορά της διαδικασίας ξηρής ωρίμανσης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Campbell et al. 2001, Li et al. 2014, Gudjonsdottir et al. 2015, Kahraman & Gurbuz 2019).

Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Υγιεινής τροφίμων του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στους 4°C, εντός μίας ώρας για την περαιτέρω ανάλυσή τους. Όλες οι δειγματοληψίες διενεργήθηκαν υπό άσηπτες συνθήκες, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένες σακούλες δειγματοληψίας, ενώ υπό άσηπτες συνθήκες διενεργήθηκαν και όλοι οι χειρισμοί των δειγμάτων.

3.2) Μικροβιολογική ανάλυση

Από το κάθε αναλυόμενο δείγμα τοποθετήθηκαν 10 γραμμάρια σε σακούλα stomacher (BagLight, Interscience) όπου αναμίχθηκαν με 90 ml Buffered Peptone Water (BIOKAR Diagnostics) και ομογενοποιήθηκαν σε συσκευή Stomacher για 2 λεπτά. Από το ομογενοποιημένο δείγμα στη συνέχεια δημιουργήθηκαν δεκαδικές αραιώσεις σε Maximum Recovery Diluent (BIOLIFE Italiana).

Από το ομογενοποιημένο δείγμα αλλά και από τις κατάλληλες δεκαδικές αραιώσεις, τοποθετήθηκε 1 ml σε κενά τρυβλία και προστέθηκε Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS Agar – Condalab), για την απομόνωση των οξυγαλακτικών βακτηρίων με την τεχνική της ενσωμάτωσης, μετά από επώαση στους 25°C για 5 ημέρες υπό αναερόβιες συνθήκες.

Από το ομογενοποιημένο δείγμα αλλά και από τις κατάλληλες δεκαδικές αραιώσεις, τοποθετήθηκε 0,1 ml σε Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (SDA – BIOLIFE Italiana), για την απομόνωση των ζυμών/μυκήτων με την τεχνική της επιφανειακής εξάπλωσης, μετά από επώαση στους 25°C για 5 ημέρες.

3.3) Απομόνωση των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Lactic acid bacteria, LAB)

3 αποικίες από κάθε τρυβλίο που αντιστοιχούσαν στην υψηλότερη αραιώση στην οποία σημειώθηκε η ανάπτυξη, ενοφθαλμίστηκαν με την τεχνική της επιφανειακής εξάπλωσης σε MRS Agar και ακολούθησε επώαση στους 25°C για 5 ημέρες. Εξετάστηκαν 9 αποικίες από την πρώτη ύλη και 18 αποικίες για τα δείγματα (9 αποικίες από το «τελικό προϊόν», 9 αποικίες από τη «ζώνη αποκοπής») ανά ημέρα δειγματοληψίας.

3.4) Απομόνωση των ζυμών και μυκήτων (Yeast/Mold)

3 αποικίες με διαφορετικά χαρακτηριστικά από κάθε τρυβλίο, που αντιστοιχούσαν στην υψηλότερη αραιώση στην οποία σημειώθηκε η ανάπτυξη, ενοφθαλμίστηκαν σε SDA και ακολούθησε επώαση στους 25°C για 5 ημέρες. Εξετάστηκαν 9 αποικίες από την πρώτη

ύλη και 18 αποικίες για τα δείγματα (9 αποικίες από το «τελικό προϊόν», 9 αποικίες από τη «ζώνη αποκοπής» ανά ημέρα δειγματοληψίας).

3.5) Ταυτοποίηση των υπό εξέταση μικροοργανισμών

Μετά την επώαση, ακολούθησε ταυτοποίηση των απομονωθέντων αποικιών με τη μέθοδο Matrix- Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Spectrometry (MALDI-TOF MS) ακολουθώντας το πρωτόκολλο της ταχείας εξαγωγής των ριβοσωμικών πρωτεϊνών με τη χρήση 70% φορμικού οξέος σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για να μελετήσει τη μικροβιακή σύνθεση και έχει συγκεντρώσει την προσοχή των ερευνητών ως ένα νέο εργαλείο για την ανάλυση των μικροβίων (Lee et al., 2017; Kim et al., 2021). Αυτή είναι μια αξιόπιστη μέθοδος για ταυτοποίηση των απομονωθέντων μικροοργανισμών καθώς και για εφαρμογές ανάλυσης της μικροβιακής ποικιλομορφίας σε δείγματα τροφίμων (Holl et al., 2016; Yu et al., 2019; Kim et al., 2021).

Χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους και της δομής των οργανικών ενώσεων. Ο όρος MALDI αναφέρεται στη διαδικασία με την οποία παράγονται τα ιόντα και ο όρος TOF στον αναλυτή της μεθόδου (time of flight, αναλυτής χρόνου-πτήσης) (Ελληνική Μικροβιολογική Εταιρεία, 2009). Βασική αρχή της μεθόδου είναι η μέτρηση της μάζας για την ακρίβεια η μέτρηση του λόγου μάζας προς φορτίο, mass-to-charge ratio, m/z - μορίων που έχουν μετατραπεί σε θετικά ή αρνητικά φορτισμένα ιόντα. Ως μονάδα μέτρησης μάζας (m) χρησιμοποιείται το Dalton ($m=Da$). Η προετοιμασία του προς εξέταση δείγματος βασίζεται στην ανάμειξή του με ένα χημικό υπόστρωμα (μήτρα, matrix), που είναι ήδη διαλυμένο σε κατάλληλο διαλύτη, και την τοποθέτηση του μείγματος σε ειδική πλάκα όπως φαίνεται στην εικόνα 12 από ανοξείδωτο ατσάλι (target plate), ώστε αυτό να περιέλθει σε ξηρή μορφή (Ελληνική Μικροβιολογική Εταιρεία, 2009).



Εικόνα 14. Ειδική πλάκα από ανοξείδωτο ατσάλι (target plate)

Μεταξύ των τεχνικών της φασματομετρίας μάζας, ο φασματογράφος μάζας MALDI-TOF-MS πλεονεκτεί στην ανάλυση πρωτεϊνών πολύπλοκων βιολογικών μειγμάτων. Η μη ευαισθησία του φασματογράφου μάζας MALDI-TOFMS σε προσμίξεις μειώνει τη χρονοβόρο διαδικασία απομάκρυνσής τους, γεγονός που επιβάλλεται στην εφαρμογή άλλων μεθόδων, μειώνοντας έτσι το συνολικό χρόνο ανάλυσης του δείγματος. Πλεονέκτημα του MALDI-TOF-MS είναι η ικανότητά του να ταυτοποιεί με υψηλή ευαισθησία δείγματα μικροοργανισμών (Gram-αρνητικά και Gram-θετικά βακτήρια, κυανοβακτήρια, μύκητες και πρωτόζωα) σε ανέπαφη κυτταρική μορφή, μειώνοντας επίσης σημαντικά το χρόνο παρασκευής του δείγματος. Τα μόρια, τα οποία ανιχνεύει είναι κυρίως επιφανειακές και ριβοσωμικές πρωτεΐνες του βακτηρίου (Ελληνική Μικροβιολογική Εταιρεία, 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

4.1) ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρουσιάζονται στους πίνακες 1, 2, 3, 4.

Στους πίνακες 1, 2 παρουσιάζεται η ταυτοποίηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης στο «τελικό προϊόν» και στη «ζώνη αποκοπής» αντίστοιχα.

Την ημέρα 0 (α' ύλη) από τα 9 στελέχη των οξυγαλακτικών βακτηρίων που εξετάστηκαν 6 (66,66%) ταυτοποιήθηκαν ως *Lactococcus garviae* και 3 (33,33%) ως *Enterococcus faecalis*.

Την ημέρα 21 από τα 9 στελέχη των οξυγαλακτικών βακτηρίων που εξετάστηκαν στο τελικό προϊόν 5 στελέχη (55,55%) ταυτοποιήθηκαν ως *L. sakei* και 4 (44,44%) ως *L. garviae*.

Στη ζώνη αποκοπής, 6 στελέχη (66,66%) ως *Lactobacillus sakei* και 3 (33,33%) ταυτοποιήθηκαν ως *L. garviae*.

Την ημέρα 30 στο τελικό προϊόν 6 στελέχη (66,66%) ταυτοποιήθηκαν ως *L. sakei*, 1 (11,11%) ως *L. paracasei*, 1 (11,11%) ως *L. garviae* και 1 (11,11%) ως *E. faecalis*.

Στη ζώνη αποκοπής 5 στελέχη (55,55%) ως *L. sakei*, 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως *L. garviae*, 1 (11,11%) ως *E. faecalis*, ενώ 2 (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Την ημέρα 40 στο τελικό προϊόν 7 στελέχη (77,77%) ταυτοποιήθηκαν ως *L. sakei*, 1 στέλεχος (11,11%) δεν ταυτοποιήθηκε, ενώ 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως άλλο είδος βακτηρίου και πιο συγκεκριμένα το βακτήριο *Serratia liquefaciens*.

Στη ζώνη αποκοπής 5 από τα 9 στελέχη (55,55%) που εξετάστηκαν ως *L. sakei*, 2 (22,22%) ως *Leuconostoc gelidum*, ενώ για 2 (22,22%) στελέχη δεν κατέστη δυνατή η ταυτοποίηση.

Την ημέρα 50 στο τελικό προϊόν 7 στελέχη (77,77%) ταυτοποιήθηκαν ως *L. sakei*, 1 στέλεχος (11,11%) δεν ταυτοποιήθηκε και 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως άλλο είδος βακτηρίου και πιο συγκεκριμένα το βακτήριο *S. liquefaciens*.

Στη ζώνη αποκοπής 5 (55,55%) στελέχη ταυτοποιήθηκαν ως *L. sakei*, 2 (22,22%) ως *L. gelidum* και 2 στελέχη (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Την ημέρα 60 στο τελικό προϊόν το σύνολο των εξεταζόμενων στελεχών (100%) ταυτοποιήθηκαν ως *L. sakei*.

Στη ζώνη αποκοπής 7 από τα 9 στελέχη (77,77%) ταυτοποιήθηκαν ως *L. sakei*, 1 στέλεχος (11,11%) ως *E. faecalis* και 1 στέλεχος (11,11%) δεν ταυτοποιήθηκε.

Πίνακας 1. Ταυτοποίηση % των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της ξηρή ωρίμανση βόειου κρέατος στο τελικό προϊόν.

| Οξυγαλακτικά βακτήρια (n=9) | Αριθμός στελεχών (%) | | | | | |
|--------------------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|----------|
| | Ημέρες ωρίμανσης | | | | | |
| | 0 | 21 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| <i>Lactobacillus sakei</i> | - | 5 (55,55%) | 6 (66,66%) | 7 (77,77%) | 7 (77,77%) | 9 (100%) |
| <i>Lactococcus garviae</i> | 6 (66,66%) | 4 (44,44%) | 1 (11,11%) | - | - | - |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 3 (33,33%) | - | 1 (11,11%) | - | - | - |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> | - | - | 1 (11,11%) | - | - | - |
| AEM ¹ | - | - | - | 1 (11,11%) | 1 (11,11%) | - |
| MT ² | - | - | - | 1 (11,11%) | 1 (11,11%) | - |
| Σύνολο | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) |

¹ AEM: άλλο είδος μικροοργανισμού

² MT: μη ταυτοποιημένα

Πίνακας 2. Ταυτοποίηση % των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανση βόειου κρέατος στη ζώνη αποκοπής.

| Οξυγαλακτικά βακτήρια (n=9) | Αριθμός στελεχών (%) | | | | | |
|--------------------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Ημέρες ωρίμανσης | | | | | |
| | 0 | 21 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| <i>Lactobacillus sakei</i> | | 6 (66,66%) | 5 (55,55%) | 5 (55,55%) | 5 (55,55%) | 7 (77,77%) |
| <i>Lactococcus garviae</i> | - | 3 (33,33%) | 1 (11,11%) | - | - | - |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | - | - | 1 (11,11%) | - | - | 1 (11,11%) |
| <i>Leuconostoc gelidum</i> | - | - | - | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) | - |
| MT ¹ | - | - | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) | 1 (11,11%) |
| Σύνολο | - | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) |

¹MT: μη ταυτοποιημένα

Στους πίνακες 3,4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης των ζυμών και των μυκήτων κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης βόειου κρέατος στο «τελικό προϊόν» και στη «ζώνη αποκοπής» αντίστοιχα.

Την ημέρα 0 (α' ύλη) από τα 9 στελέχη που εξετάστηκαν, τα 3 (33,33%) ταυτοποιήθηκαν ως *Yarrowia lipolytica*, 3 (33,33%) ως *Candida zeylanoides*, ενώ 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως άλλο είδος μικροοργανισμού και πιο συγκεκριμένα ως *Pseudomonas libanensis* και 2 στελέχη (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Την ημέρα 21 στο τελικό προϊόν 5 στελέχη (55,55%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. zeylanoides*, 2 (22,22%) ως *Y. lipolytica* και 2 (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Στη ζώνη αποκοπής 7 στελέχη (77,77%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. zeylanoides* ενώ 2 (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Την ημέρα 30 στο τελικό προϊόν 3 στελέχη (33,33%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. zeylanoides*, 2 (22,22%) ως *Candida famata*, 2 (22,22%) ταυτοποιήθηκαν ως άλλο είδος μικροοργανισμού και πιο συγκεκριμένα ως *P. libanensis* και 2 στελέχη (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Στη ζώνη αποκοπής 7 στελέχη (77,77%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. zeylanoides*, 1 στέλεχος (11,11%) δεν ταυτοποιήθηκε ενώ 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε με άλλο είδος μικροοργανισμού και πιο συγκεκριμένα *Pseudomonas synxantha*.

Την ημέρα 40 στο τελικό προϊόν 5 στελέχη (55,55%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. zeylanoides*, 2 στελέχη (22,22%) ως *C. famata*, και 2 στελέχη (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Στη ζώνη αποκοπής 5 από τα 9 στελέχη (55,55%) ως *C. zeylanoides*, 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως *Y. lipolytica*, 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως άλλο είδος μικροοργανισμού και πιο συγκεκριμένα *Pseudomonas fragi*, και 2 στελέχη (22,22%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Την ημέρα 50 στο τελικό προϊόν 3 (33,33%) αποικίες ταυτοποιήθηκαν ως *C. zeylanoides*, 3 (33,33%) ως *C. famata*, 2 (22,22%) ταυτοποιήθηκαν ως άλλο είδος μικροοργανισμού και συγκεκριμένα ως *Pseudomonas fragi* και 1 στέλεχος (11,11%) δεν ταυτοποιήθηκε.

Στη ζώνη αποκοπής 5 στελέχη (55,55%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. zeylanoides*, 1 στέλεχος (11,11%) ως άλλο είδος μικροοργανισμού και συγκεκριμένα ως *Pseudomonas taetrolens* και 3 (33,33%) δεν ταυτοποιήθηκαν.

Την ημέρα 60 τα αποτελέσματα στο τελικό προϊόν όσο και στη ζώνη αποκοπής παρέμειναν ίδια με την ημέρα 50.

Πίνακας 3. Ταυτοποίηση % των ζυμών και μυκήτων κατά τη διάρκεια της ξηρή ωρίμανση βόειου κρέατος στο τελικό προϊόν.

| Ζύμες-Μύκητες (n=9) | Αριθμός στελεχών (%) | | | | | |
|----------------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Ημέρες ωρίμανσης | | | | | |
| | 0 | 21 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| <i>Candida zeylanoides</i> | 3 (33,33%) | 5 (55,55%) | 3 (33,33%) | 5 (55,55%) | 3 (33,33%) | 3 (33,33%) |
| <i>Candida famata</i> | - | - | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) | 3 (33,33%) | 3 (33,33%) |
| <i>Yarrowia lipolytica</i> | 3 (33,33%) | 2 (22,22%) | | | | |
| AEM ¹ | 1 (11,11%) | | 2 (22,22%) | | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) |
| MT ² | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) | 2 (22,22%) | 1 (11,11%) | 1 (11,11%) |
| Σύνολο | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) |

¹ AEM: άλλο είδος μικροοργανισμού

² MT: μη ταυτοποιημένα

Πίνακας 4. Ταυτοποίηση % των ζυμών και μυκήτων κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανση βόειου κρέατος στη ζώνη αποκοπής.

| Ζύμες-Μύκητες (n=9) | Αριθμός στελεχών (%) | | | | | |
|----------------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Ημέρες ωρίμανσης | | | | | |
| | 0 | 21 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| <i>Candida zeylanoides</i> | - | 7 (77,77%) | 7 (77,77%) | 5 (55,55%) | 5 (55,55%) | 5 (55,55%) |
| <i>Yarrowia lipolytica</i> | - | - | - | 1 (11,11%) | - | - |
| AEM ¹ | - | | 1 (11,11%) | 1 (11,11%) | 1 (11,11%) | 1 (11,11%) |
| MT ² | - | 2 (22,22%) | 1 (11,11%) | 2 (22,22%) | 3 (33,33%) | 3 (33,33%) |
| Σύνολο | - | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) | 9 (100%) |

¹ AEM: άλλο είδος μικροοργανισμού

² MT: μη ταυτοποιημένα

4.2) Συζήτηση-Συμπεράσματα

Από την αναζήτηση της βιβλιογραφίας που πραγματοποιήθηκε υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών σχετικά με την ποικιλομορφία και τα χαρακτηριστικά της μικροβιακής χλωρίδας του κρέατος ξηρής ωρίμανσης, κυρίως όσον αφορά τους μύκητες, τις ζύμες και τα οξυγαλακτικά βακτήρια και πώς αυτοί διαμορφώνονται κατά τη διάρκεια παραγωγής του. Ιδιαίτερα στη χώρα μας παρά το γεγονός ότι αυτά τα προϊόντα γίνονται ευρέως αποδεκτά δεν υπάρχουν καθόλου δεδομένα γύρω από το κρέας ξηρής ωρίμανσης.

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης για την ταυτοποίηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης βόειου κρέατος την ημέρα 0 (α' ύλη) το κυρίαρχο είδος ήταν ο *L. garviae* (66,66%). Επίσης την ημέρα 21 στο τελικό προϊόν και στη ζώνη αποκοπής το 44,44% και 33,33% των στελεχών ταυτοποιήθηκε ως *L. garviae*, αντίστοιχα, ενώ την ημέρα 30 το ποσοστό μειώθηκε στο 11,11%, τόσο στο τελικό προϊόν όσο και στη ζώνη αποκοπής. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Comi et al. (2020) σε λουκάνικα ζύμωσης μεταξύ των μικροοργανισμών που ανιχνεύτηκαν στα αρχικά στάδια της δειγματοληψίας και σε υψηλές συγκεντρώσεις (10^{-7} log cfu/g), συμπεριλαμβανόταν και ο *L. garviae* (Jones et al., 2008; Comi et al., 2020). Σπάνια συνδέεται με λουκάνικα που έχουν υποστεί ζύμωση και έχει ταξινομηθεί ως ευκαιριακά παθογόνος που ανευρίσκεται σε ζώα (αγελάδες, βουβάλια, εκτρεφόμενα ψάρια) καθώς και σε κλινικά δείγματα σε ανθρώπους και έχει επικρατήσει η άποψη ότι είναι κοινό γαστρεντερικό βακτήριο το οποίο μπορεί να προκαλέσει λοιμώξεις (Mehmeti et al., 2015; Comi et al., 2020). Παρομοίως στην έρευνα των Rantsiou et al. (2004) σε λουκάνικα ζύμωσης ταυτοποιήθηκε ο *L. garviae* την ημέρα 3 και κατά τα τελικά στάδια (28 ημέρες)

Κάποια από τα στελέχη του *L. garviae* που απομονώθηκαν σε γαλακτοκομικά προϊόντα έπαιξαν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. (Fortina et al., 2007; Allegria et al., 2009; Gibello et al., 2016). Επιπλέον κάποιοι ερευνητές πρότειναν τη χρήση του ως προβιοτικό (Zhang et al., 2015), γιατί αναστέλλει τη δράση άλλων παθογόνων βακτηρίων (Delpech et al., 2015; Zhang et al., 2015; Gibello et al., 2016). Η γνώση γύρω από την μολυσματικότητα του *L. garviae* είναι περιορισμένη και οι περισσότερες έρευνες συγκεντρώνονται γύρω από τα ψάρια. Για αυτό το λόγο απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για να καθοριστεί η σημασία μετάδοσης του στον άνθρωπο και να βρεθούν κατάλληλοι δείκτες για να διακριθεί η ασφάλεια του στα τρόφιμα (Gibello et al., 2016).

Σε μικρότερο ποσοστό (33,33%) την ημέρα 0 (α' ύλη) απομονώθηκε το είδος *E. faecalis*. Ο *E. faecalis* σε ποσοστό 11,11% ταυτοποιήθηκε και στα στελέχη που απομονώθηκαν στο τελικό προϊόν και στη ζώνη αποκοπής την ημέρα 30. Στη μελέτη των Francesca et al. (2013) εξετάστηκαν δύο παραδοσιακά προϊόντα λουκάνικου (Salsicia, Salame). Ο *E. faecalis* ανιχνεύτηκε στο σαλάμι την 3^η εβδομάδα και διατηρήθηκε μέχρι και την 6^η σε ποσοστό 99,99%. Στη συνέχεια ερευνήθηκε τυχόν αντιμικροβιακή δράση, όπου βρέθηκε ότι έδρασε έναντι του βακτηρίου *Listeria* χάρη στις βακτηριοσίνες (Francesca et al, 2013). Επίσης πολλά στελέχη του γένους *Enterococcus* μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναρκτήριες καλλιέργειες που επίσης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο γιατί φαίνεται ότι εμπλέκονται στη διαδικασία ζύμωσης των παραδοσιακών τυριών και στα λουκάνικα ζύμωσης στα οποία πιστεύεται ότι συνεισφέρουν στην επίτευξη οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (Franz et al., 2011; Hanchi et al., 2018). Μάλιστα τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες έτσι ώστε να εφαρμόζονται οι βακτηριοσίνες σε πολλά προϊόντα τροφίμων. Οι βακτηριοσίνες που παράγουν μπορούν να αποτρέψουν την ανάπτυξη

βακτηρίων όπως *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* και *Vibrio cholerae* (Hanchi et al., 2018).

Στο τελικό προϊόν και στη ζώνη αποκοπής σε όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης ο *L. sakei* ήταν το οξυγαλακτικό βακτήριο που απομονώθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό, 55,55%, 66,66%, 77,77% τις ημέρες 21, 30, 40, 50 αντίστοιχα και έφτασε το 100% την ημέρα 60 στο τελικό προϊόν, ενώ στη ζώνη αποκοπής τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 66,66% την ημέρα 21, 55,55% τις ημέρες 30 έως 50 και 77,77% την ημέρα 60. Έρευνες που έχουν γίνει αποδεικνύουν ότι ο *L. sakei* είναι ο επικρατέστερος μικροοργανισμός της μικροβιακής χλωρίδας στο κρέας (Lee et al., 2019; Comi et al., 2020; Ryu et al., 2020). Στην έρευνα των Ryu et al. (2020) ο *L. sakei* αποτελούσε μέρος των κυρίαρχων βακτηριακών στελεχών που βρισκόταν σε αφθονία στο βόειο κρέας ξηρής ωρίμανσης. Οι συνθήκες ξηρής ωρίμανσης ήταν 1-4°C με σχετική υγρασία 80-90%. Κατά τις ημέρες 12 και 30 τα οξυγαλακτικά ταυτοποιήθηκαν σε ποσοστό πάνω από 50% αλλά μειωνόταν καθώς προχωρούσε η διαδικασία ξηρής ωρίμανσης (~160 ημέρες) (Ryu et al., 2020).

Ο *L. sakei* αποτελεί μέρος της μικροβιακής χλωρίδας των συσκευασμένων υπό τροποποιημένες ατμόσφαιρες ή υπό κενό κρεατοσκευασμάτων που συντηρούνται σε θερμοκρασίες ψύξης <5°C. Τα οξυγαλακτικά του γένους *Lactobacillus* χρησιμοποιούνται ευρέως ως εκκινητές στην παραγωγή ζυμούμενων προϊόντων κρέατος και συνήθως κυριαρχούν στον μικροβιακό πληθυσμό των προϊόντων αυτών (Vogel et al., 1993; Stiles & Holzapfel., 1997; Κατίκου, 2006). Οι καλλιέργειες εκκίνησης παρουσιάζουν επιθυμητές ιδιότητες όπως η βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, βοηθώντας την παραγωγή πιο εύγεστων προϊόντων (Πραγκαλάκη, 2011). Επίσης οι συνθήκες που επικρατούν κατά την ξηρή ωρίμανση διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο. Στην παρούσα μελέτη οι συνθήκες της διαδικασίας (θερμοκρασία 1±1°C, σχετική υγρασία 75±5%, ταχύτητα ροής αέρα 1m/s) φαίνεται πως επηρέασαν θετικά την αναπτυξή του καθώς ήταν ο κυρίαρχος μικροοργανισμός. Σύμφωνα με τους Comi et al. (2020) στα λουκάνικα ζύμωσης ο *L. sakei* ήταν το κυρίαρχο είδος σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Ανιχνεύτηκε σε όλα τα ελεγχόμενα προϊόντα κυρίως μετά την ένατη μέρα της διαδικασίας. Σε ποσοστό 42% βρέθηκε σε ιταλικά και ελληνικά λουκάνικα, με αύξηση του ποσοστού 76% στα ισπανικά, φτάνοντας το 100% στα γαλλικά λουκάνικα (Comi et al., 2020; Ryu et al., 2020).

Στο τελικό προϊόν την ημέρα 30 ο *L. sakei* συνέχισε να είναι το κυρίαρχο είδος οξυγαλακτικών βακτηρίων μικροοργανισμός (66,66%), και ακολούθησαν ο *L. garviae* (11,11%) και ο *E. faecalis* (11,11%) ενώ ταυτοποιήθηκε και ο *L. paracasei* (11,11%). Ο *L. paracasei* απομονώνεται συχνά σε αλλαντικά ζύμωσης καθώς και σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Σύμφωνα με τους Ryu et al. (2020) ταυτοποιήθηκε σε βόειο κρέας ξηρής ωρίμανσης τις ημέρες 12 και 30. Σε έρευνα των Rebucci et al. (2007) ο *L. paracasei* χρησιμοποιήθηκε ως εναρκτήριο καλλιέργεια σε λουκάνικα ζύμωσης για να διαπιστωθεί αν παρέχεται προβιοτική δράση, κάτι το οποίο φαίνεται να απέδωσε θετικά αποτελέσματα (Rebucci et al., 2007).

Στη ζώνη αποκοπής τις ημέρες 40 και 50 απομονώθηκε ο *L. gelidum* σε ποσοστό 22,22%. Το είδος *L. gelidum* έχει βρεθεί σε βόειο κρέας σε συσκευασία υπό κενό (Kato et al., 2002; Leisner et al., 1996). Επίσης η έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Leisner et al. (1996) έδειξε ότι μπορεί να δράσει ως μικροβιακός ανταγωνιστής στο κρέας έναντι άλλων παθογόνων μικροοργανισμών όπως *Brochonthrix thermosphacta* και *Listeria monocytogenes* (Leisner et al., 1996).

Από τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης των ζυμών και μυκήτων προκύπτει ότι την ημέρα 0 (α' ύλη) τα στελέχη που απομώθηκαν ταυτοποιήθηκαν ως *Y. lilopytica* (33,33%) και ακολούθησε ο μύκητας *C. zeylanoides* (33,33%). Η ζύμη *Y. lilopytica* επίσης

ταυτοποιήθηκε και σε ποσοτό 22, 22% στο τελικό προϊόν την ημέρα 21 και την ημέρα 40 στη ζώνη αποκοπής σε ποσοστό 11,11%. Ο μύκητας *C. zeylanoides* απομονώθηκε σε ποσοστά από 33,33 έως 55,55% των εξεταζόμενων στελεχών στο τελικό προϊόν σε όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης. Επίσης ήταν το κυρίαρχο είδος στη ζώνη αποκοπής σε ποσοστό 77,77% τις ημέρες 21 και 30 και παρέμεινε σε ποσοστό 55,55% μέχρι το τέλος της ωρίμανσης.

Η ζύμη *Y. lipolytica* έχει απομονωθεί από γαλακτοκομικά προϊόντα και τα λουκάνικα ωρίμανσης (Sutherland et al., 2014). Αυξάνει τη γεύση και το άρωμα κρέατος ωρίμανσης και των τυριών εξαιτίας των λιπολυτικών και πρωτεολυτικών δραστηριοτήτων. Αυτές οι δραστηριότητες είναι ουσιώδεις για την ωρίμανση και την ιδιαίτερη γεύση του σαλαμιού (Howell, 2016).

Για την ανάπτυξη του μύκητα *C. zeylanoides* σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν οι συνθήκες κατά τη διάρκεια της ξηρής ωρίμανσης (υγρασία, θερμοκρασία, τιμή a_w). Λόγω αφυδάτωσης της επιφάνειας του κρέατος στη ζώνη αποκοπής μειώνεται το a_w και αυτό φαίνεται να συμβάλλει θετικά στην ανάπτυξη τους. Οι Lee et al. (2019) εξέτασαν το κατά πόσο η ταχύτητα ροής του αέρα μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη των ζυμών-μυκήτων και βρέθηκε ότι μύκητες του γένους *Candida* αυξήθηκαν ελαφρώς καθώς αυξανόταν και η ταχύτητα ροής του αέρα. Σύμφωνα με τους Asefa et al. (2009) μπορεί να ανιχνευθεί σε νοπό κρέας καθώς και στο κρέας υπό ψύξη αλλά ο πληθυσμός του μειώνεται κατά την επεξεργασία του κρέατος (Asefa et al., 2009). Παρά το γεγονός ότι ο μύκητας αυτός μπορεί να ανιχνευτεί στο κρέας ξηρής ωρίμανσης, δεν φαίνεται να συμβάλλει στα επιθυμητά χαρακτηριστικά του προϊόντος (Dashdorj et al., 2016; Ryu et al., 2018; Oh et al., 2019). Στη μελέτη των Cocolin et al. (2006) ο μύκητας αυτός ταυτοποιήθηκε σε λουκάνικα ζύμωσης τις ημέρες 10-45 αλλά την ημέρα 60 δεν ταυτοποιήθηκε καμία αποικία *C. zeylanoides* (Cocolin et al., 2006).

Στην εργασία των Ryu et al. (2018) βρέθηκε ότι μεταξύ των μυκήτων που θα μπορούσαν να γίνουν επιβλαβείς ήταν συμπεριλαμβανόταν και ο μύκητας του γένους *Candida*. Ο μύκητας αυτός ανιχνεύτηκε μέχρι τις 25 ημέρες ξηρής ωρίμανσης. Όμως ο μικροοργανισμός αυτοί εξαλείφτηκε μετά την παράταση της διάρκειας ξηρής ωρίμανσης 60 ημερών (Ryu et al., 2018).

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει ο συχνότεροι μύκητες που απαντάται στο κρέας ξηρής ωρίμανσης είναι οι μύκητες *Thamnidium spp* (Dashdorj et al., 2016; Primesafe, 2020). Στην παρούσα μελέτη οι μύκητες αυτοί δεν ταυτοποιήθηκαν σε κανένα στάδιο της ξηρής ωρίμανσης, ενώ σε ανάλογες έρευνες που πραγματοποιήθηκαν βρέθηκε ότι στα αρχικά στάδια της ξηρής ωρίμανσης υπήρξε αύξηση των ζυμών-μυκήτων όπως οι μύκητες του γένους *Candida*, *Cladosporium*, *Rhodotorula*. Οι μύκητες *Thamnidium spp* είναι επιθυμητοί λόγω της επίδρασής τους, εμφανίζονται υπό τη μορφή απαλών γκρι κηλίδων στα λιπώδη μέρη του κρέατος. Η σημαντικότητά τους έγκειται στην ικανότητα των ενζύμων τους να εισβάλλουν στο εσωτερικό του κρέατος. Συγκεκριμένα, οι πρωτεάσες που απελευθερώνουν και τα κολλαγολυτικά ένζυμα που παράγουν, διασπούν τις μυϊκές ίνες και το συνδετικό ιστό, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της υφής και της γεύσης του κρέατος ξηρής ωρίμανσης. Άλλοι μύκητες που συνδέονται με το κρέας ξηρής ωρίμανσης ανήκουν στα γένη *Rhizopus* και *Mucor*. Ωστόσο, έχουν επίσης συσχετιστεί με ασθένειες στον άνθρωπο ενώ δε συνεισφέρουν στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του κρέατος (Dashdorj et al., 2016). Επίσης δεν απομονώθηκαν αυτοί οι μύκητες στην παρούσα έρευνα.

Σε έρευνες που έχουν γίνει επίσης σε κρέας ξηρής ωρίμανσης, με την πάροδο της περιόδου της διαδικασίας (τουλάχιστον 40 ημέρες), έχουν ανιχνευτεί σε ικανές ποσότητες, μύκητες οι οποίοι χρησιμοποιούνται στην παραγωγή τυριών τύπου

Camembert (*Penicillium camemberti* και *Debaryomyces hansenii*) (Lessard et al., 2012). Στην παρούσα μελέτη δεν απομονώθηκαν οι μύκητες αυτοί. Το γεγονός αυτό μπορεί να έχει επιπτώσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά καθώς είναι οι κύριοι υπεύθυνοι για την πρόσδοση ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στα γαλακτοκομικά προϊόντα, και επιπλέον ο *D. hansenii* χρησιμοποιείται στα πλαίσια της στρατηγικής για την παραγωγή πτητικών ουσιών (Breuer & Harms, 2006) και τη βελτίωση του αρώματος των τροφίμων ζωικής προέλευσης (Flores et al., 2017). Καθώς η ξηρή ωρίμανση προσδίδει στο προϊόν μία γλυκιά τυρένια οσμή και αντίστοιχη βελτίωση της γεύσης, το εύρημα σχετικά με τους παραπάνω μύκητες συμβάλλει σημαντικά στην κατανόηση του τρόπου που επιτελείται η οργανοληπτική βελτίωση στο βόειο κρέας εξαιτίας της ξηρής ωρίμανσης.

Ωστόσο διαπιστώθηκε αδυναμία ταυτοποίησης κάποιων στελεχών, τόσο μεταξύ των οξυγαλακτικών βακτηρίων όσο και μεταξύ των ζυμών και μυκήτων. Οι κατάλληλες συνθήκες επεξεργασίας και τοποθέτησης του δείγματος στην πλάκα του MALDI-ToF, η επιλογή του κατάλληλου χημικού υποστρώματος και του διαλύτη είναι ιδιαίτερης σημασίας για την ακρίβεια του τελικού αποτελέσματος της μικροβιολογικής ταυτοποίησης (Wunschell et al., 2005). Το σύστημα biotyper έχει δημιουργήσει τις εξής βαθμολογίες: >2 και >1,7 για υψηλή και χαμηλή ταυτοποίηση αντίστοιχα και <1,7 για μη αξιόπιστη ταυτοποίηση (Λάππα, 2012). Τα είδη με βαθμολογία < 1,7 δεν μπορούν να ταυτοποιηθούν γιατί το πιο πιθανό είναι πως δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες στη βάση δεδομένων για αυτούς τους μικροοργανισμούς. Την άποψη αυτή ενστερνίζονται και άλλοι ερευνητές όπου κατέληξαν σε αυτό το συμπέρασμα μέσα από τις έρευνες που πραγματοποίησαν (Wunschell et al., 2005; Nomura, 2015; Angletti & Ciccuzzi, 2019; Becker et al., 2019; Λάππα, 2012).

Επιπλέον, ειδικότερα για τις ζύμες και μύκες παρόλο που η ταυτοποίηση των ζυμών κυμαίνεται από 92,5% έως 98,8% (Chen et al., 2013; Chao et al., 2014; Wang et al., 2016; Angletti & Ciccuzzi, 2019) όσον αφορά τους μύκητες κυρίως οι νηματοειδείς που χαρακτηρίζονται από φαινοτυπικές αλλαγές παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια πρωτεϊνικών φασμάτων και για αυτό το λόγο η αξιόπιστη ταυτοποίηση εξαρτάται από τις συνθήκες ανάπτυξης και το είδος του μύκητα που συλλέχθηκε για ανάλυση (Angletti & Ciccuzzi, 2019).

Επίσης διαπιστώθηκε η ταυτοποίηση ορισμένων στελεχών σε άλλο είδος μικροοργανισμού. Την ημέρα 40 και 50 στα οξυγαλακτικά βακτήρια στο τελικό προϊόν ένα από τα υπό εξέταση στελέχη (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως *Serratia liquefaciens*. Το βακτήριο *S. liquefaciens* ανήκει στην οικογένεια των εντεροβακτηριοειδών. Στην εργασία των Gendy et al. (2014) έγινε προσπάθεια να ανιχνευτεί η παρουσία των εντεροβακτηριοειδών σε προϊόντα βόειου κρέατος. Βρέθηκε ότι το συγκεκριμένο βακτήριο υπήρχε στον κιμά σε ποσοστό 4%, στον παστουρμά 4% και στο λουκάνικο φρανκφούρτης 4%. Η ανίχνευση του στον κιμά αλλά και στα υπόλοιπα προϊόντα οφείλεται στις κακές υγιεινοοικονομικές συνθήκες που μπορεί να επικρατούν στο κρεοπωλείο ή στο χώρο χειρισμού των προϊόντων καθώς επίσης και στα χέρια των εργαζομένων που μπορεί να είναι μολυσμένα και να μολύνουν και το κρέας από λάθος χειρισμούς (Gendy et al., 2014).

Σχετικά με τα άλλα είδη μικροοργανισμών που ταυτοποιήθηκαν στα υπό εξέταση στελέχη μεταξύ των ζυμών και μυκήτων την ημέρα 0 (α' ύλη) και την ημέρα 30 στο τελικό προϊόν 1 στέλεχος (11,11%) και 2 στελέχη (22,22%), αντίστοιχα ταυτοποιήθηκαν ως *P. libanensis*. Στη ζώνη αποκοπής την ημέρα 30 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως *P. synxantha*. Την ημέρα 40 στη ζώνη αποκοπής και την ημέρα 50 στο τελικό προϊόν 1

στέλεχος (11,11%) και 2 στελέχη (22,22%), αντίστοιχα ταυτοποιήθηκε ως *P. fragi*. Την ημέρα 50 στη ζώνη αποκοπής 1 στέλεχος (11,11%) ταυτοποιήθηκε ως *P. taetrolens*. Βακτήρια του γένους *Pseudomonas* και ειδικά η *P. fragi* είναι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί σε υπό ψύξη συνθήκες αποθήκευσης του κρέατος καθώς μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες από 2°C-35°C. Μπορεί να παράγει ένζυμα τα οποία είναι υπεύθυνα για την αλλοίωση του κρέατος (Ercolini et al., 2010; Wang et al., 2017). Έχουν απομονωθεί σε υψηλούς πληθυσμούς από κρέας ξηρής ωρίμανσης ιδιαίτερα με την άυξηση του χρόνου ωρίμανσης μετά από τις 28 ημέρες όταν η ταχύτητα ροής του αέρα ήταν 5 m/sec (Lee et al., (2019). Στη μελέτη των Ryu et al. (2020) ανιχνεύτηκε επίσης *Pseudomonas* όπως και στην έρευνα των Carouya et al. (2020), καθιστώντας το συγκεκριμένο βακτήριο σημαντικό για τη μικροβιολογική ποιότητα για το βόειο κρέας ξηρής ωρίμανσης. Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει ότι η μικροβιολογική χλωρίδα του βόειου κρέατος, όσον αφορά το είδος των ζυμών και των μυκήτων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων επηρεάζεται από τη διάρκεια ωρίμανσης. Επίσης διαπιστώνονται διαφορές στις ομάδες μικροοργανισμών που εξετάστηκαν στη ζώνη αποκοπής και στο τελικό τελικό προϊόν. Απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για να διαπιστωθούν οι μεταβολές αυτές και η πιθανή τους επίδραση στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου προϊόντος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Α.ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Αντωνόπουλος Ι. (2002). «Επιστημονική ονοματολογία των μυών στα τεμάχια σφαγιου βοοειδών. Περιοδικό της ελληνικής κτηνιατρικής εταιρείας». 53 (4), 358-367.

Γαβριήλ Α. (2009). «Μικροβιακή και φυσικοχημική αλλοίωση κρέατος που συντηρήθηκε σε αερόβιες συνθήκες και σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες». Μεταπτυχιακή μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Ελληνική Μικροβιολογική Εταιρεία, «4^ο Εθνικό Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας & Νοσοκομειακών Λοιμώξεων», Αθήνα, Πολεμικό Μουσείο 12-14 Φεβρουαρίου 2009.

Ζόμα Α. (2017). «Μελέτη των αερομεταφερόμενων μυκήτων και εκτίμηση της ποιότητας του αέρα στο 2^ο Δημοτικό σχολείο Ν. Σμύρνης». Πτυχιακή εργασία, Εθνικό και Καποδιστριακό πανεπιστήμιο Αθηνών.

Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 853/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 29ης Απριλίου 2004 «για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης». Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης (30.4.2004), L 139/55.

Κατίκου Π. (2006). «Επίδραση βιοπροστατευτικών καλλιεργείων στη συντήρηση του νωπού κρέατος». Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ/νίκης.

Κουτσικίδου Χ. (2009). «Σφαγεία, σφαγή, τεμαχισμός και ποιοτική ταξινόμηση βοοειδών σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή και Ελληνική νομοθεσία». Πτυχιακή εργασία, ΤΕΙ Θεσ/νίκης.

Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π.), έκδοση 2014, Γενικό Χημείο του Κράτους.

Λάππα Ι. (2012). «Διερεύνηση της μικροχλωρίδας της στάκας- ταυτοποίηση βακτηρίων με την πρωτεωμική τεχνολογία της φασματομετρίας μαζών». Μεταπτυχιακή διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Λιόλου Ε. (2009). «Μελέτη της επίδρασης ζυμών και γαλακτικών βακτηρίων στη συγκέντρωση ωχρατοξίνης Α σε εργαστηριακά θρεπτικά υποστρώματα». Μεταπτυχιακή μελέτη, Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών.

Μεταξόπουλος Ι., Ματαράγκας Μ., Δροσινός Ε.Χ. «Βακτηριοσίνες των οξυγαλακτικών βακτηρίων και εφαρμογή τους στα τρόφιμα ως βιοσυντηρητικών». Περιοδικό της ελληνικής κτηνιατρικής εταιρείας. 2003, 54(1): 69-77.

Μπάκα Α.-Μ. (2010). «Επίδραση αυτόχθονων καλλιεργειών εκκίνησης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των αλλαντικών αέρος». Μεταπτυχιακή διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ/νικης.

Μπλούκας Ι. Ε. (2007). «Τεχνολογία κρέατος». Εκδόσεις Αθανάσιος Σταμούλης, Αθήνα.

Παπαβέργου Α. (2014). «Τεχνολογία τροφίμων ζωικής προέλευσης , 7^{ος} (IV) κύκλος». Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ/νικης.

Παπασημάκης Γ. (2017). «Χρήση νιτροδών και νιτρικών αλάτων στη συντήρηση των προϊόντων κρέατος». Πτυχιακή εργασία, ΤΕΙ Πελοποννήσου.

Πετρούλα Μ. (2015). «Η επίδραση της συσκευασίας στην μικροβιολογική και οργανοληπτική ποιότητα των λουκάνικων αγγλικού τύπου». Πτυχιακή εργασία, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου.

Πεξάρá Α. (2019). «Ξηρή ωρίμανση του βόειου κρέατος. Ημερίδα «Ασφάλεια και Ποιότητα κρέατος». Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα, 15 Μαΐου 2019.

Πεξάρá Α., Σολωμάκος Ν., Γκόβαρης Α. (2016). «Σημειώσεις του μαθήματος υγιεινή τροφίμων ζωικής προέλευσης II», Καρδίτσα.

Πραγκαλάκη Θ. (2011). «Αναστολή των παθογόνων μικροοργανισμών *Listeria monocytogenes* και *Escherichia coli* 0157:H7 με την επίδραση αυτόχθονων καλλιεργειών γαλακτικών βακτηρίων κατά την παραγωγή ζυμούμενων αλλαντικών». Διδακτορική διατριβή , Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ/νικης.

Ρόδης Π.Σ. (1995). «Μέθοδοι συντήρησης τροφίμων». Εκδόσεις Αθανάσιος Σταμούλης, Αθήνα.

Σαραφιανού Α.-Ε. (2015). «Ανάλυση του γονιδιώματος του βακτηρίου *Streptococcus macedonicus* 679». Διπλωματική εργασία , Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Σκαρλάτος Λ. (2018). «Μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* έναντι διαφορετικών ειδών μυκήτων που σχετίζονται με την αλλοίωση και ασφάλεια των τροφίμων». Μεταπτυχιακή ερευνητική μελέτη, Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών.

Σκληβανίτης Γ. (2014). «Απομόνωση οξυγαλακτικών βακτηρίων από παραδοσιακά ζυμούμενα προϊόντα και μελέτη των βιοχημικών και των βιολειτουργικών ιδιοτήτων τους». Μεταπτυχιακή μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Τασούλα Β. (2017). «Μελέτη του προβιοτικού δυναμικού οξυγαλακτικών βακτηρίων από ζυμούμενες ελιές και ανίχνευση μορίων σημάτων επικοινωνίας (*Quorum Sensing, QS*) ». Μεταπτυχιακή διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Τζιαμουράνη Ε. (2018). «Συμβολή στον προσδιορισμό της ωχρατοξίνης Α (OTA) σε ζωικό ιστό με υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης (H. P. L. C)». Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, πανεπιστήμιο Πατρών.

Τζίντη Χ. (2016). «Μικροβιολογικές αλλοιώσεις σε νωπό κοτόπουλο και κίνδυνοι στη δημόσια υγεία από την κατανάλωση του». Πτυχιακή εργασία, ΤΕΙ Καλαμάτας.

Τσιάβαλος Σ. (2018). «Μελέτη προβιοτικών ιδιοτήτων οξυγαλακτικών βακτηρίων απομονωμένων από ελληνικά παραδοσιακά γαλακτοκομικά προϊόντα». Πτυχιακή μελέτη, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Πελοποννήσου.

Ηλεκτρονικές πηγές:

www.padespani.com/syntages/kreas/meat-cuts-english-greek.

<https://barbq.com.gr/kopes-kreatos-barbq/>

B. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

Alegria A., Alvarez-Martin P., Sacristan N., Fernandez E., Delgado S., Mayi B. (2009). «Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of casin, a traditional Spanish, starter-free cheese made from cows milk». Food Microb. 136, 44-51

Angeletti S., Cicozzi M. (2019). «Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical microbiology»: An updating review. Infection, Genetics and evolution. 76, 104063.

Ammor S. Rachman C., Chaillou S., preALvost H., Dousset X., Zagorec M., Dufour E., Chavellier I. (2005). «Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages». Food Microb. 22, 373-382.

AMPC and MLA. (2010). «Australian meta processor corporation and meat and livestock Australia». Meat technology update; Dry aging of beef.

AMSA, American Meat Science Association. (2015). «Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurements of meat». Chicago, IL, USA.

Apple J.K., Kegley E.B., Galloway D.L., Wistuba T.J., Rakes L.K. (2005). «Duration of restraint and isolation stress as a model to study the dark-cutting condition in cattle». J. Anim. Sci. 83, 1202-1214.

Asefa D.T., Moretro T., Gjerde R.O., Langshrud S., Kure C. F., Sidhu M.S. (2009). «*Yeast diversity and dynamics in the production processes of Norwegian dry-cured meat products*». International Journal of food Microb. 133 (1-2), 135-40.

Baird B. (2008). «*Dry aging enhances palatability of beef, beef safety and quality*». https://www.beefusa.org/uDocs/dry_agingenhancespalatability_of_beef_164.pdf Accessed March-April 2008.

Becker P., Normand A.C., Vanantwerpen G., Vanrobayers M., Haesendock R., Vercammen F., Stubble D., Piarroux R., Hendrickx M. (2019). «*Identification of fungal isolates by MALDI-TOF mass spectrometry in Veterinary practice: Validation of a web application*». Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. Vol. 31(3), 471-474.

Beak S.h., Park S.J., Fassah D.M., Kim H.S.J., Kim M., Jo C., Baik M. (2021). «*Relationships among carcass traits, auction price, and image analysis traits of marbling characteristics in Korean cattle beef*». Meat sci. 171, 108-268.

Berger J., Kim Y. H., Legako J. F., Martini S., Lee J., Ebner P., Schramlin Zuelly S. C. (2018). «*Dry aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins*». Meat sci. 145, 285-291.

Bernardo A.p.d.s., Silva A.C.M.d., Fransisco V.C., Naschimento M.d.s.d. (2020). «*Effects of freezing and thawing on microbiological and physical-chemical properties of dry-aged beef*». Meat sci.16, 108003.

Boschoff J. (1984). «*Dry-aging beef. Is it worth it?*» Meat ind. 30, 12-16.

Bratcher C.L., Johnson P.D., Litell R.C., Wartney B.L. (2005). «*The effects of quality grade, aging and location within muscle of Warner-Bratzler shear force in beef muscles of locomotion*». Meat sci. 70, 279-284.

Campbell R.E., Hunt M.C., Levis P., Chambers E. (2001). «*Dry aging affect on palatability of beef longissimus muscle*». Journal of food sci. 66, 196-199.

Campo M.M., Sanudo C., Panea B., Alberty P. Santolaria P. (1999). «*Breed type ageing time effects on sensory characteristics of beef loin steaks*». Meat sci. 51, 383-390.

Capauya R., Mitchell T., Clark D.I., Clark D. L., Bass P. (2020). «*A survey of microbial communities on dry-aged beef in commercial meat processing facilities*». Meat Muscle Biol. 4 (1):5, 1-11.

Chao Q.T., Lee T.F., Teng S.H., Pengy L.Y., Chen P.H., Teng L.J., Hsueh P.R. (2014). «*Comparison of the accuracy of two conventional phenotypic methods and two MALDI-TOF MW systems with that of DNA sequencing analysis for correctly identifying clinically encountered yeasts*». PLS one g, e109376.

Chen J.H., Yam W.C., Ngan A.H., Fung A.M., Wpp W.L., Yan M.K., Choi G.K., Ho P.L., Cheng V.C., Yuen K.Y. (2013). «*Advantages of using matrix-assisted laser desorption ionization -time of flight mass spectrometry as a rapid diagnostic tool for*

identification of yeasts and mycobacteria in the clinical laboratory». J. Clin. Microbiol. 51, 3981-3987.

Clemente G., Bon J., Sanjuan N., Mullet A. (2011). «*Drying modelling of defrosted Pork meat under forced convection conditions*». Article. Meat sci. 88, 374-378.

Cocolin L., Urso R., Rantsiou K., Contini C., Comi G. (2006). «*Dynamics and characterization of yeasts during natural fermentation at Italian sausages*». FEMS yeast research. 6 (5), 697-701.

Comi G., Muzzin A., Corazzin M., Iacumin L. (2020). «*Lactic Acid Bacteria: Variability Due to Different Pork Breeds, Breeding Systems and Fermented Sausage Production Technology*». Article Department of Agriculture Food, Environmental and Animal Science, University of Udine, 33100 Udine, Italy.

Corbin C.H., O' Quinn T.G., Garmyn A. J., Legako J.F., Hunt M.R., Dinh T.T.N., Miller M.F. (2015). «*Sensory evaluation of tender beef strip loin steaks of varying marbling levels and quality treatments*». Meat sci. 100, 24-31.

Chriki S., Renand G., Picard B., Micol D., Journaux L., Hocquette J.F. (2013). «*Metanalysis of the relationship between beef tenderness and muscle characteristics*». Livestock sc. 155, 424-434.

DeSmet S., Raes k., Demeyer D. (2004). «*Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: A review*». Anim. Res. 53, 81-98.

Dashdorj D., Amna T., Hwang I.H. (2015). «*Influence of specific taste active components on meat flavor as affected by intrinsic and extrinsic factors: An overview*». Eur. Food Res Technol. 241, 157-171.

Dashdorj D., Tripathi V.K., Cho S., Kim Y., Hwang I. (2016). «*Dry aging of beef*» Review. Journal of Animal Science and Technology, 58-20.

Delpech P., Barnes S., Alaterre E., Bonnet M., Gagne C., Montel M.C., Delbes C. (2015). «*Staphylococcus aureus transcriptomic response to inhibition by H₂O₂ producing Lactococcus garviae*». Food Microb. 51, 163-170.

Dransfield E., Martin J. F., Bauchart D., Abouelkaram S., Lepetit J., Culioli J., Picard B. (2003). «*Meat quality and composition of three muscles from French cull cows and young bulls*». Animal sci. 76(3), 387-399.

Egan A.F. (1983). «*Lactic acid bacteria of meat and meat products*». 49:327-336.

Ercolini D., Russo F., Torrieri E., Masi P., Villani F. (2006). «*A review of drying models including shrinkage effects*». Drying Technology. 24 (1), 5-20.

Fazio E. & Ferlazzo A. (2003). «*Evaluation of stress during transport*». Vet. Res. Comm. 27, 519-524.

Fortina M.G., Ricci G., Foschino R., Picozzi C., Dolci P., Zeppa g., Coccolin L., Manachini P.L. (2007). «*Phenotypic typing, technological properties and safety aspects of Lactococcus garviae strains from dairy environments*». J. Appl. Microb. 103, 445-453.

Francesca N., Sannino C., Moschetti G., Settanni L. (2013). «*Microbial characterization of fermented meat products from the sicilian swine breed 'Suino Nero Del Nebrodi'*». Animals of micr. 63, 53-62.

Franz C.M.A.P., Hunchi M., Abrionel H., Holzapfel W., Galvez A. (2011). «*Enterococci as probiotics and their implications in food safety*». Food Microb. 151, 125-140.

Garlough R.B., Campbell a. (2012). «*Dry and wet aging. In modern grade manger, a global perspective*. Second edition. Delmar gengage learning, USA. 441-442.

Gasperlin L., Zlender B., Abram V. (2001). «*Colour of beef heated to different temperatures aw related to meat ageing*». Meat sci. 59, 23-30.

Gibello A., Galan-Sanchez MarBlanco M., Rodnguez-Inglesias M. (2016). «*The zoonot potential of Lactococcus garviae: An overview on microbiology, epidemiology, virulence factors and relationship with its presence in food*». Research in Veterinary Suenec. 109, 59-70.

Grandin T. (1997). «*Assessment of stress during handling and transport*». J. Anim. Sci. 75, 249-257.

Gudjonsdottir M., Gacutan M.D., Mendes A.C., Chronakis I.S., Jespersen L., Karlsson A.H. (2015). «*Effects of electrosporum chitosan wrapping for dry-ageing of beef, as studied by microbiological, physicochemical and low-field nuclear magnetic resonance analysis*». Food chem. 184, 167-175.

EI-Gendy N.M., Ibrahim H.A., Al-Shabasy N., Samaka I.A. (2014). «*Enterobacteriaceae in beef products from retail outlets in Alaxandria*». Alexandria journal of veterinary sciences. 41:80-86

Hanchi H., Mottawea W., Sebei K., Hammami R. (2018). «*The genus Enterococcus: Between probiotic potential and safety concerns*». An update review. Frontiers in Microbiology. 9;1791. Dol:10.3389/fmcb.01791.

Hocquette J.F., Menrice P., Brun J.P., Jurie C., Denoyelle C., Bauchart D., Picard B. (2011). «*BIF-beef: A data warehouse for muscle biology to predict beef quality. Application to the relationship between intramuscular fat level and flavour*». Animal production sci. 51, 975-981.

Honkavaara M., Rintasalo E., Ylonen J., Pudas T. (2003). «*Meat quality and transport stress of cattle*». Deutsche Tierarztliche Wochenschrift 110,125-128.

Huff-Loneragan E., Lonergan S.M. (2005). «*Mechanisms of water holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes*». Meat sci. 71, 194-204.

Hwang I. H., Devine C.E., Hopkins D.L. (2003). «*The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness*». Meat sci. 65, 677-691.

Jayassooriya S.D., Torley P.J., D'Arcy b.r., Bhandari B.R. (2007). «*Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine semitendinosus and Longissimus muscles*». Meat sci. 75, 628-639.

Jones R.J., Hussein H.M., Zaigorec M., Brightnell G., Tagg J.R. (2008). «*Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat*». Food Micr. 25, 228-234.

Kahraman H. A. , Gurbuz Ü. (2019). «*Effects of three aging methods on the Longissimuslumborum muscle from Holstein-Friesian steers*». Med. Weter. 2019, 75 (3), 179-184.

Kato Y., Hirata T., Makino Y., Fakushima A., Yamada T., Kanenchi C., Ogawa M. (2002). «*Change in the composition of the microflora on vacuum-packaged beef during chiller storage*». International Journal of food Microb. 74, 87-99.

Khan M. I., Jung S., Nam K.C. Jo. (2016). «*Postmortem aging of beef with a special reference to the dry aging*». Korean J. food sci. An. Vol. 36, No2, p. 159-169.

Kim E., Cho E.J., Yang S.M., Kim M.J., Kim H.Y. (2021). «*Novel approaches for the identification of microbial communities in Kimchi: MALDI-TOF MS analysis and high throughput sequencing*». Food Microb. 94, 103641.

Lam F. (2013). «*Dry aged beef is a new trend in*». <https://www.bonappetit.com/tesy-kitchen/ingredients/article/dry-agrd-beef-is-a-new-trend-in-restaurants-around-the-country>.

Lee C.W., Lee J.R., Kim M.K., Jo C., Lee K.H., You I., Jung S. (2016). «*Quality Improvement of Pork Loin by Dry Aging*». Korean J Food Sci Anim Resour, 36(3),369-76. doi: 10.5851/kosfa.2016.36.3.369.

Lee H.J., Yoon J.W., Oh H., Yoon Y., Jo C. (2019). «*Changes in microbial composition on the crust by different air flow velocities and their effect on sensory properties of dry-aged beef*». Meat sci. 152-158.

Lee H. J., Choe J., Kim K.T., Oh J., Lee D.G., Kwon K.M., Jo C. (2017). «*Analysis of low-marbled Hanwoo cow meat aged with different dry-aging methods*». Asian-Australasian journal of animal sciences. 30, 1733-1738.

Leisner J.J., Greer G.G., Stiles M.E. (1996). «Control of beef spoilage by a sulfide-producing *Lactobacillus sake* strain with bacteriocinogenic *Leuconostoc gelidum* UAL187 during anaerobic storage at 2°C». American society for Microbiology. Vol.62 No7, P 2610-2614

Lepper-Blilie A.N., Berg E.P., Buchanan D.S., Berg P.T. (2013). « Effects of post-mortem aging time and type of aging on palatability of low marbled beef loins». Meat sci. 96, 473-4.

Li L., Zhu Y. Wang X., He Y. (2014). «Effects of different dietary energy and protein levels and sex on growth performance, carcass characteristics and meat quality of F1 Angus x chinese xiangxi yellow cattle». J. Anim. Sci. Biotechn. 5, 21.

Liu s., Chriki S., Ellies-Ovry M.P., Legrand I., Pogorzelski G., Wierzbicki S., Farmer L., Troy D., Polkinghorne R., Hocquette J.F. (2020). «European conformation and fat scores of bovine carcasses are not good indicator of marbling». Meat sci. 170, 108233.

Malek A., De la Hoz A., Gomez Z- villegas S.I., Nowbakht C., Arias C.A. (2019). «*Lactococcus garviae* an unusual pathogen in infective endocarditis»:case report and review of the literature. 19:301, BMC infections diseases.

Matsuishi M., Mori J., Moon y.h., Okitani A. (1993). «Generation of the desirable aroma, the conditioned raw beef aroma induced by storage of meat in air». Anim. Sci. Technol. 64, 163-170.

Mehmeti I., Musi S., Diep. D.B., Nesa I.F. (2015). «Frequency of the potential pathogen *L. garviae* in raw milk from Kosovo». Food control. 33, 189-194.

Mormede P., Courvoisier H., Ramos A., Marissal-Arvy N., Ousova O., Desautes c. (2002). «Molecular genetic approaches to investigate individual variations in behavioural and neuroendocrine stress responses». Psycho endocrino. 27, 563-583.

Monson F., Sanudo C., Sierra I. (2005). «Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef». Meat sci. 71, 471-479.

Nishimura T. (19988). «Mechanism involved in the improvement of meat taste during postmortem aging». Food sci. and Technology international, Tokyo. 4, 241-249.

Nomura F. (2015). «Proton-based bacterial identification using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): A revolutionary shift in clinical diagnostic microbiology». Biochimica et Biophysica Acta 1854, 528-537.

Oh H., Lee H.J., Lee j., Jo C., Yoon Y. (2019). «Identification of microorganisms Associated with the Quality Improvement of Dty-Aged Beef Through Microbiome Analysis and DNA Sequencing and Evaluation of Their Effects on Beef Quality». Journal of food science. vol 84, Iss10.

Ozturk I. (2015). «*Presence, changes and technological properties of yeast/species during processing of pastirma, a Turkish dry-cured meat product*». Food control. 50, 76-84.

Parrish F. C. JR., Boles J. A., Rust R. E., Olson D.G. (1991). «*Dry and wet aging effects on palatability Attributes beef Loin and Rib steaks from three quality Grades*». Journal of food sci. Volume 56, No3 p. 601-603.

Park S.Y., Seol k.h., Kim H. Y. (2020). «*Effect of dry-aged beef crust levels in quality properties of brown sauce*». Food sci. Anim. Resour. 40 (5), 699-709.

Perry N. (2012). «*Dry aging beef*». Inter j Gastronomy and Food sci. 1:78-80.

PrimeSafe, 2020. «*Agency of the government of the state of Victoria, Australia. Ageing of Beef*». <https://www.primesafe.vic.gov.au/standards-and-guidelines/primenotes/ageing-of-beef/>.

Rantsiou K., Urso R., Iacumin L., Cantoni C., Cattaneo P., Comi G., Cocolin L. (2004). «*Cultyre-dependent and independent methods to investigate the microbial ecology of Italian fermented sausages*». Applied and environmental Microbiology. 71(4), 1977-1986.

Rebucci R., Sangall L., Fava M., Bersani C., Cantoni C., Baldi A. (2007). «*Evaluation of functional aspects in Lactobacillus strains isolated from dry fermented sausages*». Department of veterinary science and technology for food safety, veterinary medicine faculty.

Ribeiro F.A., Lan S.K., Furbeck R.A., Herrera N. J., Henriott M. L., Bland N. A., Fernando S. C., Subbian J., Sullivan C. A., Calkins C. R. (2021). «*Ultimate PH effects on dry-aged beef quality*». Meat Sci. 172, 108365.

Ryu S., Park M.R., Maburtse B.E., Lee W.J., Park D.J., Cho S., Hwang I., Oh S., Kim Y. (2018). «*Diversity and characteristics of the meat Microbiological Community on Dry Aged Beef*». J. Microbiol. Biotechnol. 28(1), 105-108.

Ryu S., Shin M., Cho S., Hwang I., Kim Y., Oh S. (2020). «*Molecular characterization of microbial and Fungal Communities on Dry-Aged Beef of Hanwoo Using Metagenomic Analysis*». Article. MDPI.

Savell S.W. (2008). «*Dry aging of beef. Executive summary*». Centennial, co: National cattlemen's beef association, 1-16

Smith R.D., Nicholson K.L., Nicholson J. D. W., Harris K. B., Miller R. K., Griffin B., Savell J. W. (2008). «*Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability, evaluations of steaks from US choice and US select short loins*». Meat sci. 79, 631-639.

Spanier A.M., Flores M., McMilli K.W., Bidne T.D. (1997). «*The effect of post-mortem aging on meat flavor quality in Brangus beef. Correlation of treatments, sensory, instrumental and chemical descriptions*». Food chem. 59, 531-238.

Sen S., Mansell T. (2020). «*Yeasts and probiotics: Mechanisms, outcomes and future potential*. Fungal Genetics and Biology. 137(2020)103333.

Thompson J.M. (2004). «*The effects of marbling on flavour and juiciness scores of cooked beef, after adjusting to constant tenderness*». Australian journal of experimental Agriculture, 44, 645-652.

Yu Z., Peruzzy M.F., Dumolin C., Joones M., Houf K. (2019). «*Assesment of food microbiological indicators applied on poultry carcasses bu culture combines MALDI-TOF MS identification and 16 rRNA amplicon sequencing*». Food Microb. 82, 53-61.

USMEF, Meat export federation of USA. (2014). «*Guidelines for U.S. dry aged beef for international markets*». <https://www.usmef.org/guidelines-for-U-S-Dry-aged-beef-for-internatioanl-markets>.

Wang G., Li M., Ma F., Wang H., Xu X., Zhou. G. (2017). «*Physicochemical properties of peydomonas fragi isolates response to modified atmosphere packaging*». FEMS Micr. Volume 364.

Warren K.E., Kastner C.L. (1992). «*A comparison of dry-agrd and vacuum-aged beef strip loins*». Journal of muscles foods. 3,151-157.

Zhang T., Xie J., Zhang M., Fu N., Zhang Y. (2015). «*Effect of a potential probiotics Lactococcus garviae B 301 on the growth performance, immune parameters and caecum microflora of broiler chickens*». Anim. Physiol. Anim. Nutri (Berl). 100, 413-424.

<https://www.usda.gov/media/blog/2013/01/28/whats-your-beef-prime-choice-or-select?page=1>

<https://www.usda.gov/media/blog/2013/01/28/whats-your-beef-prime-choice-or-select?page=1>