



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR**

Δρ. Βασιλεία Σινάνογλου/ Dr. Vasileia Sinanoglou

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

**ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Σύγχρονες και ταχείες αναλυτικές μέθοδοι για τον έλεγχο της  
διατηρησιμότητας των τροφίμων.**

MSc Thesis

Modern and fast analytical methods for evaluating food durability.

Διευθυντής

**Καθ. Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων (ΠΑ.Δ.Α) Ιωάννης Τσάκνης**

**ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT**

Ευγενία Χατζημαρκάκη/Evgenia Chatzimarkaki

**ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR**

Δρ. Βασιλεία Σινάνογλου/ Dr. Vasileia Sinanoglou





FACULTY OF FOOD SCIENCES

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

Master of Science

**FOOD INNOVATION, QUALITY AND SAFETY**

MSc Thesis

**Modern and fast analytical methods for evaluating food durability.**

Evgenia Chatzimarkaki

19030

[jennyhatzim@hotmail.com](mailto:jennyhatzim@hotmail.com)

SUPERVISOR

Dr. Vasileia Sinanoglou

AIGALEO 2021

Έγινε δεκτή

Ο Διευθυντής του ΠΜΣ:

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο “Σύγχρονες και ταχείες αναλυτικές μέθοδοι για τον έλεγχο της διατηρησιμότητας των τροφίμων” που παρουσιάσθηκε από την Χατζημαρκάκη Ευγενία, υποψηφίας για τον μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στην ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία

Όνομα επιβλέποντος

Δρ. Σινάνογλου Βασιλεία

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

Δρ. Κοντελής Σπυρίδων

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

Δρ. Κάβουρας Διονύσιος

## Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright

Έχοντας πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικής ιδιοκτησίας, δηλώνω ότι είμαι αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω όλες τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, στην περίπτωση που διαπιστωθεί διαχρονικά ότι η εργασία μου αυτή ή τμήμα αυτής αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Χατζημαρκάκη Ευγενία





## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, Δρ. Βασιλεία Σινάνογλου, για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή της καθ'όλη τη διάρκεια προετοιμασίας και συγγραφής της παρούσας εργασίας καθώς και τους καθηγητές του Πανεπιστημίου, Δρ. Κάβουρα Διονύση, Δρ. Στρατή Ειρήνη, Δρ. Κοντελέ Σπύρο και Δρ. Ζουμπουλάκη Παναγιώτη, οι οποίοι συνέβαλαν στη σύλληψη της ιδέας της εργασίας.





## **Αφιερώσεις**

Αυτή η εργασία είναι αφιερωμένη στους γονείς μου, που ανέκαθεν με στήριζαν και με στηρίζουν ολοκληρωτικά.



## Περίληψη

Τα τρόφιμα είναι ευπαθή προϊόντα από τη φύση τους και κατά την αποθήκευσή τους λαμβάνει χώρα πληθώρα διεργασιών, οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την ποιότητά τους. Στην παρούσα εργασία, εξετάζονται οι τρόποι υποβάθμισης των τροφίμων (χημικές, φυσικές και μικροβιολογικές διεργασίες) και αναφέρονται κινητικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται για να εκφράσουν τις ποιοτικές αλλαγές που συμβαίνουν. Επιπλέον, αναλύονται κάποιες σύγχρονες και ταχείες μέθοδοι, οι οποίες είτε χρησιμοποιούνται ήδη είτε μελετώνται για τη δυνητική αξιοποίησή τους σε μελέτες διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων, ως εναλλακτικές των κλασικών μετρήσεων και της οργανοληπτικής αξιολόγησης. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζεται η μέθοδος ανάλυσης εικόνας, η οποία βασίζεται στην υπολογιστική όραση, η υγρή και αέρια χρωματογραφία, η μέτρηση χρώματος μέσω χρωματομέτρου, η ηλεκτρονική μύτη και η ηλεκτρονική γλώσσα, η φασματοσκοπία υπερύθρου, η ανάλυση υφής μέσω αναλυτή υφής αλλά και μέσω των ακουστικών ιδιοτήτων των τροφίμων, η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης καθώς και οι αισθητήρες χρόνου-θερμοκρασίας. Από τη μελέτη αυτή εξάχθηκε το συμπέρασμα ότι οι τεχνικές αυτές είναι πολλά υποσχόμενες για τη χρησιμοποίησή τους σε μελέτες διατηρησιμότητας, όμως απαιτείται περισσότερη έρευνα σε ποικιλία τροφίμων και σε μερικές περιπτώσεις επικύρωση των μεθόδων, προκειμένου να αντικαταστήσουν παλαιότερες, πιο χρονοβόρες και πιθανόν κοστοβόρες μεθόδους.

## Abstract

Foods are perishable by nature and numerous changes take place during their storage that may influence the quality attributes in foods. In this thesis, certain major modes of food deterioration (chemical, physical and microbiological deteriorative changes) are examined and various kinetics models that are used to express quality changes in foods are discussed. Also, some modern and fast analytical methods are presented. These methods are either under study or already in use for evaluating food durability and stability instead of classical measurements and sensory evaluation. More specifically, the techniques that are introduced are: image analysis, which is based on computer vision, gas and liquid chromatography, colour measurement with a chromameter, e-nose and e-tongue, texture analysis with a texture analyzer and with acoustic analysis of foods, polymerase chain reaction and time-temperature indicators. It was concluded that these techniques are very promising for evaluating food durability, but more research needs to be done in various food categories and in some cases validation studies need to be conducted in order for these modern techniques to replace the older, time consuming and more expensive methods that are used.

## Περιεχόμενα

Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright .....	iv
Ευχαριστίες .....	vi
Αφιερώσεις .....	viii
Περίληψη .....	x
Abstract.....	xi
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή.....	1
Κεφάλαιο 2: Διατηρησιμότητα τροφίμων .....	3
2.1. Παράγοντες που επηρεάζουν τη διατηρησιμότητα των τροφίμων .....	4
2.1.1 Μικροβιολογικές διεργασίες .....	5
2.1.2. Χημικές διεργασίες .....	7
2.1.3 . Φυσικές διεργασίες .....	9
2.2. Θεωρητικές αρχές για την αξιολόγηση της διατηρησιμότητας τροφίμων .....	10
2.2.1 Κινητική αντιδράσεων υποβάθμισης τροφίμων .....	12
2.2.2. Επίδραση της θερμοκρασίας .....	14
2.2.3. Διαγράμματα χρόνου ζωής.....	16
Κεφάλαιο 3: Σύγχρονες και ταχείες αναλυτικές μέθοδοι .....	20
3.1. Υπολογιστική όραση .....	20
3.1.1. Αναλυτική πορεία .....	20
3.1.2. Εφαρμογή υπολογιστικής όρασης στην μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	21
4.2. Χρωματογραφία .....	25
4.2.1. Αέρια χρωματογραφία .....	25
4.2.2. Υγρή χρωματογραφία .....	27
4.2.3. Εφαρμογές της χρωματογραφίας στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	29
4.3. Μέτρηση χρώματος .....	33
4.3.1. Χρωματικά μοντέλα CIE L* a* b* και CIE L* C* h. ....	34
4.3.2. Λειτουργία χρωματόμετρου .....	37
4.3.3. Εφαρμογές χρωματόμετρου στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	37
4.4. Ηλεκτρονική μύτη .....	39
4.4.1. Περιγραφή ηλεκτρονικής μύτης .....	40
4.4.2. Σύστημα χειρισμού δείγματος.....	40
4.4.3. Σύστημα ανίχνευσης.....	41

4.4.4. Σύστημα επεξεργασίας δεδομένων.....	42
4.4.5. Εφαρμογές ηλεκτρονικής μύτης στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	43
4.5. Ηλεκτρονική γλώσσα .....	44
4.5.1. Λειτουργία ηλεκτρονικής γλώσσας .....	45
4.5.2. Εφαρμογές ηλεκτρονικής γλώσσας στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	46
4.6. IR .....	47
4.6.1. Θεωρητικές αρχές.....	48
4.6.2 Λειτουργία φασματοφωτόμετρου υπερύθρου .....	50
4.6.3 Εφαρμογές IR στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	51
4.7. Ανάλυση προφίλ υφής (TPA) .....	52
4.7.1 Αναλυτής υφής .....	52
4.7.2. Μετρούμενες ιδιότητες .....	54
4.7.3. Εφαρμογές ανάλυση προφίλ υφής στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	55
4.8. Ακουστικές ιδιότητες τροφίμων .....	56
4.8.1. Διαδικασία μέτρησης με καταστρεπτική τεχνική .....	57
4.8.2. Εφαρμογές μέτρησης ακουστικών ιδιοτήτων στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	59
4.9. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης.....	60
4.9.1. Αρχή λειτουργίας PCR.....	60
4.9.2. Ποσοτική PCR.....	62
4.9.3. Εφαρμογές PCR στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων .....	63
4.10. Θερμοκρασιακοί δείκτες .....	65
4.10.1. Δείκτες κρίσιμης θερμοκρασίας .....	66
4.10.2 Δείκτες μερικού ιστορικού.....	66
4.10.3. Δείκτες πλήρους ιστορικού.....	67
Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα.....	69
Αναφορές.....	73

## Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Για κάθε τρόφιμο υπάρχει ένα πεπερασμένο χρονικό διάστημα μετά την παραγωγή, κατά τη διάρκεια του οποίου διατηρούνται τα οργανοληπτικά, χημικά, φυσικά και μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του και το οποίο μπορεί να χαρακτηριστεί ως χρόνος διατηρησιμότητας ή αλλιώς, διάρκεια ζωής του τροφίμου. Η θερμοκρασία και η υγρασία είναι κρίσιμοι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν της διεργασίες επιδείνωσης των τροφίμων. Οργανοληπτικές παράμετροι, όπως το χρώμα, καθορίζουν την πρώτη εντύπωση των καταναλωτών και επηρεάζουν την πρόθεση αγοράς. Η υφή επηρεάζει σημαντικά το πως αντιλαμβανόμαστε τη γεύση των τροφίμων. Όλες αυτές οι παράμετροι, μεταξύ άλλων, μπορούν να τροποποιηθούν κατά την αποθήκευση και διανομή των τροφίμων.

Το ζήτημα της διατηρησιμότητας των τροφίμων αποτελεί κρίσιμο τομέα επιστημονικού ενδιαφέροντος. Το ολοένα αυξημένο ενδιαφέρον των καταναλωτών για την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων, η πίεση από λιανοπωλητές και οι αλλαγές στη νομοθεσία έχουν συνεισφέρει στο να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή σε αυτόν τον τομέα. Ο κατάλληλος και σωστός προσδιορισμός της διατηρησιμότητας και της σταθερότητας των τροφίμων, είναι βασικός κανόνας για τις Ορθές Βιομηχανικές Πρακτικές (GMP) για τη βιομηχανία τροφίμων και ποτών. Οι παραγωγοί που έχουν ως στόχο να παράγουν ασφαλή και ελκυστικά προϊόντα ήδη ξέρουν τη σημασία του ορθού προσδιορισμού της διατηρησιμότητας των προϊόντων. Εσφαλμένος προσδιορισμός μπορεί δυνητικά να έχει νομικές ή οικονομικές συνέπειες.

Πολλές διαφορετικές διεργασίες αλλοίωσης και υποβάθμισης μπορεί να λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα κατά την αποθήκευση, αλλά μόνο οι βασικές αντιδράσεις οι οποίες που επηρεάζουν τα σημαντικά ποιοτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου χρειάζεται να παρακολουθούνται κατά τη διάρκεια μιας μελέτης διατηρησιμότητας (όπως για παράδειγμα η τραγανότητα σε ένα κράκερ, το χρώμα και η υφή σε φρούτα και λαχανικά κ.λπ). Φυσικά, η μικροβιολογική μελέτη είναι μια πρωταρχική και αναγκαία παράμετρος που εξετάζεται σε τέτοιες μελέτες. Μια κοινή πρακτική που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της διατηρησιμότητας ενός τροφίμου, είναι ο προσδιορισμός των αλλαγών σε επιλεγμένα χαρακτηριστικά σε ένα χρονικό διάστημα και, ως τέλος της διάρκεια ζωής θεωρείται η χρονική στιγμή που το ποιοτικό χαρακτηριστικό φτάνει μια συγκεκριμένη τιμή.

Παρ' όλο που η οργανοληπτική αξιολόγηση χρησιμοποιείται εκτεταμένα προκειμένου να αξιολογηθεί η ποιότητα κι η διατηρησιμότητα των τροφίμων, είναι μια χρονοβόρα και ακριβή διαδικασία. Γι' αυτό το λόγο, γίνεται προσπάθεια ανάπτυξης ενόργανων αναλυτικών μεθόδων προκειμένου να αξιολογούνται τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και να προσδιορίζεται η διάρκεια ζωής των τροφίμων. Οι ενόργανες αναλυτικές μέθοδοι έχουν συνήθως μεγαλύτερη ακρίβεια και αναπαραγωγιμότητα από την οργανοληπτική αξιολόγηση, ωστόσο, όταν χρησιμοποιούνται ενόργανες αναλυτικές τεχνικές για τη μέτρηση οργανοληπτικών ποιοτικών παραμέτρων, μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστες μόνο εάν οι μετρούμενες παράμετροι μπορεί να συσχετιστούν ικανοποιητικά με τα σχετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται οι διεργασίες υποβάθμισης των τροφίμων και αναφέρονται οι θεωρητικές αρχές για την αξιολόγηση της διατηρησιμότητας των προϊόντων. Ακολούθως, αναλύονται κάποιες σύγχρονες και ταχείες αναλυτικές μέθοδοι οι οποίες είτε χρησιμοποιούνται ήδη είτε δύναται να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη ποιοτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων και την εκτίμηση της διατηρησιμότητάς τους. Τέλος, παρουσιάζονται τα συμπεράσματα που εξάχθηκαν από αυτή τη μελέτη.



## Κεφάλαιο 2: Διατηρησιμότητα τροφίμων

Οι καταναλωτές απαιτούν ολοένα και περισσότερο υψηλή ποιότητα τροφίμων και προσδοκούν ότι η ποιότητα αυτή θα διατηρηθεί σε υψηλό επίπεδο κατά την περίοδο μεταξύ αγοράς και κατανάλωσης. Αυτές οι προσδοκίες είναι συνέπεια, όχι μόνο της πρωταρχικής απαίτησης να παραμείνουν τα τρόφιμα ασφαλή, αλλά και της ανάγκης ελαχιστοποίησης ανεπιθύμητων αλλαγών στην οργανοληπτική ποιότητα (Kilcast & Subramaniam, 2000). Τα βασικά συστατικά του τροφίμου, δηλαδή οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λιπίδια, συμμετέχουν σε πολλές αντιδράσεις που έχουν ως τελικό αποτέλεσμα την υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, της θρεπτικής αξίας και της ασφάλειας του τροφίμου. Η ποιότητα τροφίμου γενικά ορίζεται σαν το σύνολο των χαρακτηριστικών που επιτρέπουν το διαχωρισμό του και καθορίζουν το βαθμό αποδοχής του από τον καταναλωτή. Πρόκειται για μια δυναμική κατάσταση που κινείται προς φθίνουσα κατεύθυνση. Για το λόγο αυτό, τα τρόφιμα έχουν πεπερασμένη διατηρησιμότητα ή διάρκεια ζωής (shelf life). Ως διατηρησιμότητα ή χρόνος ζωής ορίζεται η χρονική περίοδος, κατά τη διάρκεια της οποίας η κατανάλωση του τροφίμου είναι ασφαλής, η ποιότητά του αποδεκτή από το καταναλωτικό κοινό και υπάρχει αντιστοιχία με τη διατροφική δήλωση στην ετικέτα (Taoukis, et al., 1997). Η Ευρωπαϊκή Κοινότητα εισήγαγε, για την επισήμανση των προϊόντων, το χρόνο ελάχιστης διατηρησιμότητας (minimum durability). Συγκεκριμένα, στο άρθρο 9 της ΟΔΗΓΙΑΣ 2000/13/ΕΚ αναφέρεται πως «Η χρονολογία ελάχιστης διατηρησιμότητας ενός τροφίμου είναι η χρονολογία, μέχρι την οποία το τρόφιμο διατηρεί τις ιδιαίτερες ιδιότητές του σε κατάλληλες συνθήκες διατηρήσεως». Η ημερομηνία ελάχιστης διατηρησιμότητας δίνεται με την ένδειξη:

- «ανάλωση κατά προτίμηση πριν από...», εφ' όσον περιλαμβάνεται και η ακριβής ημέρα,
- «ανάλωση κατά προτίμηση πριν από το τέλος...», στις υπόλοιπες περιπτώσεις.

Σύμφωνα με την ίδια οδηγία, στην περίπτωση των τροφίμων που είναι μικροβιολογικώς εξαιρετικά αλλοιώσιμα και τα οποία για το λόγο αυτό ενδέχεται ύστερα από σύντομο χρονικό διάστημα, να αποτελέσουν άμεσο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία, η ημερομηνία ελάχιστης διατήρησης αντικαθίσταται από την ημερομηνία μέχρι την οποία επιτρέπεται η ανάλωση.

Οι παρασκευαστές είναι υπεύθυνοι για τον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής των τροφίμων που παράγουν. Υπάρχουν έτοιμα μοντέλα πρόβλεψης τα οποία μπορούν να βοηθήσουν στον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής, όμως είναι ακόμα περιορισμένη η χρήση τους και συχνά απαιτείται εργαστηριακός έλεγχος μικροβιολογικών, χημικών ή οργανοληπτικών δεικτών του τροφίμου σε σχέση με το χρόνο.

Σε γενικές γραμμές, οι μικροβιολογικές αλλαγές είναι πρωταρχικής σημασίας για προϊόντα μικρής διάρκειας ζωής και οι χημικές και οργανοληπτικές μεταβολές για προϊόντα με μεσαία προς μακρά διάρκεια ζωής. Και οι τρεις τύποι αλλαγών μπορούν να είναι σημαντικοί για προϊόντα μικρής προς μεσαίας διάρκειας ζωής (Kilcast & Subramaniam, 2000).

## **2.1. Παράγοντες που επηρεάζουν τη διατηρησιμότητα των τροφίμων**

Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τη διατηρησιμότητα των τροφίμων και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Οι ενδογενείς παράγοντες είναι οι ιδιότητες του τελικού προϊόντος και επηρεάζονται από μεταβλητές όπως το είδος κι η ποιότητα των α' υλών, τη διαδικασία παραγωγής κ.λπ. Σε αυτούς περιλαμβάνονται οι ακόλουθοι (Kilcast & Subramaniam, 2000):

- Ενεργότητα ύδατος ( $a_w$ ).
- Τιμή pH και ολική οξύτητα.
- Οξειδοαναγωγικό δυναμικό ( $E_h$ ).
- Διαθέσιμο οξυγόνο.
- Θρεπτικά συστατικά.
- Φυσική μικροχλωρίδα και μικροβιακές αποικίες.
- Φυσική βιοχημική σύσταση του προϊόντος (π.χ. παρουσία ενζύμων).
- Χρήση συντηρητικών κατά την παραγωγή του προϊόντος (π.χ. προσθήκη άλατος).

Οι εξωγενείς παράγοντες είναι εκείνοι που "αντιμετωπίζει" το προϊόν καθώς κινείται στην αλυσίδα τροφίμων και σε αυτούς περιλαμβάνονται οι εξής (Kilcast & Subramaniam, 2000).

- Προφίλ θερμοκρασίας-χρόνου κατά την επεξεργασία και πίεση στη συσκευασία του τροφίμου.
- Θερμοκρασιακός έλεγχος κατά την αποθήκευση και διανομή.

- Σχετική υγρασία (RH) κατά την επεξεργασία, αποθήκευση και διανομή.
- Έκθεση σε φως (UV και IR) κατά την επεξεργασία, αποθήκευση και διανομή.
- Μικροβιακές αποικίες στο περιβάλλον όπου γίνεται η επεξεργασία, αποθήκευση και διανομή.
- Ατμοσφαιρική σύσταση αερίων μέσα στη συσκευασία.
- Επακόλουθη θερμική επεξεργασία (π.χ. αναθέρμανση ή μαγείρεμα πριν την κατανάλωση).
- Χειρισμός από τους καταναλωτές.

Όλοι αυτοί οι παράγοντες μπορούν να λειτουργήσουν με διαδραστικό και συχνά απρόβλεπτο τρόπο και η πιθανότητα αλληλεπιδράσεων πρέπει να διερευνάται. Ένας ιδιαίτερα χρήσιμος τύπος αλληλεπίδρασης συμβαίνει όταν παράγοντες όπως η μειωμένη θερμοκρασία, η ήπια θερμική επεξεργασία, η αντιοξειδωτική δράση και η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας λειτουργούν ταυτόχρονα για να περιορίσουν την ανάπτυξη μικροβίων, κάτι που ονομάζεται «τεχνολογία εμποδίων». Αυτός ο τρόπος συνδυασμού παραγόντων οι οποίοι, μεμονωμένα, δεν μπορούν να αποτρέψουν την ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου αλλά, σε συνδυασμό, παρέχουν μια σειρά από εμπόδια που το επιτυγχάνουν, επιτρέπει στους παραγωγούς να χρησιμοποιούν πιο ήπιες τεχνικές επεξεργασίας, που διατηρούν τις περισσότερες από τις οργανοληπτικές και θρεπτικές ιδιότητες ενός προϊόντος (Kilcast & Subramaniam, 2000).

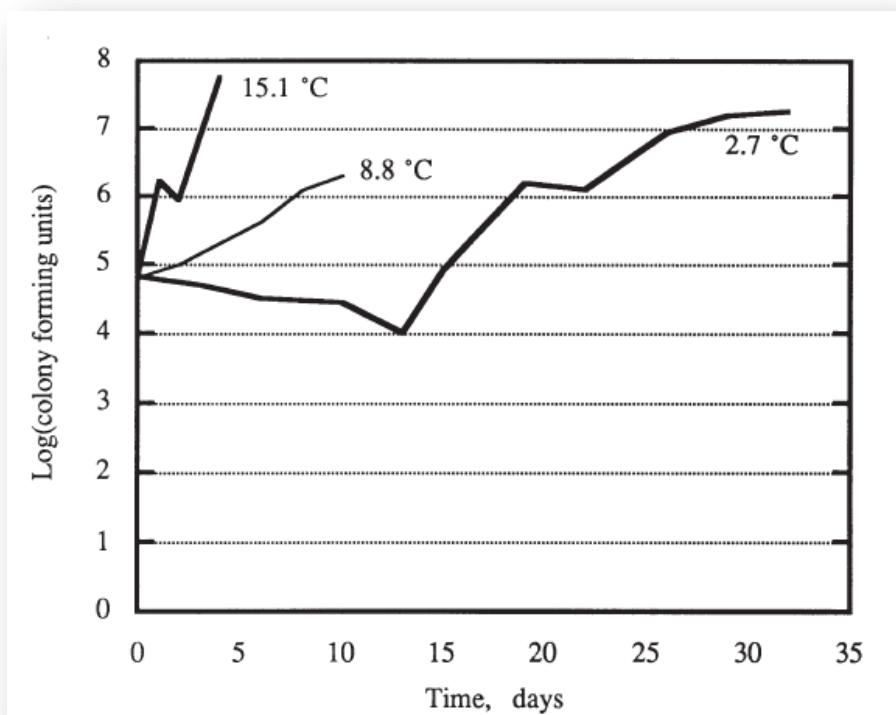
Η αλληλεπίδραση των ενδογενών και εξωγενών παραγόντων έχει ως αποτέλεσμα είτε την αναστολή είτε τη διέγερση ενός αριθμού διεργασιών που περιορίζουν τη διατηρησιμότητα. Αυτές οι διεργασίες μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής (Kilcast & Subramaniam, 2000):

- Μικροβιολογικές διεργασίες.
- Χημικές διεργασίες.
- Φυσικές διεργασίες.

### **2.1.1 Μικροβιολογικές διεργασίες**

Κατά τον προσδιορισμό της επίδρασης των μικροοργανισμών στη διατηρησιμότητα των τροφίμων, πρέπει να είναι γνωστοί οι ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης ως συνάρτηση διαφόρων παραγόντων. Οι πιο σημαντικοί παράγοντες είναι το αρχικό μικροβιακό φορτίο, οι φυσικοχημικές ιδιότητες του τροφίμου (όπως η υγρασία, το pH, η ύπαρξη

συντηρητικών), οι μέθοδοι επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του τροφίμου και οι συνθήκες περιβάλλοντος (όπως η σύνθεση αερίων και η θερμοκρασία). Οι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται με υψηλούς ρυθμούς όταν υπάρχουν ευνοϊκές συνθήκες. Πριν από τη συγκομιδή, τα φρούτα και τα λαχανικά έχουν γενικά καλούς αμυντικούς μηχανισμούς κατά των μικροβιακών επιθέσεων, ωστόσο μετά τον διαχωρισμό από το φυτό, μπορούν εύκολα να υποκύψουν στον μικροβιακό πολλαπλασιασμό. Παρομοίως, το κρέας κατά τη σφαγή δεν μπορεί αντισταθεί στους ταχέως αναπτυσσόμενους μικροοργανισμούς (Man & Jones, 1994). Ο μικροβιακός πολλαπλασιασμός σε τυρί cottage αποθηκευμένο σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες φαίνεται στην εικόνα 1 (Shellhammer & Singh, 1991). Η μικροβιακή αύξηση των τροφίμων οδηγεί σε αλλοίωση των τροφίμων με την ανάπτυξη ανεπιθύμητων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και σε ορισμένες περιπτώσεις, τα τρόφιμα μπορεί να καταστούν μη ασφαλή για κατανάλωση (Man & Jones, 1994).



**Εικόνα 1:** Περιεκτικότητα σε μικροοργανισμούς τυριού cottage σε τρεις θερμοκρασίες. Άξονας x: Χρόνος (σε ημέρες). Άξονας y: λογάριθμος των μονάδων σχηματισμού αποικιών (cfu) (Shellhammer & Singh, 1991).

Η παθογένεια ορισμένων μικροοργανισμών αποτελεί μείζον ζήτημα ασφάλειας στη μεταποίηση και το χειρισμό τροφίμων. Μετά την κατανάλωση ακατάλληλου τροφίμου, μικροοργανισμοί όπως τα είδη σαλμονέλας και τα στελέχη *Escherichia Coli* προκαλούν μόλυνση ενώ άλλα όπως *Aspergillus flavus*, *Clostridium botulinum* και *Staphylococcus aureus* παράγουν χημικές ουσίες σε τρόφιμα που είναι τοξικές για τον άνθρωπο. Η αλλαντίαση (botulism) είναι μια γνωστή τροφική δηλητηρίαση λόγω της υψηλής δραστηριότητας της τοξίνης και τα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας που σχετίζονται με αυτήν. Η τροφική δηλητηρίαση λόγω του σταφυλόκοκκου είναι συχνότερη, αν και δεν είναι τόσο σοβαρή όσο η αλλαντίαση. Η παρουσία μούχλων και η ανάπτυξή τους σε ένα προϊόν διατροφής, μπορεί οδηγεί σε ανεπιθύμητη εμφάνιση και δυσάρεστη γεύση. Κάτω από ορισμένες ευνοϊκές συνθήκες, τα σπόρια μούχλας μπορούν επίσης να παράγουν χημικές ουσίες που είναι τοξικές για τον άνθρωπο. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσης τροφίμων, ειδικές διαδικασίες χρησιμοποιούνται για να ελαχιστοποιηθεί ή να αποτραπεί η πιθανότητα εμφάνισης παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών (Man & Jones, 1994).

Διάφορα μέτρα που χρησιμοποιούνται συνήθως για την ελαχιστοποίηση ή την πρόληψη της μικροβιακής ανάπτυξης περιλαμβάνουν τη μετατροπή της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος (είτε μείωση της θερμοκρασίας για επιβράδυνση των διαδικασιών ανάπτυξης είτε αύξηση θερμοκρασίας για την καταστροφή των μικροοργανισμών), την αφαίρεση νερού έτσι ώστε να μην είναι διαθέσιμο για την ανάπτυξη μικροοργανισμών, τον έλεγχο των αερίων περιβάλλοντος (όπως η μείωση του οξυγόνου ή η αύξηση της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα), τη μείωση ή διακοπή της μικροβιακής ανάπτυξης με προσθήκη οξέος και προώθηση της ζύμωσης, μειώνοντας έτσι το pH (Man & Jones, 1994).

### **2.1.2. Χημικές διεργασίες**

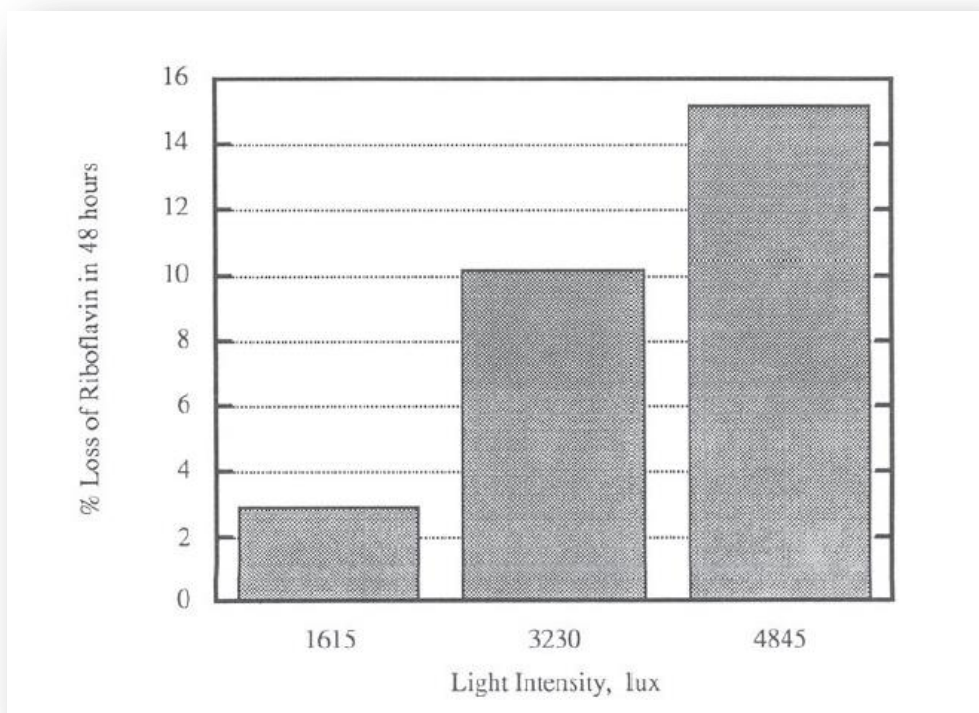
Κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση των τροφίμων, συμβαίνουν αρκετές χημικές διεργασίες που περιλαμβάνουν συστατικά του τροφίμου και εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αυτές οι διεργασίες, μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση των τροφίμων και να μειώσουν τη διατηρησιμότητά τους. Οι πιο σημαντικές χημικές αλλαγές συνδέονται με ενζυμική δράση, αντιδράσεις οξείδωσης και ιδιαίτερα την οξείδωση των

λιπιδίων, που είναι η κύρια αιτία αλλοίωσης πολλών τροφίμων, καθώς και με τη μη ενζυμική αμαύρωση που προκαλεί αλλαγές στην εμφάνιση (Man & Jones, 1994).

Σε ευνοϊκές θερμοκρασίες, όπως η θερμοκρασία δωματίου, πολλές ενζυμικές αντιδράσεις εξελίσσονται με γρήγορους ρυθμούς, αλλάζοντας τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων. Για παράδειγμα, τα φρούτα όταν κοπούν, τείνουν να μαυρίζουν γρήγορα σε θερμοκρασία δωματίου λόγω της αντίδρασης της φαινολάσης με τα κυτταρικά συστατικά που απελευθερώνονται όταν κόβεται ο ιστός υπό την παρουσία οξυγόνου. Ένζυμα όπως η λιποξυγενάση, εάν δεν μετουσιωθούν κατά τη διάρκεια του ζεματίσματος, μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα των τροφίμων, ακόμα και σε θερμοκρασίες κατάψυξης. Εκτός από τη θερμοκρασία, άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως το οξυγόνο, το νερό και το pH, μπορούν να πυροδοτήσουν αλλαγές στα τρόφιμα που καταλύονται από ένζυμα (Man & Jones, 1994).

Η παρουσία ακόρεστων λιπαρών οξέων στα τρόφιμα είναι ο κύριος λόγος για την ανάπτυξη ταγγής γεύσης κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, εφόσον υπάρχει διαθέσιμο οξυγόνο. Ενώ η ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών είναι αξιοσημείωτη στα ταγγισμένα τρόφιμα, η δημιουργία ελευθέρων ριζών με αυτόκαταλυτική διαδικασία, οδηγεί σε άλλες ανεπιθύμητες αντιδράσεις όπως για παράδειγμα, απώλεια βιταμινών, αλλαγή χρώματος και αποικοδόμηση πρωτεϊνών (Man & Jones, 1994).

Ο ρυθμός οξειδωσης των λιπιδίων επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες. Όπως αναφέρθηκε ήδη, η θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι μία σημαντική μεταβλητή. Η παρουσία οξυγόνου σε άμεση γειτνίαση με το τρόφιμο οδηγεί σε αυξημένους ρυθμούς οξειδωσης. Ακόμη, το νερό παίζει σημαντικό ρόλο καθώς η οξειδωση των λιπών προχωρά με υψηλούς ρυθμούς σε πολύ χαμηλές ενεργότητες ύδατος. Κατά τον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής τροφίμων που περιέχουν λιπαρά, πρέπει να είναι γνωστοί οι μηχανισμοί αντίδρασης και ο ρυθμός αυτών. Πέρα από την οξειδωση των λιπιδίων, υπάρχουν και άλλες χημικές αντιδράσεις που προκαλούνται από το φως, όπως η απώλεια βιταμινών και η αμαύρωση του κρέατος (Man & Jones, 1994). Η επίδραση του φωτός στην απώλεια ριβοφλαβίνης σε γάλα που αποθηκεύεται σε μπουκάλια υψηλής πυκνότητας πολυαιθυλενίου φαίνεται στην εικόνα 2 (Singh, Heldman, & Kirk, 1975)



**Εικόνα 2:** Απώλεια της ριβοφλαβίνης σε πλήρες γάλα που διατηρείται σε μπουκάλια πολυαιθυλενίου υψηλής πυκνότητας υπό φως στους 4,4°C. Άξονας x: Ένταση του φωτός (lux). Άξονας y: επί τοις εκατό απώλεια ριβοφλαβίνης σε 48 ώρες (Singh, Heldman, & Kirk, 1975).

Η μη ενζυμική αμαύρωση είναι μία από τις βασικές αιτίες για την αλλαγή στην ποιότητα και την θρεπτική υποβάθμιση σε πολλά τρόφιμα. Αυτός ο τύπος αντίδρασης αμαύρωσης συμβαίνει λόγω της αλληλεπίδρασης μεταξύ αναγωγικών σακχάρων και αμινοξέων. Αυτές οι αντιδράσεις έχουν ως αποτέλεσμα να μειώνεται η διαλυτότητα των πρωτεϊνών, να σκουραίνουν ελαφρά χρωματισμένα αποξηραμένα προϊόντα καθώς και να αναπτύσσονται πικρές γεύσεις. Περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η ενεργότητα ύδατος και το pH έχουν επίδραση στη μη ενζυμική αμαύρωση (Man & Jones, 1994).

### 2.1.3 . Φυσικές διεργασίες

Οι φυσικές διεργασίες προκαλούνται από την κακή διαχείριση κατά τη συγκομιδή, την επεξεργασία και τη διανομή και οδηγούν σε μειωμένη διατηρησιμότητα των τροφίμων. Η άσκηση πίεσης σε φρούτα και λαχανικά κατά τη συγκομιδή και κατά τους χειρισμούς μετά τη συγκομιδή, οδηγεί στην ανάπτυξη σήψης. Το “χτύπημα” αποξηραμένων τροφίμων κατά

τη διανομή, επηρεάζει πολύ σημαντικά την ποιότητά τους. Τα κονδυλώδη και τα φυλλώδη λαχανικά χάνουν νερό όταν διατηρούνται σε ατμόσφαιρες χαμηλές σε υγρασία και ως αποτέλεσμα, μαραίνονται. Αποξηραμένα τρόφιμα, όταν διατηρούνται σε περιβάλλον με υψηλή υγρασία, ενδέχεται να απορροφήσουν υγρασία και να λασπώσουν. Στην περίπτωση κατεψυγμένων τροφίμων, οι διακυμάνσεις στη θερμοκρασία είναι συχνά καταστροφικές, όπως για παράδειγμα στο παγωτό που η διακύμανση της θερμοκρασίας προκαλεί επανακρυστάλλωση αυτού και οδηγεί σε ανεπιθύμητη αμμώδη υφή. Τα καψίματα κατάψυξης (freezer burns) είναι ένα σημαντικό ποιοτικό μειονέκτημα των κατεψυγμένων τροφίμων που προκαλείται από την έκθεση τους σε κυμαινόμενες θερμοκρασίες. Εάν οι διακυμάνσεις είναι μεγάλες και το τρόφιμο υφίσταται αλλαγή φάσης, τότε συμβαίνουν πιο εμφανείς ανεπιθύμητες αλλαγές, όπως για παράδειγμα αλλαγές που προκαλούνται από την απόψυξη και την επανακατάψυξη των τροφίμων. Ομοίως, αλλαγές φάσης που περιλαμβάνουν το λιώσιμο και τη στερεοποίηση των λιπών είναι κρίσιμες για την ποιότητα των καραμελών και άλλων ειδών ζαχαροπλαστικής που περιέχουν λιπαρά συστατικά (Man & Jones, 1994). Ακόμα, φυσικές αλλαγές στα υλικά συσκευασίας, μερικές φορές σε συνδυασμό με επακόλουθες χημικές αντιδράσεις, μπορούν επίσης να περιορίσουν την διατηρησιμότητα. Για παράδειγμα, αλλαγές στη διαπερατότητα κατά την πάροδο του χρόνου, μπορεί να έχουν επίπτωση στην ατμοσφαιρική ισορροπία εντός της συσκευασίας, επιδρώντας τόσο στη μικροβιολογική όσο και στη χημική σταθερότητα του τροφίμου. Τέτοιες αλλαγές μπορούν, επίσης, να επιτρέψουν τη μετανάστευση εξωτερικών πτητικών ουσιών στα τρόφιμα, με αποτέλεσμα την αλλοίωσή τους. Η μετανάστευση χημικών ουσιών από το υλικό συσκευασίας μπορεί επίσης να προκαλέσει αλλοίωση, κάτι που μπορεί να είναι ιδιαίτερα σοβαρό σε προϊόντα με μακρά διάρκεια ζωής (Kilcast & Subramaniam, 2000).

## **2.2. Θεωρητικές αρχές για την αξιολόγηση της διατηρησιμότητας τροφίμων**

Μια κοινή πρακτική που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της διατηρησιμότητας ενός δεδομένου τροφίμου, είναι ο προσδιορισμός των αλλαγών σε επιλεγμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά σε ένα χρονικό διάστημα. Κάποιος μπορεί να θεωρήσει την ποιότητα ενός προϊόντος διατροφής ως μέτρο της αλλοίωσης που συμβαίνει σε ένα είδος τροφίμου. Ωστόσο, πρέπει να αναγνωριστεί ότι ο όρος ποιότητα προορίζεται να περιλαμβάνει αρκετά



ποιοτικά χαρακτηριστικά. Από την οπτική του καταναλωτή, οι οργανοληπτικές προσδοκίες που απορρέουν από την παρουσία (ή απουσία) επιθυμητών (ή ανεπιθύμητων) χαρακτηριστικών ενός δεδομένου τροφίμου, καθορίζουν την ποιότητα του. Επομένως, ένα προϊόν διατροφής που είναι γνωστό για την υψηλή του ποιότητα έχει περισσότερα από τα επιθυμητά χαρακτηριστικά (Man & Jones, 1994).

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν εμπειρικές ή αναλυτικές τεχνικές για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ποιοτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων. Για παράδειγμα, η απαρίθμηση μικροοργανισμών ή ο προσδιορισμός χημικών συστατικών ενός προϊόντος είναι αναλυτικές τεχνικές ενώ η χρήση εμπειρογνομώνων ή γευσιγνωστών (πάνελ) για την παρακολούθηση των αλλαγών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά αποτελούν εμπειρικές τεχνικές. Έχει διεξαχθεί εκτεταμένη έρευνα σχετικά με την ποιοτική αξιολόγηση των τροφίμων με σκοπό τον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής τους (Man & Jones, 1994).

Στην περίπτωση κατεψυγμένων τροφίμων, η διάρκεια ζωής έχει περιγραφεί με τη χρήση διαφόρων όρων. Για παράδειγμα, η πρακτική διάρκεια αποθήκευσης (PSL) ορίζεται ως «η περίοδος κατάψυξης ενός αρχικά υψηλής ποιότητας προϊόντος, κατά την οποία η οργανοληπτική ποιότητα παραμένει κατάλληλη για κατανάλωση ή για την προβλεπόμενη επεξεργασία». Αυτός ο ορισμός απαιτεί τη χρήση αρκετών διαδικασιών οργανοληπτικής αξιολόγησης και τεχνικών στατιστικής ανάλυσης. Οι περισσότερες από αυτές τις διαδικασίες βασίζονται στη χρήση δοκιμών αισθητηριακής διαφοράς (μέθοδοι διάκρισης) και το τέλος της διάρκειας ζωής καθορίζεται με αυστηρά στατιστικά κριτήρια. Το τέλος της διάρκειας ζωής συχνά προσδιορίζεται από το «Απλώς αξιοσημείωτη διαφορά» (Just Noticeable Difference). Αυτό, αφορά την πρώτη χρονική στιγμή που ανιχνεύεται διαφορά μεταξύ της ποιότητας των δειγμάτων δοκιμής και ελέγχου (controls) από εκπαιδευμένο πάνελ. Η χρήση αυτού του κριτηρίου δεν περιορίζεται σε ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό ποιότητας, αλλά αντιπροσωπεύει τη συνολική ποιότητα ενός προϊόντος (Man & Jones, 1994).

Χρησιμοποιώντας στατιστική ανάλυση, ο βαθμός διαφοράς μεταξύ του προϊόντος δοκιμής και ελέγχου μπορεί να εκτιμηθεί με οποιοδήποτε προκαθορισμένο διάστημα εμπιστοσύνης. Μπορεί ακόμη και να σχετίζεται με την αισθητή διαφορά (μεταξύ του δείγματος δοκιμής και του δείγματος ελέγχου) που έχει εμπορική σημασία. Η χρήση μιας δοκιμής διαφοράς, όπως η «Απλώς αξιοσημείωτη διαφορά», παρέχει πληροφορίες για το πόσο καιρό το προϊόν μπορεί να αποθηκευτεί. Ενώ αυτή είναι χρήσιμη πληροφορία για τη

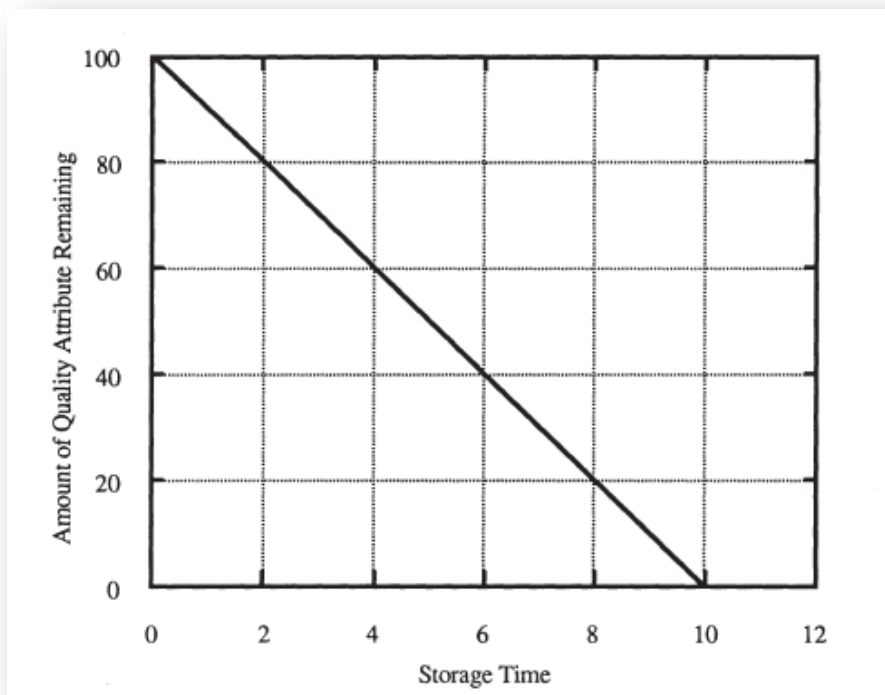
διάρκεια ζωής των διαφόρων τροφίμων, δεν παρέχει ένα μέτρο του ρυθμού με τον οποίο το χαρακτηριστικό ποιότητας αλλάζει (Man & Jones, 1994).

Υπάρχουν σημαντικά στοιχεία στη βιβλιογραφία ότι η θερμοκρασία παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην πρόκληση αλλαγών στην ποιότητα των τροφίμων κατά την αποθήκευση. Πιο υψηλές θερμοκρασίες αποθήκευσης, γενικά, οδηγούν σε αυξημένη υποβάθμιση της ποιότητας. Στο παρελθόν, έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες για χρήση μαθηματικών τεχνικών και μοντέλων για την περιγραφή των αλλαγών στην ποιότητα των τροφίμων, που επηρεάζονται από την θερμοκρασία αποθήκευσης. Ένα κομμάτι προηγούμενης έρευνας σε αυτόν τον τομέα, είχε υποκινηθεί από παρατηρήσεις ότι οι κυμαινόμενες θερμοκρασίες αποθήκευσης προκάλεσαν περισσότερες επιζήμιες αλλαγές στα κατεψυγμένα τρόφιμα σε σχέση με την αποθήκευση σε σταθερή θερμοκρασία (Man & Jones, 1994).

Η χρήση της χημικής κινητικής προσέγγισης χρησιμοποιείται ευρέως για τη μοντελοποίηση των αλλαγών στην ποιότητα των τροφίμων και οι βασικές αρχές της αναλύονται παρακάτω.

### **2.2.1 Κινητική αντιδράσεων υποβάθμισης τροφίμων**

Εάν η αντίδραση μείωσης ενός χαρακτηριστικού ποιότητας  $Q$  είναι μηδενικής τάξης τότε ο ρυθμός απώλειας του χαρακτηριστικού είναι σταθερός καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης και δεν εξαρτάται από τη συγκέντρωση του, όπως φαίνεται στην εικόνα 3 (Man & Jones, 1994).



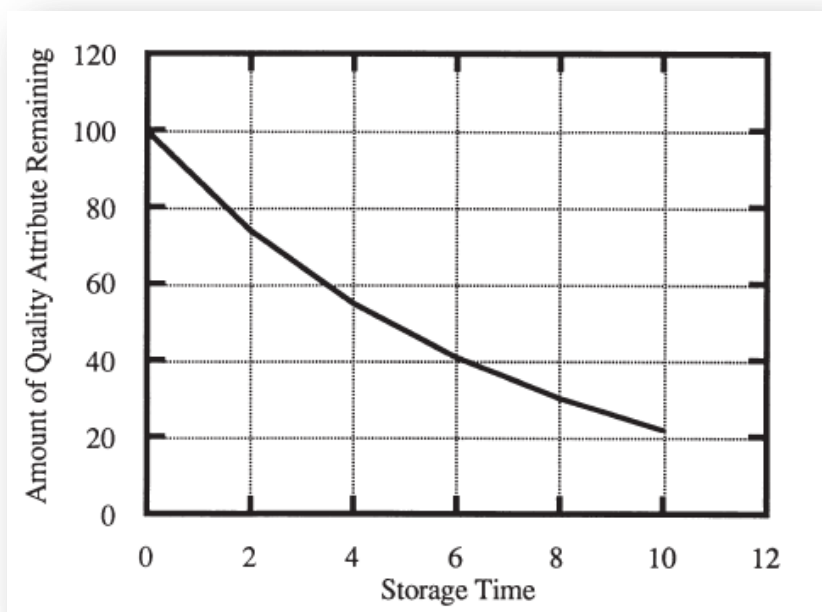
**Εικόνα 3:** Μείωση ενός ποιοτικού χαρακτηριστικού ενός τροφίμου κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (αντίδραση μηδενικής τάξης). Άξονας x: Χρόνος αποθήκευσης. Άξονας y: Ποσότητα του ποιοτικού χαρακτηριστικού που απομένει (Man & Jones, 1994).

Εάν το τέλος της διάρκεια ζωής  $t_s$  θεωρείται η χρονική στιγμή που το ποιοτικό χαρακτηριστικό φτάνει μια συγκεκριμένη τιμή, ας πούμε την  $Q_e$ , και όπου  $k$  ο ρυθμός αντίδρασης, η διάρκεια ζωής  $t_s$  μπορεί να υπολογιστεί ως εξής εάν η αντίδραση ακολουθεί κινητική μηδενικής τάξης (Man & Jones, 1994):

$$t_s = \frac{Q_0 - Q_e}{k} \quad (\text{Εξίσωση 1})$$

Ως μηδενικής τάξης θεωρούνται αντιδράσεις όπως η ενζυμική αποικοδόμηση, η καραμελοποίηση της σακχαρόζης, η μη ενζυμική αμαύρωση και η οξείδωση λιπών που οδηγεί σε γεύση τάγγισης (Man & Jones, 1994).

Εάν η αντίδραση είναι πρώτης τάξης, τότε το χαρακτηριστικό ποιότητας  $Q$  μειώνεται εκθετικά σε σχέση με το χρόνο αποθήκευσης όπως φαίνεται στην εικόνα 4. Ο ρυθμός απώλειας του χαρακτηριστικού εξαρτάται από την ποσότητα αυτού που μένει και αυτό σημαίνει ότι όσο ο χρόνος εξελίσσεται και μειώνεται η τιμή του χαρακτηριστικού ποιότητας  $Q$ , μειώνεται και ο ρυθμός της αντίδρασης (Man & Jones, 1994).



**Εικόνα 4:** Μείωση ενός ποιοτικού χαρακτηριστικού ενός τροφίμου κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (αντίδραση πρώτης τάξης). Άξονας x: Χρόνος αποθήκευσης. Άξονας y: Ποσότητα του ποιοτικού χαρακτηριστικού που απομένει (Man & Jones, 1994).

Σε αυτήν την περίπτωση, η διάρκεια ζωής  $t_s$  μπορεί να υπολογιστεί ως εξής (Man & Jones, 1994):

$$t_s = -\frac{\ln \frac{Q_e}{Q_0}}{k} \quad (\text{Εξίσωση 2})$$

Οι κατηγορίες αντιδράσεων αλλοίωσης τροφίμων που είναι πρώτης τάξης είναι μεταξύ άλλων οι απώλειες βιταμινών και πρωτεϊνών και η μικροβιακή ανάπτυξη. Γενικά, οι περισσότερες αντιδράσεις που αφορούν την υποβάθμιση της ποιότητας των τροφίμων είναι μηδενικής ή πρώτης τάξης. (Man & Jones, 1994).

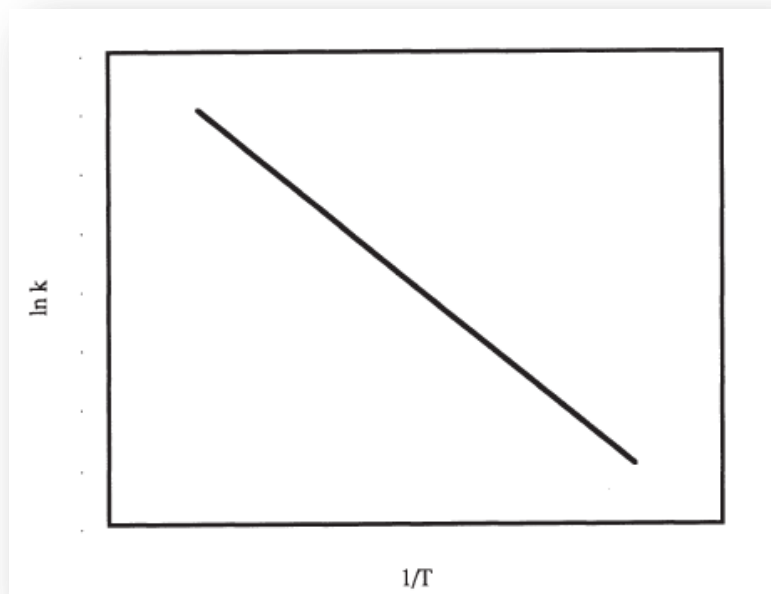
### 2.2.2. Επίδραση της θερμοκρασίας

Η επίδραση της θερμοκρασίας στον ρυθμό της αντίδρασης ( $k$ ) μπορεί να περιγραφεί χρησιμοποιώντας την εξίσωση Arrhenius (Man & Jones, 1994):

$$k = k_0 \exp \left[ -\frac{E_A}{RT} \right] \quad (\text{Εξίσωση 3})$$

όπου το  $k_0$  είναι ο προεκθετικός παράγοντας,  $E_A$  είναι η ενέργεια ενεργοποίησης, το  $R$  είναι η σταθερά ιδανικών αερίων και η  $T$  είναι η θερμοκρασία (απόλυτη κλίμακα) (Man & Jones, 1994).

Η εξάρτηση του ρυθμού αντίδρασης από τη θερμοκρασία φαίνεται στην Εικόνα 5. Σε έναν ημιλογαριθμικό άξονα, λαμβάνεται ένα γραμμικό διάγραμμα μεταξύ της σταθεράς του ρυθμού και της αντίστροφης απόλυτης θερμοκρασίας. Η κλίση της ευθείας δίνει την ενέργεια ενεργοποίησης. Όσο αυξάνεται η κλίση, η σταθερά του ρυθμού της αντίδρασης επηρεάζεται περισσότερο από αλλαγές στη θερμοκρασία (Man & Jones, 1994).



**Εικόνα 5:** Επίδραση της θερμοκρασία στην σταθερά του ρυθμού της αντίδρασης. Η κλίση ισούται με  $E_A/R$ . Άξονας  $x$ : Αντίστροφη απόλυτη θερμοκρασία. Άξονας  $y$ : Φυσικός λογάριθμος της σταθεράς του ρυθμού της αντίδρασης (Man & Jones, 1994).

Μια άλλη παράμετρος που χρησιμοποιείται συχνά στη βιβλιογραφία για την περιγραφή της σχέσης μεταξύ της θερμοκρασίας και της σταθεράς ρυθμού αντίδρασης είναι η  $Q_{10}$ , η οποία ορίζεται ως (Man & Jones, 1994):

$$Q_{10} = \frac{\text{ρυθμός αντίδρασης σε θερμοκρασία } (T+10)}{\text{ρυθμός αντίδρασης σε θερμοκρασία } T} \quad (\text{Εξίσωση 4})$$

Οι θερμοκρασίες είναι σε βαθμούς κελσίου.

### 2.2.3. Διαγράμματα χρόνου ζωής

Ο Labuza (1982) παρουσίασε μια απλή προσέγγιση για τον προσδιορισμό της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ποιότητα των τροφίμων. Η μέθοδος του είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για καταστάσεις όπου τα διαθέσιμα δεδομένα είναι λιγοστά, για παράδειγμα σε περιπτώσεις όπου τα πειραματικά δεδομένα που είναι διαθέσιμα αφορούν το χρόνο που απαιτείται για να φτάσει ένα χαρακτηριστικό ποιότητας μια συγκεκριμένη τιμή. Αυτό ισχύει για πολλές δημοσιευμένες μελέτες σχετικά με τη διάρκεια ζωής στη βιβλιογραφία. Μια σύντομη εισαγωγή στην ανάπτυξη διαγραμμάτων διάρκειας ζωής είναι η ακόλουθη (Man & Jones, 1994):

Για μια συγκεκριμένη τάξη αντίδρασης μπορεί να γραφεί το εξής:

$$k = \frac{\text{ποσότητα που χάθηκε σε χρόνο } ts}{ts} \quad (\text{Εξίσωση 5})$$

όπου ο αριθμητής, δηλαδή η ποσότητα της ποιότητας που χάθηκε σε χρόνο  $ts$ , για μια αντίδραση πρώτης τάξης ισούται με  $\ln Q_0/Q_e$  και για αντίδραση μηδενικής τάξης με  $Q_0 - Q_e$ .

Λογαριθμίζοντας και τις δύο πλευρές τις εξισώσεις 5, παίρνουμε:

$$\ln k = \ln (\text{ποσότητα που χάθηκε σε χρόνο } ts) - \ln ts \quad (\text{Εξίσωση 6})$$

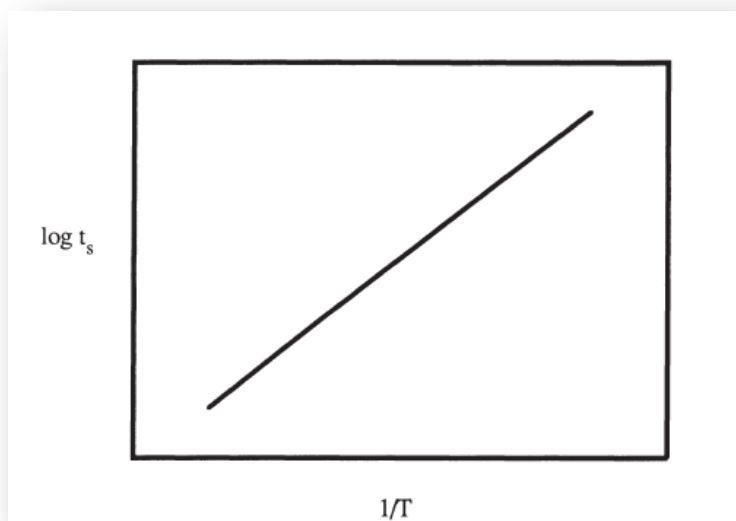
Η σχέση Arrhenius (Εξίσωση 3) μπορεί να γραφτεί ως:

$$\ln k = \ln k_0 - E_A/RT \quad (\text{Εξίσωση 7})$$

Με εξίσωση των δεξιών πλευρών των εξισώσεων 6 και 7 και μετατοπίζοντας κάποιους όρους, δημιουργείται η εξίσωση 8:

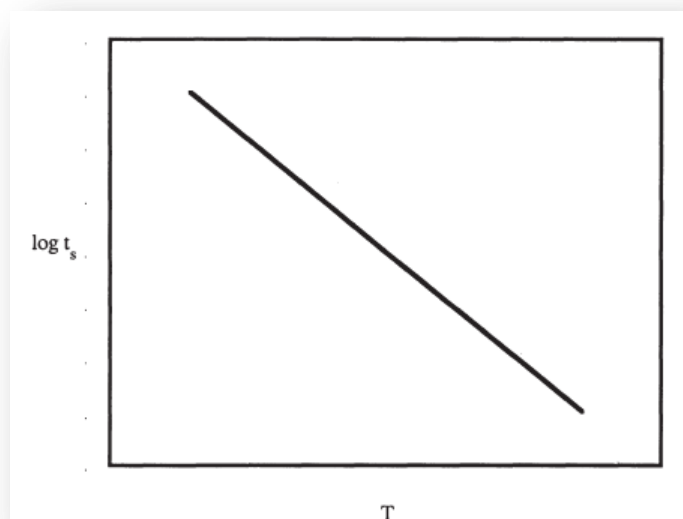
$$-\ln ts = -\ln (\text{ποσότητα που χάθηκε σε χρόνο } ts) + \ln k_0 - E_A/RT \quad (\text{Εξίσωση 8})$$

Σύμφωνα με την προηγούμενη εξίσωση, ένα διάγραμμα του  $t_s$  σε συνάρτηση με το  $1/T$  σε ένα ημιλογαριθμικό χαρτί θα έπρεπε να είναι ευθεία γραμμή (εικόνα 6) (Man & Jones, 1994).



**Εικόνα 6:** Διάγραμμα χρόνου ζωής. Άξονας y: λογάριθμος τέλους διάρκειας ζωής. Άξονας x: αντίστροφη απόλυτη θερμοκρασία (Man & Jones, 1994).

Η ενέργεια ενεργοποίησης μπορεί να ληφθεί από την κλίση της ευθείας η οποία ισούται με  $+ E_A/2.303R$ . Για μικρό θερμοκρασιακό εύρος  $\pm 20^\circ\text{C}$ , μπορεί να γίνει διάγραμμα  $t_s$  σε συνάρτηση με την απόλυτη θερμοκρασία χωρίς σημαντικό σφάλμα όπως φαίνεται στην εικόνα 7 (Labuza, 1982).



**Εικόνα 7:** Διάγραμμα χρόνου ζωής. Η κλίση  $a$  ισούται με  $\ln Q_{10}/10$ . Άξονας y: λογάριθμος τέλους διάρκειας ζωής. Άξονας x: απόλυτη θερμοκρασία (Man & Jones, 1994).

Η εξίσωση για την ευθεία γραμμή που φαίνεται στην εικόνα 7 μπορεί να γραφεί ως (Man & Jones, 1994):

$$t_s = t_o e^{-\alpha T} \text{ (Εξίσωση 9)}$$

Όπου το  $t_o$  είναι η διάρκεια ζωής σε μια θερμοκρασία αναφοράς,  $\alpha$  είναι η κλίση της ευθείας και  $T$  είναι η θερμοκρασιακή διαφορά μεταξύ της θερμοκρασίας  $T$  ( $^{\circ}\text{C}$ ) που μελετάται και της θερμοκρασίας αναφοράς (Man & Jones, 1994).

Για εξίσωση μηδενικής τάξης, η διάρκεια ζωής και η σταθερά του ρυθμού αντίδρασης είναι αντιστρόφως ανάλογες. Η εξίσωση 4 μπορεί να ξαναγραφεί ως (Man & Jones, 1994):

$$Q_{10} = \frac{\text{Χρόνος ζωής σε } T^{\circ}\text{C}}{\text{Χρόνος ζωής σε } (T+10)^{\circ}\text{C}} \text{ (Εξίσωση 10)}$$

Από την εξίσωση 9 και 10 παίρνουμε (Man & Jones, 1994):

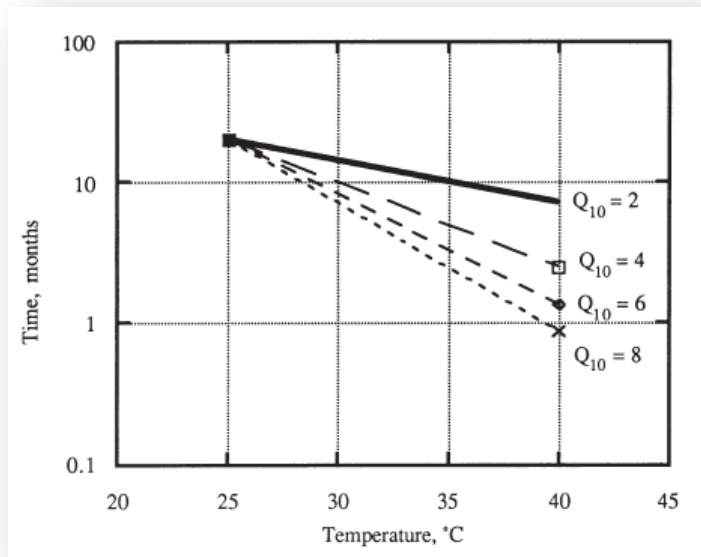
$$Q_{10} = e^{10\alpha} \text{ (Εξίσωση 11)}$$

Ή

$$\alpha = \frac{\ln Q_{10}}{10} \text{ (Εξίσωση 12)}$$

Η παραπάνω εξίσωση είναι χρήσιμη όταν σχεδιάζονται επιταχυνόμενα πειράματα για την έρευνα της διάρκειας ζωής. Ένα παράδειγμα φαίνεται στην Εικόνα 8. Εάν η διάρκεια ζωής στους  $25^{\circ}\text{C}$  είναι 20 μήνες, μια σειρά από γραμμές μπορούν να τραβηχθούν από το σημείο που αντιπροσωπεύει τους  $25^{\circ}\text{C}$  και τους 20 μήνες. Κάθε γραμμή αφορά διαφορετικές τιμές  $Q_{10}$ . Εάν τα επιταχυνόμενα πειράματα γίνονται στους  $40^{\circ}\text{C}$ , τότε οι διάρκεια ζωής μπορεί να ληφθεί από αυτό το διάγραμμα για διαφορετικά  $Q_{10}$ . Επομένως, εάν το  $Q_{10}$  είναι 4, η διάρκεια ζωής στους  $40^{\circ}\text{C}$  είναι 2.5 μήνες και εάν το  $Q_{10}$  είναι 8, η διάρκεια ζωής στους  $40^{\circ}\text{C}$  είναι 0.88 μήνες. Η διαδικασία αυτή μπορεί να γίνει εύκολα στον υπολογιστή χρησιμοποιώντας υπολογιστικό φύλλο (π.χ. excel) (Man & Jones, 1994).





**Εικόνα 8:** Διαγράμματα επιταχυνόμενης διάρκειας ζωής για διαφορετικές τιμές  $Q_{10}$ . Άξονας x: Θερμοκρασία σε °C. Άξονας y: χρόνος σε μήνες (Man & Jones, 1994).

## Κεφάλαιο 3: Σύγχρονες και ταχείες αναλυτικές μέθοδοι

Όπως αναφέρθηκε, για την μελέτη της σταθερότητας των τροφίμων και την έρευνα της διάρκειας ζωής τους, μια κοινή πρακτική είναι ο προσδιορισμός των αλλαγών σε επιλεγμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά σε ένα χρονικό διάστημα. Παρ' όλο που η οργανοληπτική αξιολόγηση χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία για την αξιολόγηση της ποιότητας των τροφίμων, πρόκειται για μια ακριβή και χρονοβόρα μέθοδο. Γι' αυτό το λόγο, οι αναλυτικές τεχνικές προτιμώνται προκειμένου να αξιολογηθούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και να εκτιμηθεί η διατηρησιμότητα ενός τροφίμου. Σε αυτό το κεφάλαιο θα αναλυθούν κάποιες σύγχρονες, ταχείες και καινοτόμες αναλυτικές τεχνικές, καθώς και οι εφαρμογές τους για την αξιολόγηση της ποιότητας και της διατηρησιμότητας των τροφίμων.

### 3.1. Υπολογιστική όραση

Η εμφάνιση των τροφίμων είναι ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό και προδιαθέτει τους καταναλωτές σχετικά με τη γεύση και την ποιότητα των προϊόντων, συνεπώς είναι ένας παράγοντας που πρέπει να εξετάζεται σε μια μελέτη διατηρησιμότητας. Το χρώμα και το σχήμα των τροφίμων είναι μόνο μερικά από τα πολλά ποιοτικά χαρακτηριστικά που μπορούν να μελετηθούν μέσω της υπολογιστικής όρασης (computer vision). Η υπολογιστική όραση είναι ένα σύστημα σχεδιασμένο με μικρό εξοπλισμό και χρήση αλγορίθμων που χρησιμοποιούνται για τη λήψη πληροφοριών σχετικά με αντικείμενα ενδιαφέροντος. Η ανάλυση εικόνας είναι ο πυρήνας της υπολογιστικής όρασης (Turgut, Karacabey, & Küçüköner, 2014). Γίνονται προσπάθειες αυτή η καινοτόμος τεχνική να χρησιμοποιηθεί και στην έρευνα και παρακολούθηση της διάρκειας ζωής των τροφίμων καθώς πρόκειται για μια αντικειμενική, γρήγορη και μη καταστρεπτική τεχνική η οποία δεν απαιτεί προκατεργασία των δειγμάτων.

#### 3.1.1. Αναλυτική πορεία

Οι διαδικασίες αναγνώρισης των ιδιοτήτων των αντικειμένων πραγματοποιούνται με μια σειρά βημάτων. Η απόκτηση εικόνας, η προ-επεξεργασία, η τμηματοποίηση, η αναπαράσταση και η περιγραφή, η αναγνώριση και η ερμηνεία είναι τα βασικά βήματα των διαδικασιών της υπολογιστικής όρασης και κάθε βήμα πρέπει να εφαρμοστεί προσεκτικά, διαφορετικά τα αποτελέσματα μπορεί να μην είναι ικανοποιητικά (Turgut, Karacabey, & Küçüköner, 2014).

Η λήψη εικόνας είναι το στάδιο μετατροπής των ηλεκτρονικών σημάτων από τη συσκευή ανίχνευσης σε αριθμητική μορφή. Υπερηχογράφηματα, ακτινογραφίες, εγγύς υπέρυθρη φασματοσκοπία, σαρωτές και κάμερες είναι μερικοί από τους αισθητήρες που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία εικόνων. Προκειμένου να αποκτηθεί μια εικόνα υψηλής ποιότητας, κάτι που είναι κρίσιμος παράγοντας για τα επόμενα βήματα, η ένταση του φωτός κι η τοποθέτηση των φωτιστικών σωμάτων, τα οπτικά υψηλής ποιότητας και τα ηλεκτρονικά κυκλώματα πρέπει να προετοιμαστούν σωστά. Οι πηγές φωτός ποικίλλουν ανάλογα με τον σκοπό, και μπορεί να είναι λάμπες πυρακτώσεως ή φθορισμού, λέιζερ, σωλήνες ακτίνων Χ, λαμπτήρες υπέρυθρων και δίοδοι εκπομπής φωτός (LED) (Turgut, Karacabey, & Küçüköner, 2014).

Το στάδιο της προεπεξεργασίας περιλαμβάνει μία ή περισσότερες λειτουργίες μείωσης του θορύβου, της γεωμετρικής διόρθωσης, της διόρθωσης του τόνου του γκριζου και τη διόρθωση της εστίασης και αποσκοπεί στη βελτίωση της ποιότητας της εικόνας (Turgut, Karacabey, & Küçüköner, 2014).

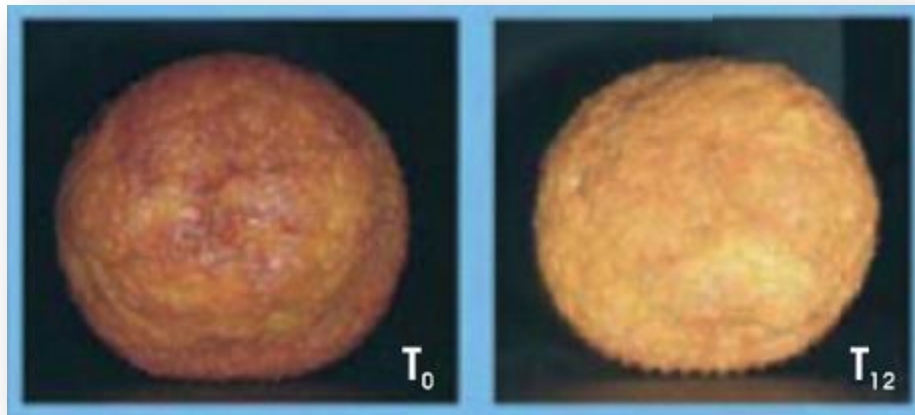
Η τμηματοποίηση της εικόνας είναι ένα από τα πιο σημαντικά στάδια, διότι η ακρίβεια του επόμενου βήματος σχετίζεται στενά με αυτό το στάδιο. Ως σκοπό έχει να διαχωρίσει την εικόνα σε μέρη που έχουν ισχυρή συσχέτιση με το αντικείμενο. Μετά την τμηματοποίηση, η εικόνα αντιπροσωπεύει ένα όριο ή μια περιοχή. Ο πρώτος τύπος εικόνας (όριο) είναι κατάλληλος για αναλύσεις μεγέθους και σχήματος ενώ ο δεύτερος (περιοχή) χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της υφής και ελαττωμάτων. Η αναπαράσταση της εικόνας πρέπει να επιλέγεται σύμφωνα με την προγραμματισμένη εφαρμογή (Turgut, Karacabey, & Küçüköner, 2014).

Η αναγνώριση και η ερμηνεία, γενικά, εκτελούνται χρησιμοποιώντας στατιστικούς ταξινομητές ή πολυεπίπεδα νευρωνικά δίκτυα για την παροχή των επιθυμητών πληροφοριών (Turgut, Karacabey, & Küçüköner, 2014).

### **3.1.2. Εφαρμογή υπολογιστικής όρασης στην μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων**

Οι Grillo et al. (2004), μελέτησαν το πώς αλλάζει η εξωτερική εμφάνιση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά προϊόντων μάφιν κατά την αποθήκευση, τα οποία είχαν συσκευαστεί σε δύο είδη φιλμ προπυλενίου που διέφεραν τόσο σε κόστος όσο και στη

διαπερατότητα σε οξυγόνο (PPTH και PPAI). Η διάρκεια του πειράματος ήταν 12 εβδομάδες, έως τον αποχρωματισμό των μάφιν (εικόνα 9).

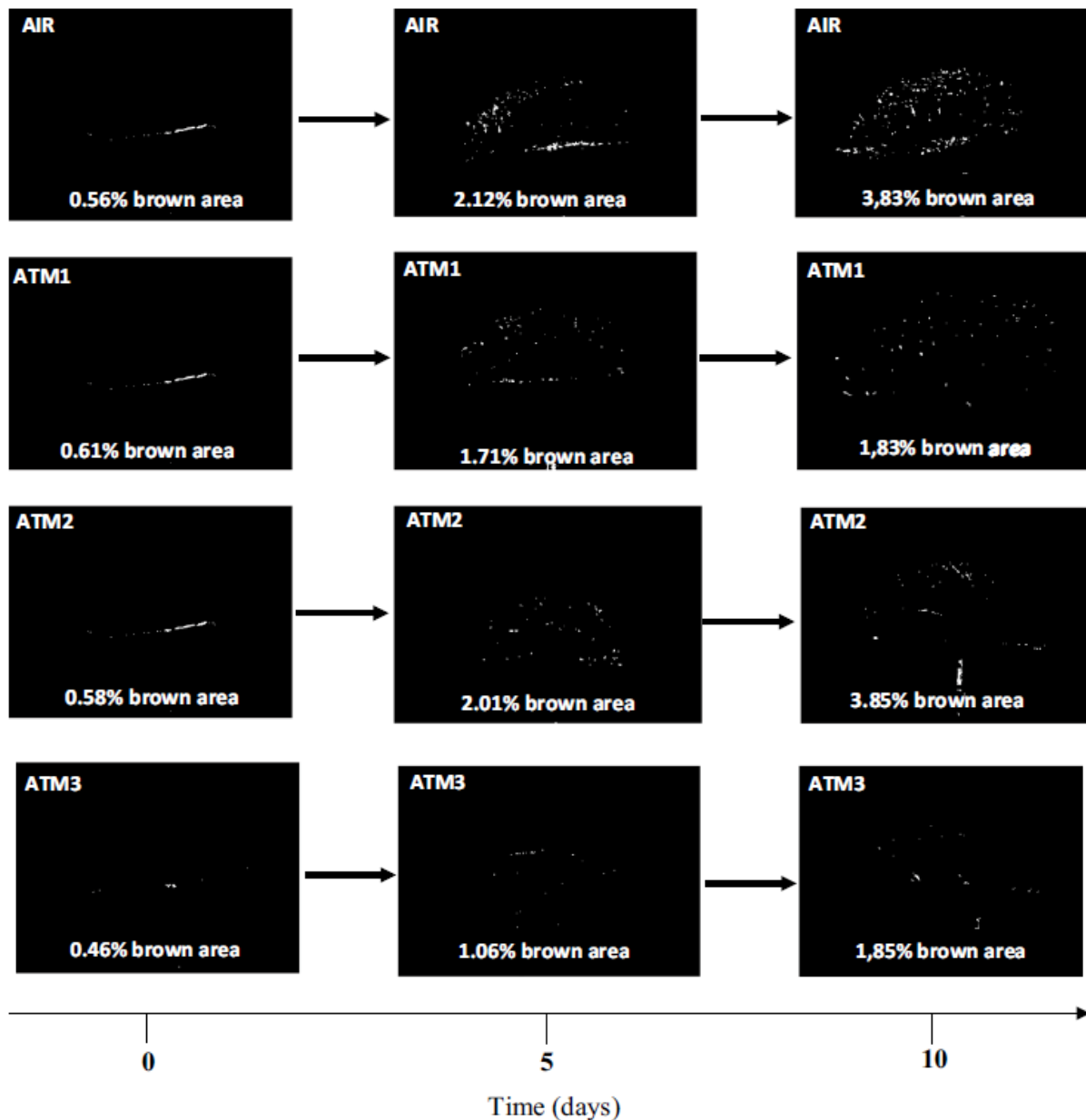


**Εικόνα 9:** Φωτογραφίες των μάφιν στην αρχή,  $T_0$ , του χρόνου αποθήκευσης (αριστερά) και στο τέλος,  $T_{12}$ , του χρόνου αποθήκευσης (δεξιά). Φαίνεται ο αποχρωματισμός του προϊόντος στο τέλος της διάρκειας ζωής του, τη 12<sup>η</sup> εβδομάδα (Grillo et al., 2004).

Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από την ανάλυση των εικόνων συγκρίθηκαν τόσο με αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης από πάνελ όσο και με φυσικοχημικές μετρήσεις όπως οξείδωση λιπών, απώλεια βάρους, ενεργότητα ύδατος, ξηρή ύλη και υγρασία. Η ανάλυση εικόνας εκτίμησε εύκολα και με ακρίβεια της αλλαγές στο χρώμα και το σχήμα κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης. Αυτή η μέθοδος, αποδείχθηκε ένα αποτελεσματικό εργαλείο για τη μέτρηση της διάρκειας ζωής ενός προϊόντος αρτοποιίας με ένα σαφή, αντικειμενικό, αξιόπιστο και μη καταστρεπτικό τρόπο. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας την ανάλυση εικόνας, ήταν επίσης δυνατό να καθοριστεί το επίπεδο ποιότητας του τελικού προϊόντος, ιδίως όσον αφορά την εμφάνιση και την ελκυστικότητα του στον κατανάλωση.

Οι Arias et al. (2018) ερεύνησαν εάν η ανάλυση εικόνας είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής φρεσκοκομμένων αχλαδιών βάσει της επιρρέπειάς τους στην ενζυμική αμαύρωση. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από την ανάλυση των εικόνων συγκρίθηκαν τόσο με αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης από πάνελ όσο και κλασικές μετρήσεις όπως μέτρηση χρώματος, ανάλυση διαλυτών στερεών και μετρήσεις σκληρότητας. Ακόμα, μέσω συνδυασμού των τεχνικών αυτών και της ανάλυσης εικόνας,

ανέπτυξαν μια φόρμουλα πρόβλεψης της διάρκειας ζωής των φρεσκοκομμένων αχλαδιών. Η μελέτη έγινε σε δύο διαφορετικά είδη αχλαδιών, τα οποία μετά από μικρή επεξεργασία κόβονταν σε φέτες σε συσκευασίες με τρεις διαφορετικές συστάσεις αερίων (ATM 1: 21% O<sub>2</sub> + 10% CO<sub>2</sub> + 70% N<sub>2</sub>, ATM 2: 2% O<sub>2</sub> + 0% CO<sub>2</sub> + 98% N<sub>2</sub>, ATM 3: 2% O<sub>2</sub> + 10% CO<sub>2</sub> + 88% N<sub>2</sub>) καθώς και σε αέρα, στους 4°C στο σκοτάδι.



**Εικόνα 10:** Εξέλιξη του ποσοστού της επιφάνειας που παρουσιάζει αμαύρωση φρεσκοκομμένων φετών αχλαδιού ποικιλίας *Decana del Comicio* όπως προσδιορίστηκε με ανάλυση εικόνας. Το αχλάδι ήταν αποθηκευμένο σε 4 διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες αερίων (αέρα, ATM 1: 21% O<sub>2</sub> + 10% CO<sub>2</sub> + 70% N<sub>2</sub>, ATM 2: 2% O<sub>2</sub> + 0% CO<sub>2</sub> + 98% N<sub>2</sub>, ATM 3: 2% O<sub>2</sub> + 10% CO<sub>2</sub> + 88% N<sub>2</sub>) στους 4°C (Arias et al. 2018).

Οι ερευνητές συμπέραναν ότι καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά τη διάρκεια ζωής έλαβαν για σύσταση αερίων υψηλή σε CO<sub>2</sub> (σχεδόν διπλάσια διάρκεια), ότι η μια ποικιλία ήταν πιο επιρρεπής στην αμαύρωση (απ' την πρώτη κι όλες μέρα της συντήρησης) άρα έχει μειωμένη διάρκεια ζωής, ότι τα αποτελέσματα από την ανάλυση εικόνας συνάδουν με τις κλασικές μετρήσεις με τις οποίες συγκρίθηκαν και τέλος, ότι στην μια ποικιλία η προβλεπόμενη διάρκεια ζωής βάσει της φόρμουλας που ανέπτυξαν ήταν πολύ κοντά στην πραγματική ενώ στην άλλη ποικιλία όχι τόσο. Η μεγαλύτερη απόκλιση αποδόθηκε σε πιθανή διαφορά στην επιρρέπεια της συγκεκριμένης ποικιλίας στην ενζυμική αμαύρωση, η οποία σχετίζεται με την υψηλότερη αρχική συγκέντρωση χλωρογενικού οξέος σε αυτή την ποικιλία αχλαδιού.

Οι Zhou et. Al (2004) ερεύνησαν εάν η ανάλυση εικόνας είναι κατάλληλο μέσο για να προσδιοριστεί η αποδεκτότητα κι η διάρκεια ζωής έτοιμου για χρήση μαρουλιού. Κατά την έρευνα αυτή, τεμαχισμένο μαρούλι επεξεργάστηκε με διαφορετικούς τρόπους. Κάποια δείγματα πλύθηκαν με χλωριωμένο νερό θερμοκρασίας 48 °C, ενώ κάποια άλλα όχι και στη συνέχεια όλα τα δείγματα πλύθηκαν με χλωριωμένο νερό θερμοκρασίας 4°C και συσκευάστηκαν σε πλαστικές συσκευασίες. Εν συνεχεία, αποθηκεύτηκαν στους 4 °C ή στους 10 °C. Έτσι προκύπτουν 4 πιθανοί συνδυασμοί. Ένα πάνελ αξιολόγησε τα δείγματα μαρουλιού ως προς την υποβάθμιση ποιότητας κατά τη διάρκεια της έρευνας. Τα ίδια δείγματα φωτογραφήθηκαν κι οι εικόνες αναλύθηκαν ως προς το επί τοις εκατό ποσοστό καφέ περιοχής και τις αλλαγές στο χρώμα. Εν τέλει, τα αποτελέσματα τόσο από το πάνελ όσο και από την ανάλυση εικόνας συμφωνούσαν ότι υπήρχαν διαφοροποιήσεις ανάλογα με την επεξεργασία. Ακόμη, βρέθηκε ότι τα αποτελέσματα από την ανάλυση εικόνας που αφορούσε το επί τοις εκατό ποσοστό της καφέ περιοχής ήταν καλύτεροι δείκτες για την ποιότητα των μαρουλιών και συμφωνούσαν περισσότερο με τα αποτελέσματα από το πάνελ, σε σχέση με τη μέτρηση χρώματος μέσω ανάλυσης εικόνας.

Οι Manzocco et al. (2012) μελέτησαν με ανάλυση εικόνας έτοιμες κομμένες φρουτοσαλάτες και ανέπτυξαν συνάρτηση που προβλέπει την απόρριψη του προϊόντος (σε ημέρες) βασισμένη στη στατιστική ανάλυση επιβίωσης. Οι εικόνες αναλύθηκαν προκειμένου να παρακολουθηθεί η εξέλιξη της αμαύρωσης και λόγω του ότι οι φέτες μπανάνας που αμαυρώνονται είναι από τους πρώτους δείκτες της μείωσης της ποιότητας, επικεντρώθηκε η προσοχή στην ποσοτικοποίηση του χρώματός τους. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά από ένα πάνελ που αξιολόγησαν τη συνολική εμφάνιση των

προϊόντων μέσω μιας εικόνας που τους παρουσιάστηκε καθώς και με έρευνα καταναλωτών που ερωτήθηκαν εάν θα κατανάλωναν το προϊόν ή όχι. Βρέθηκαν υψηλοί δείκτες συσχέτισης των αποτελεσμάτων από το πάνελ και την ανάλυση εικόνας και συμπεράθηκε ότι η ανάλυση εικόνας για τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά μπορεί ενδεχομένως να χρησιμοποιηθεί για την αξιολογήση ποιότητας τέτοιων προϊόντων στη ρουτίνα ώστε να ελέγχεται εάν πρέπει να απορριφθούν. Παρόλα αυτά, οι εκτιμήσεις/προβλέψεις διάρκειας ζωής βάσει των εικόνων φρουτοσαλάτας ήταν μεγαλύτερες από αυτές που επιτεύχθηκαν με ανάλυση του πραγματικού προϊόντος. Αυτό αποδόθηκε στο γεγονός ότι οι εικόνες είναι δισδιάστατες αναπαραστάσεις του τροφίμου, και πιθανώς δεν περιέχουν όλες τις οπτικές πληροφορίες που χρειάζονται οι ειδικοί για να αποφασιστούν εάν το τρόφιμο είναι αποδεκτό ή όχι.

## **4.2. Χρωματογραφία**

Η χρωματογραφία είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος διαχωρισμού για χημικές αναλύσεις και στην οποία, τα συστατικά ενός δείγματος κατανέμονται μεταξύ δύο φάσεων, της στατικής και της κινητής. Το δείγμα μεταφέρεται μέσω της κινητής φάσης και κατανέμεται μεταξύ των δύο φάσεων. Έτσι, τα συστατικά του δείγματος διαχωρίζονται ανάλογα με τη σχετική συγγένεια που έχουν με τις δύο φάσεις. Ο στόχος σε οποιονδήποτε χρωματογραφικό διαχωρισμό είναι η μετακίνηση των αναλυτών μέσω μιας στήλης σε διαφορετικές ταχύτητες, έτσι ώστε να εξέρχονται από τη στήλη σε διαφορετικούς χρόνους (Miller, 2009).

### **4.2.1. Αέρια χρωματογραφία**

Η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιείται για ανάλυση μιγμάτων που περιέχουν ανόργανες ή οργανικές ενώσεις που έχουν τάση ατμών μεγαλύτερη από περίπου 0,1 Torr (10 Pa) στις θερμοκρασίες λειτουργίας του οργάνου. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση πτητικών ενώσεων ή ενώσεων που καθίστανται πτητικές και μπορούν να εισαχθούν και να αναλυθούν ποσότητες που κυμαίνονται από  $10^{-2}$  έως  $10^{-12}$  g (Miller, 2009).

Στην αέρια χρωματογραφία, το πτητικό υγρό ή αέριο μίγμα (που περιέχει της διαλυμένες ουσίες), εισάγεται μέσω ενός ελαστικού διαφράγματος στον εισαγωγέα, όπου εξαερώνεται. Ο διαχωρισμός βασίζεται στο διαφορετικό σημείο ζέσεως και τη διαφορετική συγγένεια με τη στατική φάση. Το φέρον αέριο (κινητή φάση) μπορεί να είναι He, N<sub>2</sub> ή H<sub>2</sub> (η επιλογή εξαρτάται από το είδος του ανιχνευτή) (Harris, 2007).

Στη συντριπτική πλειονότητα των αναλύσεων χρησιμοποιούνται τριχοειδείς στήλες από τηγμένη πυριτία ( $\text{SiO}_2$ ), καλυμμένες με πολυϊμίδιο (πλαστικό ικανό να αντέχει στους  $350\text{ }^\circ\text{C}$ ) για τη στήριξη και την προστασία τους από την ατμοσφαιρική υγρασία. Οι στήλες αυτές προσφέρουν μεγαλύτερη διαχωριστική ικανότητα, μικρότερους χρόνους ανάλυσης και μεγαλύτερη ευαισθησία από τις πληρωμένες στήλες αλλά έχουν μικρότερη χωρητικότητα δείγματος (Harris, 2007).

Η έγχυση του δείγματος μπορεί να γίνει με τρεις τρόπους. Η πρώτη, είναι η έγχυση στη στήλη και χρησιμοποιείται για δείγματα που διασπώνται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από το σημείο βρασμού τους και είναι κατάλληλη για ποσοτική ανάλυση. Το δείγμα εισάγεται απευθείας στη στήλη χωρίς να περνά από θερμό εισαγωγέα δείγματος. Ο δεύτερος τρόπος είναι η έγχυση με διαμοιρασμό και προτιμάται όταν οι αναλύτες που μας ενδιαφέρουν είναι  $>0,1\%$  του δείγματος. Η έγχυση με διαμοιρασμό εισάγει στη στήλη μόνο  $0,2\text{-}2\%$  του δείγματος καθώς, στο σημείο διαμοιρασμού ένα μικρό τμήμα του ατμού εισέρχεται στη στήλη ενώ το υπόλοιπο απορρίπτεται. Ο τρίτος τρόπος είναι με έγχυση χωρίς διαμοιρασμό και ενδείκνυται για ανάλυση ιχνοποσοτήτων ουσιών που αποτελούν λιγότερο από το  $0,01\%$  του δείγματος. Ένας μεγάλος όγκος (περίπου  $2\mu\text{l}$ ) αραιωμένου δείγματος με χαμηλό σημείο βρασμού εισάγεται αργά (περίπου  $2\text{s}$ ) στον υποδοχέα, με το άνοιγμα για διαμοιρασμό κλειστό. Για την απομάκρυνση των ατμών που διαφεύγουν από τον υποδοχέα, διατηρείται μια αργή ροή μέσω του διαφράγματος κατά τη διάρκεια της έγχυσης και της χρωματογραφίας (Harris, 2007).

Στο παρελθόν, χρησιμοποιούταν πολύ συχνά στην αέρια χρωματογραφία ανιχνευτές θερμικής αγωγιμότητας (TCD) καθώς είναι απλοί και καθολικοί, δηλαδή αποκρίνονται σε όλους τους αναλύτες. Όμως, η θερμική αγωγιμότητα δεν είναι αρκετά ευαίσθητη προκειμένου να ανιχνεύει πολύ μικρές ποσότητες αναλύτη που εκλούνται από στήλες με διάμετρο μικρότερη από  $0,53\text{ mm}$ , για αυτό πλέον χρησιμοποιούνται σε στήλες  $0,53\text{ mm}$  και πληρωμένες στήλες. Ο ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (FID) αποκρίνεται στους περισσότερους υδρογονάνθρακες αλλά δεν είναι ευαίσθητος σε ουσίες που δεν είναι υδρογονάνθρακες και το σήμα είναι ανάλογο του αριθμού των ατόμων άνθρακα. Ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD) είναι ευαίσθητος σε μόρια που περιέχουν αλογόνα, συζυγιακά καρβονύλια, νιτροενώσεις και οργανομεταλλικές ενώσεις, αλλά έχει μικρή ευαισθησία σε υδρογονάνθρακες, αλκοόλες και κετόνες. Τέλος, η φασματοφωτομετρία μάζας συνιστά τη βέλτιστη επιλογή ανιχνευτή στη χρωματογραφία,



εν τούτοις αποτελεί την τεχνική με το μεγαλύτερο κόστος. Το φάσμα μάζας παρέχει τόσο ποιοτικές όσο και ποσοτικές πληροφορίες. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί παρακολούθηση επιλεγμένου ιόντος ή επιλεγμένης αντίδρασης προκειμένου να προσδιοριστεί κάποιο συστατικό σε ένα πολύπλοκο χρωματογράφημα ενώσεων που δεν διαχωρίζονται ικανοποιητικά. Το φασματόμετρο, μπορεί να είναι πολύ επιλεκτικό για έναν αναλύτη. Η επιλεκτικότητα αυτή μειώνει τις απαιτήσεις για την προετοιμασία του δείγματος, ή τον τέλειο χρωματογραφικό διαχωρισμό, ενώ αυξάνει και το λόγο σήμα προς θόρυβο (Harris, 2007).



**Εικόνα 18:** Αέριος χρωματογράφος συζευγμένος με φασματόμετρο μάζας (Πηγή: <https://www.andersonmaterials.com/gas-chromatography-mass-spectroscopy-gc-ms/>).

#### 4.2.2. Υγρή χρωματογραφία

Η υγρή χρωματογραφία (LC ή HPLC) είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη χρωματογραφική τεχνική. Η υγρή χρωματογραφία συμπληρώνει την αέρια παρέχοντας ταχεία ανάλυση θερμικά ασταθών, μη πτητικών ενώσεων που θα ήταν δύσκολο ή αδύνατο αναλυθούν από την αέρια χρωματογραφία. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση στερεών ή υγρών. Ένα τυπικό δείγμα είναι 10 μl από 0,1-100 mg/ml διαλύματος του

δείγματος σε κατάλληλο διαλύτη, αν και μπορούν να αναλυθούν ποσότητες τόσο μικρές όσο  $10^{-6}$  g (Miller, 2009).

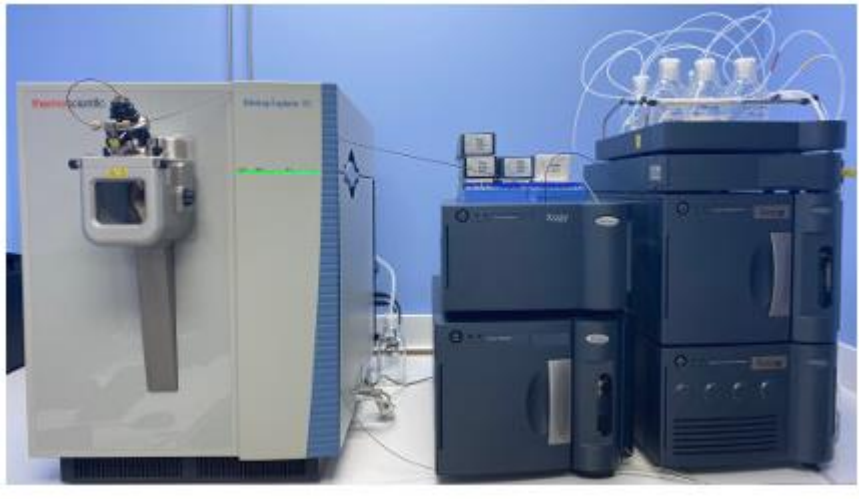
Η χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) χρησιμοποιεί υψηλή πίεση για να αναγκάσει το διαλύτη να μετακινηθεί μέσω κλειστών στηλών που περιέχουν πολύ μικρά σωματίδια τα οποία επιτυγχάνουν διαχωρισμούς πολύ υψηλής διαχωριστικής ικανότητας. Το σύστημα HPLC αποτελείται από ένα σύστημα παραλαβής του διαλύτη, μια βαλβίδα έγχυσης δείγματος, μια στήλη υψηλής πίεσης, έναν ανιχνευτή και έναν υπολογιστή. Πολλά συστήματα περιλαμβάνουν κι ένα φούρνο για τον έλεγχο της θερμοκρασίας της στήλης (Harris, 2007).

Η οργανολογία HPLC χρησιμοποιεί ατσάλινες ή πλαστικές στήλες μήκους 5-30 cm με εσωτερική διάμετρο 1-5 mm. Οι στήλες αυτές έχουν μεγάλο κόστος και φθείρονται εύκολα από σκόνη ή σωματίδια του δείγματος ή του διαλύτη και από τη μη αντιστρεπτή προσρόφηση ακαθαρσιών του δείγματος ή του διαλύτη. Κατά συνέπεια, η είσοδος στην κυρίως στήλη προστατεύεται από μια μικρού μήκους προστατευτική στήλη η οποία περιέχει την ίδια στατική φάση με την κυρίως στήλη. Τα μικρά σωματίδια και οι ισχυρά προσροφόμενες ουσίες κατακρατούνται στην προστατευτική στήλη, η οποία περιοδικά αντικαθίσταται (Harris, 2007).

Στη χρωματογραφία κανονικής φάσης, χρησιμοποιείται πολική στατική φάση και λιγότερο πολικός διαλύτης. Οι πολικότεροι διαλύτες έχουν μεγαλύτερη ισχύ έκλουσης. Στη χρωματογραφία αντίστροφης φάσης, η στατική φάση είναι μη πολική ή ελαφρά πολική και ο διαλύτης είναι πολικότερος και χρησιμοποιείται συχνότερα. Ένας λιγότερος πολικός διαλύτης έχει μεγαλύτερη ισχύ έκλουσης. Η χρωματογραφία αντίστροφης φάσης ελαχιστοποιεί το σχηματισμό ουράς στο χρωματογράφημα, επειδή η στατική φάση έχει μόνο μερικές θέσεις στις οποίες μπορεί να προσροφηθεί ισχυρά μια ουσία, ώστε να σχηματίσει ουρά. Επίσης, είναι λιγότερο ευαίσθητη σε πολικές προσμίξεις (π.χ. στο νερό) του διαλύτη έκλουσης (Harris, 2007).

Ένας ανιχνευτής υπεριώδους είναι πολύ συνηθισμένος στην HPLC καθώς πολλές ουσίες απορροφούν υπεριώδη ακτινοβολία. Τα απλούστερα συστήματα χρησιμοποιούν την έντονη εκπομπή ενός λαμπτήρα υδραργύρου στα 254 nm ενώ, τα πιο εξελιγμένα όργανα έχουν λαμπτήρες δευτερίου, ξένου ή βολφραμίου και έναν μονοχρωμάτωρα, οπότε μπορεί να επιλέγεται το βέλτιστο μήκος κύματος υπεριώδους ή ορατού για τους αναλύτες (Harris, 2007). Ένας αναλυτής δείκτη διάθλασης (RI), αποκρίνεται σχεδόν σε όλες τις ουσίες

καθώς, λόγω της μεγάλης ποικιλίας διαθέσιμων διαλυτών υγρής χρωματογραφίας, είναι τις περισσότερες φορές πιθανό να σχεδιαστεί πείραμα έτσι ώστε οι αναλύτες να έχουν διαφορετικό δείκτη διάθλασης από την κινητή φάση. Οι ανιχνευτές αυτοί είναι μη καταστρεπτικοί. Όπως και στην περίπτωση της αέριας χρωματογραφίας, τα φασματόμετρα μάζας είναι από τους πιο χρήσιμους και ευρέως χρησιμοποιούμενους ανιχνευτές για την υγρή χρωματογραφία (Miller, 2009).



**Εικόνα 19:** Υγρός χρωματογράφος συζευγμένος με φασματόμετρο μάζας (Πηγή: <https://www.microtrace.com/technique/uplc-hrms/>).

#### **4.2.3. Εφαρμογές της χρωματογραφίας στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων**

Κατά τη μελέτη προσδιορισμού της διατηρησιμότητας ενός προϊόντος, είναι μέγιστης σημασίας να αξιολογείται η σταθερότητα των θρεπτικών συστατικών, ιδιαίτερα εάν στη συσκευασία αναγράφονται και ισχυρισμοί διατροφής ή υγείας που βασίζονται στα συστατικά αυτά. Για παράδειγμα, εάν στη συσκευασία αναγράφεται ότι το προϊόν είναι πηγή της βιταμίνης D, τότε θα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 0,75 μg βιταμίνης ανά 100 g ή 100 ml βάσει της νομοθεσίας (Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1924/2006; Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1169/2011) και αυτό πρέπει να ισχύει μέχρι το τέλος της διάρκειας ζωής. Η χρωματογραφία χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό και τη μελέτη τέτοιων συστατικών σε τρόφιμα. Για παράδειγμα, οι Hanson και Metzger (2010) μελέτησαν τη σταθερότητα της βιταμίνης D σε γιαούρτι φράουλας με χαμηλά λιπαρά, σε γάλα επεξεργασμένο με ταχεία παστερίωση υψηλής θερμοκρασίας (HTST) και σε γάλα



και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα Οι Gentili et al. (2008), ανέπτυξαν μια μέθοδο προσδιορισμού των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12 και C σε διάφορα υποστρώματα (π.χ. καλαμπόκι, ακτινίδιο, τοματοχυμός κ.α.) με ιοντική χρωματογραφία αντίστροφης φάσης, με την οποία σε 10 λεπτά επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των αναλυτών κι η οποία έχει πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης της τάξης των ng/g για όλους τους αναλύτες εκτός της βιταμίνης C, η οποία δεν έδωσε τόσο θετικά αποτελέσματα ενδεχομένως καθώς η αποικοδόμησή της καταλύεται από ιχνοστοιχεία που είναι παρόντα, όπως ο σίδηρος στο καλαμπόκι.

Πέραν της αξιολόγησης της μεταβολής των διάφορων θρεπτικών στοιχείων, με τη χρωματογραφία δύναται να παρακολουθούνται και οι φθαλικοί εστέρες ή αλλιώς πλαστικοποιητές. Πρόκειται για ενώσεις που χρησιμοποιούνται προκειμένου να μαλακώνουν τα πλαστικά υλικά και οι οποίες μπορούν να μεταναστεύσουν στα τρόφιμα. Συνεπώς, υπάρχει ανάγκη παρακολούθησής της συγκέντρωσής τους σε τρόφιμα τα οποία αποθηκεύονται σε πλαστικές συσκευασίες και πρέπει φυσικά, δεν πρέπει να ξεπερνά το όριο που έχει θεσπιστεί για όλη τη διάρκεια ζωής των τροφίμων. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιείται κυρίως αέρια χρωματογραφία λόγω της πτητικότητας και της σταθερότητας σε υψηλές θερμοκρασίες των φθαλικών εστέρων, σε σύζευξη με φασματόμετρο μάζας, το οποίο επιτρέπει την ανίχνευση σε πολύ χαμηλές ποσότητες. Παρ' όλα αυτά, για την ανίχνευση και ποσοτικοποίησή τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί και υγρή χρωματογραφία με φασματόμετρο μάζας ως εναλλακτική της αέριας χρωματογραφίας, ιδίως στην περίπτωση ανάλυσης ισομερών μιγμάτων που εμφανίζει περισσότερη εκλεκτικότητα (González-Sálamo et al., 2018).

Κάτι που εξετάζεται στις περισσότερες μελέτες διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων είναι η οξείδωση των λιπών, η οποία είναι ένας σημαντικός λόγος αλλοίωσης των τροφίμων και έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη δυσάρεστων γεύσεων και οσμών που είναι γνωστές ως “οξειδωτική τάγγιση” και οι οποίες υποβαθμίζουν την ποιότητα και μειώνουν τη διατηρησιμότητα. Η αέρια χρωματογραφία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση των, κυρίως δευτερογενών, πτητικών προϊόντων της οξείδωσης των λιπών όπως αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, καρβοξυλικά οξέα βραχείας αλύσου και υδρογονάνθρακες. Κάποιες από αυτές τις πτητικές ενώσεις παράγονται συγκεκριμένα από την οξειδωτική απεικονομηση συγκεκριμένων οικογενειών πολυακόρεστων οξέων. Για παράδειγμα, η εξανάλη παράγεται κατά την οξείδωση του λινελαϊκού, του γ- λινολενικού και των αραχιδονικών οξέων και συχνά χρησιμοποιείται ως δείκτης της οξειδωτικής τάγγισης. Η δειγματοληψία για την εισαγωγή του δείγματος συνήθως γίνεται από τον υπερκείμενο χώρο του δείγματος και μπορεί να είναι είτε στατική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (SHS), δυναμική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (DHS) είτε μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) (οι τεχνικές αυτές αναλύονται περισσότερο κατά την ανάλυση της ηλεκτρονικής μύτης). Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι φασματόμετρο μάζας και ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (Kong & Singh, 2016). Οι Conduurso et al. (2008) μελέτησαν με μικροεκχύλιση στερεάς

φάσης και αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματόμετρο μάζας τις πτητικές ενώσεις γαλακτοκομικών προϊόντων, οι οποίες δεν ήταν απαραίτητα προϊόντα οξείδωσης λιπών, προκειμένου να ελέγξουν τη διατηρησιμότητά του και να βρουν εάν η φρεσκότητα διατηρείται μέχρι την ημερομηνία λήξης του προϊόντος. Συμπέραναν ότι μέσω της μεθόδου αυτής μπόρεσαν να ταυτοποιήσουν πολλές πτητικές ενώσεις, κάποιες εκ των οποίων ήταν οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες για το εκάστοτε χαρακτηριστικό άρωμα των συγκεκριμένων τροφίμων και πώς μέσω της τεχνικής αυτής είναι δυνατό με ένα εύκολο, γρήγορο και αναπαραγωγίμο τρόπο να γίνεται λήψη πληροφοριών σχετικά με την διατηρησιμότητα των γαλακτοκομικών αυτών προϊόντων.

### **4.3. Μέτρηση χρώματος**

Η χρωματομετρία (colorimetry) ασχολείται με τον ποσοτικό προσδιορισμό και την φυσική περιγραφή της ανθρώπινης αντίληψης του χρώματος. Το χρώμα είναι ένα χαρακτηριστικό των τροφίμων που παίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην πρώτη εντύπωση που θα σχηματίσουν οι καταναλωτές και επηρεάζει την επιλογή τους σχετικά με την αγορά ή όχι του προϊόντος. Το χρώμα είναι η αντίληψη της ανακλώμενης ακτινοβολίας στην περιοχή του ορατού του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (380-750 nm) από το ανθρώπινο μάτι. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, το χρώμα των τροφίμων συχνά υποβαθμίζεται, ως αποτέλεσμα ενζυματικών και μη ενζυματικών αντιδράσεων, οξείδωσης και άλλων φυσικοχημικών αντιδράσεων και συχνά χρησιμοποιείται σαν ένα μέτρο ποιοτικού ελέγχου των τροφίμων κατά την επεξεργασία και αποθήκευση. Για τα φρέσκα προϊόντα, η μέτρηση του χρώματος είναι μια από τις λίγες ενόργανες μεθόδους που τα αποτελέσματά της συνάδουν με την αξιολόγηση καταναλωτών (Kong & Singh, 2016).

Μεγάλης σημασίας για τις ενόργανες μετρήσεις είναι οι τριχρωματικές μέθοδοι της Διεθνούς Επιτροπής Φωτισμού (CIE - COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE) και του παρόμοιου συστήματος Hunter. Σύμφωνα με την CIE, το ανθρώπινο μάτι έχει τρεις υποδοχείς χρώματος (κόκκινου, πράσινου και μπλε) και όλα τα χρώματα είναι συνδυασμοί αυτών. Το χρώμα ενός αντικειμένου μπορεί να περιγραφεί με χρωματικά μοντέλα, δηλαδή μεθόδους για τη συσχέτιση των τριχρωματικών τιμών και τα οποία ουσιαστικά είναι χώροι που σε κάθε χρώμα αντιστοιχούν αριθμητικές συντεταγμένες. Αυτά διαφέρουν ως προς τη συμμετρία του συστήματος συντεταγμένων που χρησιμοποιείται για τον καθορισμό των σημείων εντός αυτού του χώρου. Μερικά από τα πιο δημοφιλή χρωματικά μοντέλα είναι το

RGB (κόκκινο, πράσινο και μπλε), το Hunter L a b, το CIE L \* a \* b \*, το CIE XYZ, το CIE L \* u \* v \*, το CIE Yxy και το CIE L\*C\*h (Abbott, 1999). Στην παρούσα εργασία θα αναλυθούν τα χρωματικά μοντέλα CIE L\* a\* b\* και CIE L\* C\* h, που είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα για την αντικειμενική αξιολόγηση του χρώματος των τροφίμων.

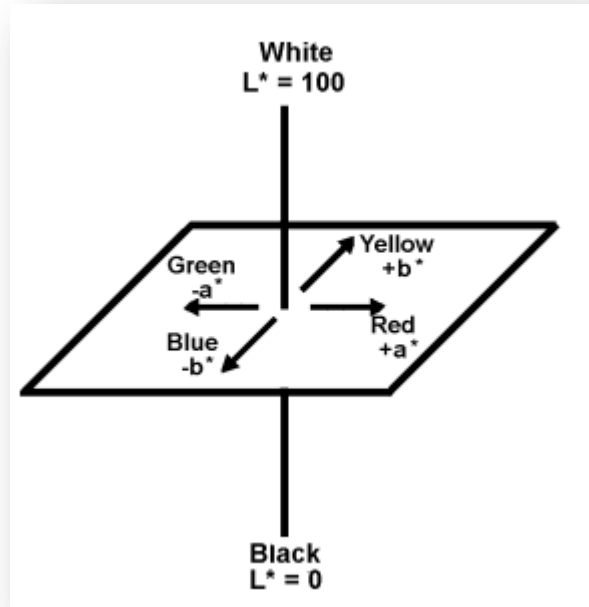
#### 4.3.1. Χρωματικά μοντέλα CIE L\* a\* b\* και CIE L\* C\* h.

Το 1976, η Διεθνής Επιτροπή Φωτισμού πρότεινε να χρησιμοποιείται το χρωματικό μοντέλο CIE L\* a\* b\* ή αλλιώς, CIELAB. Ο στόχος ήταν να υπάρχει μια συγκεκριμένη, σχεδόν ομοιόμορφη χρωματική κλίμακα η οποία θα μπορεί να χρησιμοποιείται από όλους, έτσι ώστε οι τιμές του χρώματος να μπορούν να συγκρίνονται εύκολα.

Το κάθε χρώμα περιγράφεται από 3 συντεταγμένες, οι οποίες ονομάζονται L\* ,a\* και b\* , (εξού και η ονομασία) και απεικονίζονται σε τρισδιάστατο καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων. Σε μια ομοιόμορφη χρωματική κλίμακα, οι διαφορές μεταξύ των σημείων που απεικονίζονται στο χρωματικό χώρο αντιστοιχούν σε οπτικές διαφορές μεταξύ των χρωμάτων που απεικονίζονται.

Όπως φαίνεται στην εικόνα 20, ο άξονας L\* είναι ο κάθετος και είναι μέτρο της φωτεινότητας με το μέγιστό του είναι 100 (λευκό) και το ελάχιστο 0 (μαύρο). Οι άξονες a\* και b\* δεν έχουν συγκεκριμένα αριθμητικά όρια. Θετικές τιμές a\* αντιπροσωπεύουν το κόκκινο ενώ αρνητικές το πράσινο και θετικές τιμές b\* αντιπροσωπεύουν το κίτρινο ενώ αρνητικές το μπλε (Anonymous, 1996).



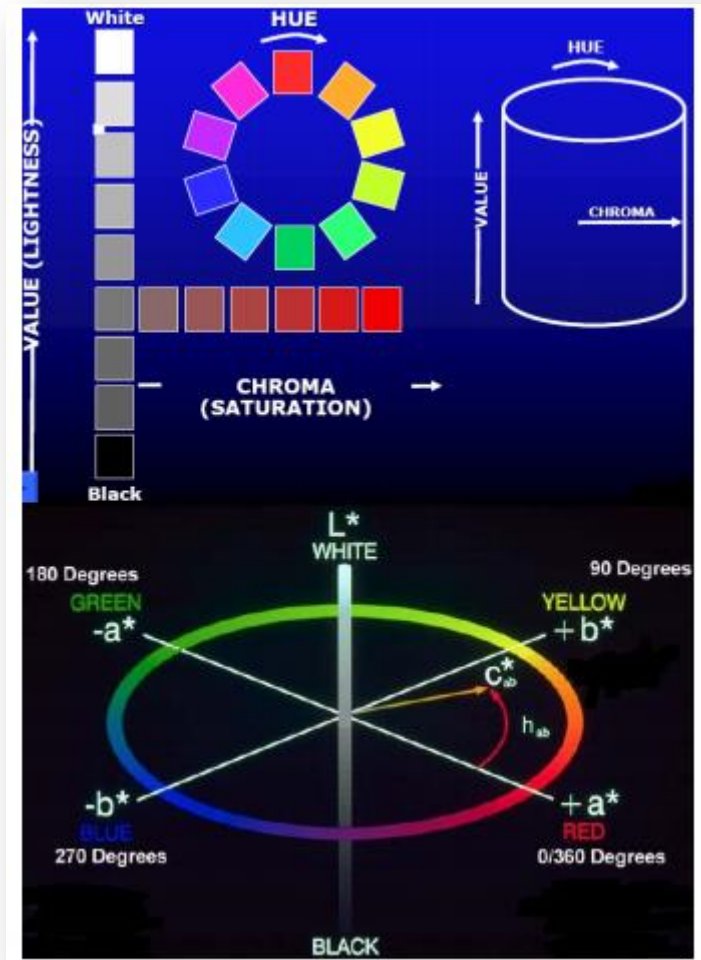


**Εικόνα 20:** Χρωματικός χώρος CIELAB. Ο άξονας  $L^*$  υποδεικνύει την φωτεινότητα (κυμαίνεται από μαύρο σε λευκό), ο  $a^*$  άξονας κυμαίνεται από πράσινο σε κόκκινο και ο  $b^*$  άξονας από κίτρινο σε μπλε (Anonymous, 1996).

Μπορούν να υπολογιστούν οι διαφορές  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ , and  $\Delta b^*$  οι οποίες υποδεικνύουν πόσο διαφέρει ένα δείγμα από ένα πρότυπο (standard) όσον αφορά τις τιμές  $L^*$ ,  $a^*$  και  $b^*$ . Ακόμα, μπορεί να υπολογιστεί η συνολική διαφορά χρώματος,  $\Delta E^*$ , η οποία είναι μια τιμή που λαμβάνει υπόψη τις διαφορές των τιμών  $L^*$ ,  $a^*$  και  $b^*$  του δείγματος και του προτύπου.

Εάν οι καρτεσιανές συντεταγμένες μετατραπούν σε κυλινδρικές, λαμβάνεται το χρωματικό μοντέλο CIE  $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h$  το οποίο χρησιμοποιεί τις πολικές συντεταγμένες  $C^*$  και  $h$  αντί των καρτεσιανών συντεταγμένων  $a^*$  και  $b^*$  ενώ ο παράγοντας  $L^*$  παραμένει και όπου (Choubert, Blanc, & Vallee, 1997):

- $C^*$  είναι ο κορεσμός (chroma ή saturation) δηλαδή η ένταση μιας απόχρωσης από τον γκρίζο τόνο (καθόλου κορεσμός) έως το καθαρό, ζωντανό χρώμα (υψηλός κορεσμός).
- $h$  είναι η χροιά (hue) που μετράται σε μοίρες και προσδιορίζει την απόχρωση παίρνοντας τιμές  $0^\circ$  για το κόκκινο,  $90^\circ$  για το κίτρινο,  $180^\circ$  για το πράσινο και  $270^\circ$  για το μπλέ.



**Εικόνα 21:** Απεικόνιση του χρωματικού μοντέλου CIE  $L^*$ ,  $C^*$  και  $h$  (Anonymous, 2001).

Ο κορεσμός  $C^*$  υπολογίζεται από την εξίσωση (Choubert, Blanc, & Vallee, 1997):

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

Η χροιά  $h$  υπολογίζεται με διαφορετικές εξισώσεις, ανάλογα τις περιπτώσεις (McIellan, Lind & Kime, 1995):

- $h = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$ , όταν  $a^* > 0$  και  $b^* \geq 0$
- $h = 0^\circ$ , όταν  $a^* = 0$  και  $b^* = 0$
- $h = 90^\circ$ ,  $a^* = 0$  και  $b^* > 0$
- $h = 180^\circ + \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$ , όταν  $a^* < 0$
- $h = 270^\circ$ , όταν  $a^* = 0$  και  $b^* < 0$

- $h=360^\circ + \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$ , όταν  $a^*>0$  και  $b^*<0$

#### 4.3.2. Λειτουργία χρωματόμετρου

Το χρώμα μετριέται από τα χρωματόμετρα, στα οποία οι αισθητήρες φιλτράρονται προκειμένου να ανταποκρίνονται παρόμοια με το ανθρώπινο μάτι. Τα περισσότερα παρέχουν αυτόματη μετατροπή των δεδομένων σε διάφορα χρωματικά μοντέλα. Τα φασματομετρικά δεδομένα μπορούν να πολλαπλασιαστούν με τρία τυπικά φάσματα που αντιπροσωπεύουν τις αποκρίσεις των χρωματικών υποδοχέων του ματιού του μέσου ανθρώπου και έπειτα, μπορούν να υπολογιστούν οι τριχρωματικές τιμές (Abbott, 1999). Το ευρεώς χρησιμοποιούμενο τριχρωματικό χρωματόμετρο από την εταιρεία Minolta παρέχει τη δυνατότητα πραγματοποίησης ταχέων, μη καταστρεπτικών και αξιόπιστων μετρήσεων χρώματος στα τρόφιμα ενώ παράλληλα είναι φορητά, κάτι που διευκολύνει την ευρεία χρήση τους. Το χρωματόμετρο αυτό, έχει τρία γυάλινα φίλτρα που αντιστοιχούν στα τρία κύρια χρώματα του φάσματος (κόκκινο, πράσινο και μπλε). Η κεφαλή μέτρησης του χρωματόμετρου μετρά ένα δείγμα, λαμβάνει τις πληροφορίες χρώματος από το δείγμα και ο επεξεργαστής δεδομένων μετατρέπει τις πληροφορίες αυτές σε ένα από τα διάφορα μοντέλα χρωματικού χώρου και εμφανίζει τα δεδομένα (συνήθως προτιμάται η λήψη των δεδομένων βάσει των μοντέλων CIELAB και CIE L\*, C\*, h). Η κεφαλή μέτρησης χωρίζεται σε δύο μέρη. Το ένα μέρος είναι αυτό της μέτρησης δείγματος, που μετρά το ανακλώμενο φως από το δείγμα και το μέρος παρακολούθησης φωτισμού που μετρά απευθείας το φως από την πηγή φωτισμού. Λόγω της μέτρησης του και του φωτός από την πηγή φωτισμού, είναι δυνατό να λάβουμε δεδομένα τα οποία δεν επηρεάζονται από μικρές αλλαγές στην πηγή φωτισμού (Instruction Manual Chroma Meter CR – 400/410, Konica Minolta).

#### 4.3.3. Εφαρμογές χρωματόμετρου στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων

Το χρώμα των προϊόντων, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι ένα πολύ σημαντικό ποιοτικό χαρακτηριστικό το οποίο εξετάζεται στην πλειοψηφία των μελετών διατηρησιμότητας και σταθερότητας των τροφίμων καθώς και σε μελέτες που εξετάζουν εάν συγκεκριμένα συστατικές, συνθήκες επεξεργασίας ή αποθήκευσης κ.α. έχουν επίδραση στη διατηρησιμότητα και τη σταθερότητα. Για παράδειγμα, οι Bowser et al. (2014), μελέτησαν την ποιότητα και τη διατηρησιμότητα αρνίσινων λουκάνικων που περιείχαν εκχύλισμα δενδρολίβανου ως αντιοξειδωτικό. Οι τιμές  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$ ,  $C^*$  και  $h^*$  μετρούταν με

χρωματόμετρο και προέκυψε ότι η τιμή  $a^*$  αυξήθηκε σημαντικά λόγω της ενσωμάτωσης νιτρωδών και νιτρικών κατά τη ζύμωση του λουκάνικου. Τα δείγματα που περιείχαν εκχύλισμα δενδρολίβανου (0,045%) είχαν τις χαμηλότερες μέσες τιμές  $a^*$  στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης και οι τιμές,  $b^*$  ήταν σημαντικά χαμηλότερες για δείγματα που περιείχαν εκχύλισμα δενδρολίβανου (0,030%) στο τέλος της αποθήκευσης ενώ οι μέσες τιμές των παραμέτρων  $C^*$  και  $h^*$  μειώθηκαν για όλα τα δείγματα στην αποθήκευση. Τα προϊόντα αξιολογήθηκαν και από πάνελ, το οποίο κατέληξε ότι τα δείγματα με εκχύλισμα δενδρολίβανου ήταν πιο κόκκινα, κάτι που είναι σε συμφωνία με τις μετρήσεις χρώματος με χρωματόμετρο (τιμή  $a^*$ ). Οι Ros-Chumillas et al. (2007) κατά τη διάρκεια της μελέτης της ποιότητας και της διατηρησιμότητας χυμών πορτοκαλιού πραγματοποίησαν μετρήσεις με χρωματόμετρο προκειμένου να δουν την εξέλιξη του χρώματος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε διαφορετικά υλικά συσκευασίας και διαφορετικές θερμοκρασίες (25 και 4 °C). Κατέληξαν ότι στις πρώτες 60 ημέρες, οι χρωματικές παράμετροι δεν εμφάνισαν σημαντική αλλαγή σε καμία περίπτωση ενώ έπειτα από αυτό το χρονικό διάστημα, οι τιμές,  $L^*$  και  $h^*$  άρχισαν να μειώνονται, το οποίο υποδηλώνει ότι ο χυμός χάνει τη φωτεινότητά του ελαφρά και το χρώμα αλλάζει από το αρχικό κίτρινο προς κοκκινοπούς τόνους, ίσως λόγω μη ενζυμικής αμαύρωσης. Μέσω στατιστικής ανάλυσης κατέληξαν ότι στο τέλος της αποθηκευτικής περιόδου μόνο η θερμοκρασία επέδρασε σημαντικά ( $P < 0,05$ ) στο χρώμα, ενώ οι χυμοί που αποθηκεύτηκαν στους 25°C εμφάνισαν μεγάλες αλλαγές στο χρώμα. Οι Zhuang et al. (2019) μελέτησαν την επίδραση υδατικού και αιθανολικού εκχυλίσματος από φλοιό ροδιού στην ποιότητα και την μικροβιολογική σύνθεση φιλέτων κυπρίνου κατά τη διάρκεια αποθήκευσης σε ψύξη. Κατά τη μελέτη του χρώματος με χρωματόμετρο στα πλαίσια της έρευνας αυτής, βρέθηκε ότι οι αρχικές τιμές  $L^*$  δεν διέφεραν σε σχέση με το μη κατεργασμένο δείγμα (control) σε αντίθεση με τις αρχικές τιμές  $a^*$  και  $b^*$  που μετρήθηκαν στα δείγματα κατεργασμένα με υδατικό εκχύλισμα, οι οποίες διέφεραν λόγω του πρασινωπού και κιτρινωπού χρώματος του υδατικού εκχυλίσματος το οποίο μάλλον προκύπτει από παρουσία φαινολικών ενώσεων όπως το χλωρογενικό οξύ. Γι' αυτό τα προϊόντα που κατεργάστηκαν με αιθανολικό εκχύλισμα είναι πιο πιθανό να γίνουν αποδεκτά από τους καταναλωτές. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, σημαντική διαφορά ( $P < 0,05$ ) στην τιμή  $L^*$  μεταξύ των ακατέργαστων και των κατεργασμένων δειγμάτων εμφανίστηκαν από την ημέρα 5. Με την πάροδο του χρόνου, η τιμή  $b^*$  των ακατέργαστων δειγμάτων αυξήθηκε αλλά η τιμή  $a^*$  μειώθηκε. Δηλαδή, το χρώμα της σάρκας έγινε

κιτρινωπό και πρασινωπό κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, κάτι που είναι ανεπιθύμητο για τους καταναλωτές. Σε σύγκριση με τα ακατέργαστα δείγματα, η τιμή  $b^*$  των δειγμάτων που επεξεργάστηκαν με αιθανολικό εκχύλισμα αυξήθηκε πιο αργά και η διαφορά έγινε σημαντική ( $P < 0,05$ ) μετά την 5<sup>η</sup> ημέρα. Τέλος, η σημαντικότητα ( $P < 0,05$ ) της διαφοράς στην τιμή  $b^*$  εξαφανίστηκε με την πλήρη αλλοίωση όλων των δειγμάτων στο τέλος της αποθήκευσης. Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν επίσης για την τιμή  $a^*$  των κατεργασμένων με αιθανολικό εκχύλισμα δειγμάτων. Επιπλέον, φάνηκε πως η κατεργασία δειγμάτων με το υδατικό εκχύλισμα είχε ως αποτέλεσμα να επιβραδυνθεί η χειροτέρευση του χρώματος παρόλο που προκάλεσε σημαντικές αλλαγές στις αρχικές τιμές  $a^*$  και  $b^*$ . Το προστατευτικό αυτό αποτέλεσμα στο χρώμα, μπορεί να αποδοθεί στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του εκχυλίσματος που απέτρεψε την οξείδωση των λιπών ή των πρωτεϊνών, το οποίο θα είχε σαν αποτέλεσμα αλλαγές στην απορρόφηση και τη σκέδαση του φωτός αλλά και την παραγωγή ορισμένων ειδών οξείδωσης που επηρεάζουν το χρώμα. Στο τέλος της έρευνας, κατάληξαν ότι παρόλο που και οι δύο κατεργασίες είχαν τα θετικά τους, λόγω του μη επιθυμητού χρώματος που προσδίδει η κατεργασία με υδατικό διάλυμα ροδιού στο προϊόν, δε θα προτιμούταν. Συνεπώς, και σε αυτήν την έρευνα, το χρώμα ήταν από τους βασικότερους παράγοντες που μελετήθηκαν.

#### **4.4. Ηλεκτρονική μύτη**

Η μυρωδιά των τροφίμων είναι ένα πολύ σημαντικό ποιοτικό χαρακτηριστικό και η πολυπλοκότητα των αρωμάτων τα καθιστούν δύσκολα στο χαρακτηρισμό από άλλες τεχνικές, όπως η αέρια χρωματογραφία, ενώ, η αξιολόγηση από πάνελ είναι πολύ χρονοβόρα, ακριβή και ενίοτε όχι αντικειμενική. Γι' αυτό το σκοπό αναπτύχθηκαν οι ηλεκτρονικές μύτες (e-noses) οι οποίες είναι όργανα που μιμούνται την αίσθηση της οσμής και τα πλεονεκτήματά τους είναι η υψηλή ευαισθησία, η συσχέτιση των αποτελεσμάτων με αυτά που λαμβάνονται από πάνελ, είναι εύκολο να φτιαχτούν, είναι μη καταστροφικές και παρέχουν γρήγορη ανάλυση δίνοντας αντικειμενικά αποτελέσματα. Παρ'όλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι διεξάγονται ακόμα έρευνες πάνω στις ηλεκτρονικές μύτες, ειδικά για θέματα όπως την τεχνολογία των αισθητήρων, την επεξεργασία των δεδομένων, την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και τις μελέτες επικύρωσης (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).

#### **4.4.1. Περιγραφή ηλεκτρονικής μύτης**

Η ηλεκτρονική μύτη είναι ένα όργανο που έχει σχεδιαστεί για να ανιχνεύει και να διακρίνει σύνθετες οσμές χρησιμοποιώντας μια συστοιχία αισθητήρων. Η συστοιχία αισθητήρων αποτελείται από αισθητήρες που είναι επεξεργασμένοι με ποικιλία βιολογικών ή χημικών υλικών ευαίσθητων σε οσμές. Ένα ερέθισμα οσμής δημιουργεί ένα χαρακτηριστικό δακτυλικό αποτύπωμα (ή αποτύπωμα οσμής) μέσω της συστοιχίας αισθητήρων. Μοτίβα ή δακτυλικά αποτυπώματα από γνωστές οσμές χρησιμοποιούνται για την κατασκευή μιας βάσης δεδομένων, έτσι ώστε άγνωστες οσμές να ταξινομηθούν και να αναγνωρισθούν. Το όργανο της ηλεκτρονικής μύτης αποτελείται από τρία στοιχεία: ένα σύστημα χειρισμού του δείγματος, ένα σύστημα ανίχνευσης και ένα σύστημα επεξεργασίας δεδομένων (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).

#### **4.4.2. Σύστημα χειρισμού δείγματος**

Ο χειρισμός των δειγμάτων είναι ένα κρίσιμο βήμα που επηρεάζει την ανάλυση από την ηλεκτρονική μύτη και η σημασία του οποίου αγνοείται πολύ συχνά. Η ποιότητα της ανάλυσης μπορεί να βελτιωθεί σημαντικά υιοθετώντας μια κατάλληλη τεχνική λήψης του δείγματος. Για να εισαχθούν οι πτητικές ενώσεις που υπάρχουν στον υπερκείμενο χώρο (headspace - HS) του δείγματος στο σύστημα ανίχνευσης της ηλεκτρονικής μύτης χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές (Peris & Escuder-Gilabert, 2009). Στα τρόφιμα, πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες είναι οι: στατική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (SHS), δυναμική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (DHS) και μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) και αναλύονται παρακάτω (Kong & Singh, 2016).

##### **4.4.2.1. Στατική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (Static Headspace Sampling)**

Η στατική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (SHS) γίνεται μέσω τοποθέτησης του δείγματος σε ένα ερμητικά σφραγισμένο φιαλίδιο και στη συνέχεια, όταν επιτυγχάνεται ισορροπία μεταξύ της μήτρας του δείγματος και της αέριας φάσης, γίνεται δειγματοληψία από τον υπερκείμενο χώρο του φιαλιδίου. Η θερμοκρασία δείγματος, ο χρόνος εξισορρόπησης, το μέγεθος του φιαλιδίου και η ποσότητα δείγματος είναι οι κύριες παράμετροι που χρήζουν βελτιστοποίησης. Λόγω της χαμηλής επαναληψιμότητας της χειροκίνητης δειγματοληψίας αυτού του είδους, συνιστάται η χρήση αυτόματου δειγματολήπτη (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).

#### **4.4.2.2. Δυναμική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (Dynamic Headspace Sampling)**

Η τεχνική αυτή έχει αυξημένη ευαισθησία σε σχέση με την SHS. Οι πτητικές ενώσεις παρασύρονται από ένα αδρανές αέριο που ρέει στον υπερκείμενο χώρο και παγιδεύονται σε ένα προσροφητικό μέσο (παγίδα). Η ισορροπία μετατοπίζεται υπέρ της εκρόφησης των πτητικών μορίων από τη μήτρα. Έπειτα, τα παγιδευμένα μόρια εκροφούνται με θέρμανση και εισάγονται στο σύστημα ανίχνευσης. Παράμετροι που μπορούν να βελτιστοποιηθούν σε αυτήν την τεχνική είναι η επιλογή του προσροφητικού μέσου (παγίδας), η θερμοκρασία του δείγματος, ο χρόνος εξισορρόπησης, η ροή του αδρανούς αερίου και ο χρόνος στον οποίο αυτό θα ρέει στον υπερκείμενο χώρο (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).

#### **4.4.2.3. Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)**

Στην τεχνική αυτή, μια ίνα οξειδίου του πυριτίου, η οποία είναι καλυμμένη με ένα λεπτό στρώμα προσροφητικού υλικού, εισάγεται στον υπερκείμενο χώρο, προκειμένου να παγιδεύσει τις πτητικές ενώσεις στην ίνα. Οι παγιδευμένες ενώσεις εκροφώνται μέσω θέρμανσης και εισάγονται στο σύστημα ανίχνευσης. Πέρα από τη φύση του προσροφητικού υλικού που καλύπτει την ίνα, οι κύριες παράμετροι που μπορούν να βελτιστοποιηθούν είναι η θερμοκρασία του δείγματος και η διάρκεια της εκχύλισης (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).

#### **4.4.3. Σύστημα ανίχνευσης**

Η ηλεκτρονική μύτη που έχει μια συστοιχία αισθητήρων αερίου ως σύστημα ανίχνευσης, είναι η πιο κοινή. Ένας χημικός αισθητήρας είναι μια συσκευή ικανή να μετατρέπει την ποσότητα μιας ουσίας σε ένα ηλεκτρικό σήμα, το οποίο σχετίζεται με τη συγκέντρωση συγκεκριμένων σωματιδίων όπως ατόμων, μορίων ή ιόντων σε αέρια ή υγρά. Οι τύποι των αισθητήρων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια ηλεκτρονική μύτη πρέπει να αποκρίνονται σε μόρια στην αέρια φάση, τα οποία συνήθως είναι πτητικές οργανικές ενώσεις (VOCs) με διαφορετικά μοριακά βάρη (Peris & Escuder-Gilabert, 2009). Η βασικότερη κατηγορία αισθητήρων που χρησιμοποιείται στα τρόφιμα είναι οι ηλεκτροχημικοί αισθητήρες, οι οποίοι περιλαμβάνουν τους αμπερομετρικούς, τους ποτενσιομετρικούς, τους αγωγιμομετρικούς αισθητήρες κ.α. (Kong & Singh, 2016).

Η λειτουργικότητα των αισθητήρων αερίου μπορεί να επηρεαστεί από αρκετά προβλήματα, όπως η φραγή ή «δηλητηρίαση» του αισθητήρα, η κάλυψη του σήματος κάποιων ουσιών από κάποια άλλα κύρια συστατικά του δείγματος (όπως η αιθανόλη), από

την επίδραση της υγρασίας και από τη μη γραμμικότητα των σημάτων. Για την προσπέλαση αυτών των εμποδίων, ερευνάται εκτεταμένα η χρήση της φασματομετρία μάζας στη δημιουργία αρωματικών προφίλ τροφίμων (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).

Οι ηλεκτρονικές μύτες που χρησιμοποιούν φασματομετρία μάζας, καλούνται αισθητήρες μάζας ή, μερικές φορές, ηλεκτρονικές μύτες νέας γενιάς. Αυτό το όργανο εισάγει τις πτητικές ενώσεις στον θάλαμο ιονισμού ενός οργάνου φασματομετρίας μάζας (συνήθως ένα τετραπολικό φασματόμετρο μάζας) χωρίς προηγούμενο χρωματογραφικό διαχωρισμό. Κάθε φορτισμένο θραύσμα του φάσματος μάζας που λαμβάνεται, δρα ως «αισθητήρας» και η αφθονία του είναι ισοδύναμη με το σήμα του αισθητήρα. Επομένως, ο αριθμός των «αισθητήρων» σε αυτού του είδους της ηλεκτρονικές μύτες είναι μεταβλητός, εύκολα τροποποιήσιμος και, τις περισσότερες περιπτώσεις είναι υψηλός. Επιπλέον, αυτοί οι «αισθητήρες» παρέχουν χημικές πληροφορίες για το δείγμα. Με αυτόν τον τρόπο, πληροφορίες για το τι είδους ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις διαφορές μεταξύ των δειγμάτων μπορούν να ληφθούν από τη μελέτη του μοτίβου θραυσματοποίησης (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).

#### **4.4.4. Σύστημα επεξεργασίας δεδομένων**

Για την επεξεργασία των δεδομένων, δηλαδή των αποκρίσεων των ανιχνευτών, χρησιμοποιούνται τεχνικές αναγνώρισης προτύπων (Pattern Recognition – PR). Ένας ταξινομητής είναι ένα σύστημα που αναγνωρίζει πρότυπα. Σε αυτόν γίνονται δύο βασικές εργασίες, η εκπαίδευση και η ταξινόμηση. Στην εκπαίδευση, γίνεται προσδιορισμός των κλάσεων ή των συγκεντρώσεων των προτύπων και γίνεται κατάλληλη ρύθμιση των παραμέτρων βάσει των οποίων θα ταξινομούνται τα πρότυπα στις σωστές κλάσεις ή συγκεντρώσεις. Κατά την ταξινόμηση, το πρότυπο ταξινομείται σε μια κλάση ή μια συγκέντρωση (Στρουθόπουλος, 2014). Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές αναγνώρισης προτύπων είναι η ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA) και τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα (ANN). Οι κατάλληλοι αισθητήρες, σε συνδυασμό με την κατάλληλη τεχνική αναγνώρισης προτύπων καθιστούν την ηλεκτρονική μύτη ικανή να αναγνωρίζει απλές ή σύνθετες οσμές και να τις χαρακτηρίζει, καθώς και να ταξινομεί τα προϊόντα βάσει των πτητικών ενώσεων (Peris & Escuder-Gilabert, 2009).



#### 4.4.5. Εφαρμογές ηλεκτρονικής μύτης στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων

Ένα σύστημα ηλεκτρονικής μύτης συζευγμένο με φασματόμετρο μάζας, στο οποίο η δειγματοληψία γινόταν με μικροεκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιήθηκε για την πρόβλεψη της διάρκειας ζωής παστεριωμένου γάλακτος 2% λιπαρών και σοκολατούχου γάλακτος πλήρους λιπαρών. Μέσω παλινδρόμησης μερικών ελάχιστων τετραγώνων προβλέφθηκε η διάρκεια ζωής των δειγμάτων και σε σχέση με αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης ο συντελεστής συσχέτισης ήταν 0,9801 και 0,9832 για το γάλα και το σοκολατούχο γάλα, αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην έρευνα αυτή, η μέτρηση των πτητικών του γάλακτος δεν διήρκεσε περισσότερο από 7 λεπτά (Amruero & Bosset, 2003). Οι Cosio et al. (2007), μελέτησαν την οξείδωση του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου που αποθηκεύτηκε σε διαφορετικές συνθήκες για διαφορετικές χρονικές περιόδους. Παράλληλα με μετρήσεις από ηλεκτρονική μύτη, πραγματοποιήθηκαν και μετρήσεις με ηλεκτρονική γλώσσα καθώς και κλασσικοί χημικοί προσδιορισμοί (όπως οξύτητα, τιμή υπεροξειδίων κ.α.). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ηλεκτρονική μύτη ήταν αρκετή προκειμένου να προσδιοριστεί ο βαθμός οξείδωσης του ελαιολάδου καθώς και για να περιγραφούν οι διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης. Στα πλαίσια της έρευνας, δημιουργήθηκαν δύο μοντέλα ταξινόμησης, ένα που λάμβανε υπόψη όλες τις μετρήσεις και ένα που λάμβανε υπόψη μόνο τις αποκρίσεις της ηλεκτρονικής μύτης. Και τα δύο μοντέλα έδιναν τα ίδια ποσοστά ταξινόμησης των δειγμάτων, συνεπώς, οι ερευνητές κατέληξαν ότι η ηλεκτρονική μύτη μπορεί να εφαρμοστεί επιτυχώς για αξιολόγηση τέτοιων δειγμάτων, σε σχέση με τις παραδοσιακές, χρονοβόρες, χημικές αναλύσεις. Οι Benedetti et al. (2005) ερεύνησαν εάν μπορεί να μετρηθεί η διάρκεια ζωής του ιταλικού τυριού Crescenza μέσω ηλεκτρονικής μύτης, συγκρίνοντας τις μετρήσεις με αποτελέσματα από κλασικές χημικές (pH, οξύτητα κ.α.) και ρεολογικές μετρήσεις. Ο χρόνος αποθήκευσης των δειγμάτων μπορούσε να προσδιοριστεί μέσω τεχνικών ταξινόμησης και στις δύο θερμοκρασίες (8 και 15 °C) που εξετάστηκαν ενώ οι ερευνητές μπόρεσαν να εντοπίσουν ένα “κατώφλι” για κάθε θερμοκρασία, κάτω από το οποίο το προϊόν θεωρείται φρέσκο και συμπέραναν ότι η διάρκεια ζωής που προσδιορίστηκε από την ηλεκτρονική μύτη συνάδει με εκείνη που προκύπτει από τις παραδοσιακές αναλυτικές τεχνικές. Οι Song et al. (2018) δημιούργησαν μοντέλα εκτίμησης του χρόνου αποθήκευσης και πρόβλεψης της διάρκειας ζωής μιας ποικιλίας μανιταριών (*Agaricus Bisporus*). Στα πλαίσια της μελέτης αυτής

πραγματοποίησαν κι άλλες μετρήσεις (υφής, NMR) πέραν της χρησιμοποίησης της ηλεκτρονικής μύτης σε διαφορετικές θερμοκρασίες, όμως η ανάλυση για τη διατηρησιμότητα βασίστηκε στις αλλαγές στην οσμή και συνεπώς, στα αποτελέσματα που λήφθηκαν από την ηλεκτρονική μύτη. Βρέθηκε από τα πειραματικά δεδομένα, ότι για αποθήκευση στους 10 °C και 20 °C, το μανιτάρι μπορεί να διατηρηθεί για 6 και 4 ημέρες αντίστοιχα. Επιπλέον, δημιούργησαν μια εξίσωση πρόβλεψης της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Για να επικυρώσουν το μοντέλο, υπολόγισαν από την εξίσωση ότι εάν το μανιτάρι αποθηκευτεί στους 4 °C, μπορεί να διατηρηθεί για 9,66 ημέρες ενώ το πειραματικό αποτέλεσμα ήταν 9 ημέρες (απόλυτη τιμή σχετικού σφάλματος 7,3%).

#### **4.5. Ηλεκτρονική γλώσσα**

Η ηλεκτρονική γλώσσα είναι ένα όργανο που μετρά και συγκρίνει γεύσεις. Οι χημικές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για τη γεύση, γίνονται αντιληπτές από τους ανθρώπινους υποδοχείς γεύσης και οι αισθητήρες των ηλεκτρονικών οργάνων ανιχνεύουν τις διαλυμένες ενώσεις. Όπως οι ανθρώπινοι υποδοχείς, κάθε αισθητήρας έχει ένα φάσμα αντιδράσεων διαφορετικό από τον άλλο. Οι πληροφορίες που δίνονται από κάθε αισθητήρα είναι συμπληρωματικές και ο συνδυασμός όλων των πληροφοριών δημιουργεί ένα μοναδικό δακτυλικό αποτύπωμα. Τα περισσότερα από τα όρια ανίχνευσης των αισθητήρων είναι παρόμοια ή καλύτερα από αυτά των ανθρώπινων υποδοχέων. Στον βιολογικό μηχανισμό, τα σήματα γεύσης μετατρέπονται από νεύρα στον εγκέφαλο σε ηλεκτρικά σήματα. Οι αισθητήρες της ηλεκτρονικής γλώσσας λειτουργούν παρόμοια, δηλαδή παράγουν ηλεκτρικά σήματα μέσω της ποτενσιομετρίας. Η αντίληψη και αναγνώριση της γεύσης βασίζεται στην οικοδόμηση ή στην αναγνώριση αισθητηριακών νευρικών μοτίβων από τον εγκέφαλο και στο αποτύπωμα της γεύσης του προϊόντος. Η αντίληψη και η αναγνώριση της ποιότητας της γεύσης βασίζεται στην οικοδόμηση ή την αναγνώριση ενεργοποιημένων αισθητηριακών νευρικών μοτίβων από τον εγκέφαλο και στο αποτύπωμα της γεύσης του προϊόντος. Αυτό το βήμα επιτυγχάνεται με το στατιστικό λογισμικό της ηλεκτρονικής γλώσσας, το οποίο ερμηνεύει τα δεδομένα των αισθητήρων σε μοτίβα γεύσης. Η ηλεκτρονική γλώσσα χρησιμοποιεί αισθητήρες γεύσης για να λαμβάνει πληροφορίες από χημικές ουσίες στη γλώσσα και να τις στέλνει σε ένα σύστημα αναγνώρισης προτύπων. Το αποτέλεσμα είναι η ανίχνευση των γεύσεων που συνθέτουν τον ανθρώπινο ουρανίσκο. Ο τύπος της γεύσης που παράγεται χωρίζεται σε πέντε κατηγορίες ξινή, αλμυρή, πικρή,

γλυκιά και umami. Η ξινή γεύση, η οποία περιλαμβάνει υδροχλωρικό, οξικό και κιτρικό οξύ δημιουργείται από ιόντα υδρογόνου. Η αλμυρότητα καταγράφεται ως χλωριούχο νάτριο, η γλυκύτητα ως σάκχαρα, η πικρότητα περιλαμβάνει χημικές ουσίες όπως η κινίνη και η καφεΐνη και ανιχνεύεται μέσω χλωριούχου μαγνησίου, και η umami μέσω του γλουταμινικού μονονατρίου στα φύκια και δινατρίου στο κρέας, στο ψάρι και στα μανιτάρια (Bhattacharyya & Bandhopadhyay, 2010).

#### 4.5.1. Λειτουργία ηλεκτρονικής γλώσσας

Ο μηχανισμός που εμπλέκεται για την αναγνώριση της γεύσης στην ανθρώπινη και την ηλεκτρονική γλώσσα έχει τα ίδια τρία επίπεδα: το επίπεδο του υποδοχέα (γευστικοί κάλυκες στον άνθρωπο, μεμβράνη λιπιδίων ή αισθητήρες μετάλλων στις ηλεκτρονικές γλώσσες), το επίπεδο κυκλώματος (νευρική μετάδοση σε ανθρώπους, μετατροπείς στις ηλεκτρονικές γλώσσες), το αντιληπτικό επίπεδο (γνώστική λειτουργία (cognition) του θαλάμου στον άνθρωπο, στατιστική ανάλυση από λογισμικό στις ηλεκτρονικές γλώσσες) (Bhattacharyya & Bandhopadhyay, 2010).

##### a) Το επίπεδο του υποδοχέα

Στο επίπεδο του υποδοχέα, για την ανίχνευση διαλυμένων οργανικών και ανόργανων ενώσεων, χρησιμοποιούνται αισθητήρες και στελέχη (probes) στην ηλεκτρονική γλώσσα. Κάθε ανιχνευτής δείχνει διασταυρούμενη ευαισθησία και επιλεκτικότητα, έτσι ώστε κάθε αισθητήρας να μπορεί ταυτόχρονα να συμβάλει στην ανίχνευση των περισσότερων ουσιών που βρίσκονται στην υγρή μήτρα. Αυτοί οι αισθητήρες αποτελούνται από μια οργανική επίστρωση ευαίσθητη στο είδος των αναλυτών που βρίσκονται στα δείγματα και έναν μορφοτροπέα, ο οποίος επιτρέπει τη μετατροπή της απόκρισης της μεμβράνης σε σήμα (Bhattacharyya & Bandhopadhyay, 2010).

##### b) Το επίπεδο κυκλώματος

Στο επίπεδο κυκλώματος, το δείγμα ποσοτικοποιείται, ψηφιοποιείται και τα αποτελέσματα καταγράφονται. Ηλεκτροαναλυτικές μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μέτρηση του αποτελέσματος μέσω της παρακολούθησης του δυναμικού ή/και του ρεύματος. Η ποτενσιομετρία μετρά το δυναμικό ενός διαλύματος μέσω ηλεκτροδίων με παθητικό τρόπο, επηρεάζοντας το διάλυμα πολύ λίγο κατά τη διαδικασία. Η βολταμετρία εφαρμόζει

ένα σταθερό και/ή μεταβαλλόμενο δυναμικό στην επιφάνεια ενός ηλεκτροδίου και μετρά το προκύπτον ρεύμα με ένα σύστημα τριών ηλεκτροδίων. Η κουλομετρία χρησιμοποιεί εφαρμοζόμενο ρεύμα ή δυναμικό για να μετατρέψει πλήρως έναν αναλύτη από μία οξειδωτική κατάσταση σε άλλη. Σε αυτό το πείραμα το συνολικό ρεύμα που περνά μετράται άμεσα ή έμμεσα για να προσδιοριστεί ο αριθμός των ηλεκτρονίων που πέρασαν (Bhattacharyya & Bandhopadhyay, 2010).

c) Το αντιληπτικό επίπεδο

Σε αυτό το επίπεδο, η “αντίληψη” γίνεται σε υπολογιστή με τη χρήση ενός συστήματος ηλεκτρονικής γλώσσας. Ανάλογα με την εφαρμογή για την οποία προορίζεται, η ανάλυση δεδομένων μπορεί να παράγει μια ποικιλία πληροφοριών, χρησιμοποιώντας διαφορετικές στατιστικές μεθόδους όπως η PCA στο σύνολο δεδομένων, προκειμένου να συσχετιστούν τα συλλεγόμενα δεδομένα (Bhattacharyya & Bandhopadhyay, 2010).

#### **4.5.2. Εφαρμογές ηλεκτρονικής γλώσσας στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων**

Μια ηλεκτρονική γλώσσα αποτελούμενη από τέσσερις αισθητήρες αναπτύχθηκε για την παρακολούθηση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής παστεριωμένου γάλακτος. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ των δειγμάτων γάλακτος που έχουν αποθηκευτεί για διαφορετικό χρονικό διάστημα. Ακόμη, το μαθηματικό μοντέλο που βασίζεται σε παλινδρόμηση μερικών ελαχίστων τετραγώνων προέβλεψε με επιτυχία το συνολικό αριθμό βακτηριδίων και το ιξώδες του γάλακτος. Συνεπώς, η ηλεκτρονική γλώσσα μπορεί αποτελεσματικά να προβλέψει τους βιοχημικούς και μικροβιακούς δείκτες επιδείνωσης των τροφίμων (Wei, Wang & Zhang, 2013). Οι Gil et al. (2011) παρακολούθησαν τις αλλαγές στις φυσικοχημικές παραμέτρους και στους μικροβιολογικούς δείκτες σε φρέσκο χοιρινό κρέας απόθηκευμένο υπό ψύξη με ηλεκτρονική γλώσσα που αποτελείται από έξι ηλεκτρόδια εργασίας και μετά την ανάλυση των δεδομένων, βρέθηκε ένας αρκετά καλός συσχετισμός μεταξύ του pH και των ποτενσιομετρικών δεδομένων. Επίσης, παρατηρήθηκε καλός συσχετισμός μεταξύ των αποτεσμάτων των μετρήσεων με ηλεκτρονική γλώσσα και του λεγόμενου δείκτη K που αφορά τη διακύμανση των προϊόντων αποδόμησης της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ηλεκτρονική γλώσσα μπορεί να συμβάλλει στην ποιοτική ή ημι-ποσοτική ανάλυση της φρεσκότητας του κρέατος. Οι Han et al. (2014)

χρησιμοποίησαν ποτενσιομετρική ηλεκτρονική γλώσσα προκειμένου να αξιολογήσουν τη φρεσκότητα ψαριών συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με αυτά από χημικές (ολικό πτητικό βασικό άζωτο) και μικροβιολογικές (καταμέτρηση ζώντων μικροοργανισμών) μετρήσεις. Βάσει των αποτελεσμάτων της ηλεκτρονικής μύτης και με τη βοήθεια πολυπαραγοντικών αλγορίθμων, τα ψάρια ταξινομήθηκαν ανάλογα τις ημέρες αποθήκευσης και το υψηλότερο ποσοστό ορθής ταξινόμησης που επιτεύχθηκε ήταν 97,22%. Ακόμη, προβλέφθηκαν οι τιμές του ολικού πτητικού βασικού αζώτου και των ζώντων μικροοργανισμών με συντελεστές συσχέτισης 0,9491 και 0,904 αντίστοιχα. Συνεπώς, και αυτή η έρευνα έδειξε ότι η ηλεκτρονική γλώσσα θα μπορούσε δυνητικά να αξιολογεί εύκολα και μη καταστρεπτικά τη φρεσκότητα των ψαριών. Οι Rodríguez-Mendez et al. (2009) χρησιμοποίησαν μια ηλεκτρονική γλώσσα τροποποιημένη με φθαλοκυανίνη (ευαίσθητη τόσο σε ιόντα όσο και σε ηλεκτροενεργές ουσίες) για τον προσδιορισμό των βιογενών αμινών στα ψάρια προκειμένου να αξιολογηθεί η φρεσκότητά τους. Με σκοπό την περαιτέρω αξιολόγηση των ορίων ανίχνευσης των βιογενών αμινών, μια καινοτόμος ηλεκτρονική γλώσσα αποτελούμενη από ηλεκτρόδια τροποποιημένα με πολυπυρρόλη αναπτύχθηκε και βρέθηκε ότι το όριο ανίχνευσης για την τριμεθυλαμίνη είναι  $1.58 \times 10^{-5}$  mol/L. Και από αυτή τη μελέτη προκύπτει ότι η ηλεκτρονική γλώσσα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στην ανάλυση της φρεσκότητας των ψαριών καθώς και στον προσδιορισμό του χρόνου που έχει παρέλθει από το θάνατο τους (Jiang et al., 2018).

#### **4.6. IR**

Για τη μελέτη ποιοτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες φασματοσκοπικές τεχνικές, οι οποίες βασίζονται στην αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη (Kong & Singh, 2016). Η υπέρυθρη περιοχή (IR) του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος κατηγοριοποιείται στις παρακάτω περιοχές: άπω υπέρυθρο ( $4 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ), μέσο υπέρυθρο ( $400 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ ) και εγγύς υπέρυθρο ( $4.000 - 14.000 \text{ cm}^{-1}$ ). Η ταυτοποίηση ενώσεων στα τρόφιμα με φασματοσκοπία IR βασίζεται στην ικανότητα των μορίων να απορροφούν ακτινοβολία και να δονούνται. Η δονητική κίνηση είναι χαρακτηριστική της σύστασής τους. Στη φασματοσκοπία υπέρυθρου, μια δέσμη υπέρυθρου φωτός περνά μέσα από το δείγμα. Η ακτινοβολία που αλληλεπιδρά με το δείγμα μπορεί να απορροφηθεί, να διαπεράσει το σώμα ή να ανακλαστεί. Η ακτινοβολία που ανακλάται ή διαπερνά το σώμα μπορεί να μετρηθεί, και τα φάσματα περιέχουν

πληροφορίες για τις μοριακές ομάδες και τη χημική σύνθεση. Το νερό, τα σάκχαρα, τα οξέα και άλλες οργανικές ουσίες απορροφούν φως εγγύς υπέρυθρου ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους. Έτσι, η φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρου είναι ικανή να διακρίνει τα συστατικά μέρη ενός τροφίμου και να αξιολογεί τη συγκέντρωση κάθε συστατικού. Οι ζώνες απορρόφησης στην περιοχή μέσου υπέρυθρου γενικά οφείλονται σε ενδομοριακά φαινόμενα και συγκεκριμένη μοριακή σύνθεση και δομή. Ανάλυση δείγματος τροφίμου με χρήση του φάσματος μέσου υπέρυθρου δίνει πληροφορίες σχετικά με τους παρόντες μοριακούς δεσμούς και μπορεί, συνεπώς, να δώσει λεπτομέρειες για το τύπο των μορίων που υπάρχουν στα τρόφιμα. Σε σύγκριση με την ακτινοβολία μέσου υπέρυθρου, η ακρινοβολία εγγύς υπέρυθρου μπορεί συνήθως να διεισδύσει πολύ πιο μέσα σε ένα δείγμα, το οποίο την καθιστά κατάλληλη για ανίχνευση χύμα υλικού με ελάχιστη ή καθόλου προετοιμασία δείγματος (Kong & Singh, 2016).

#### 4.6.1. Θεωρητικές αρχές

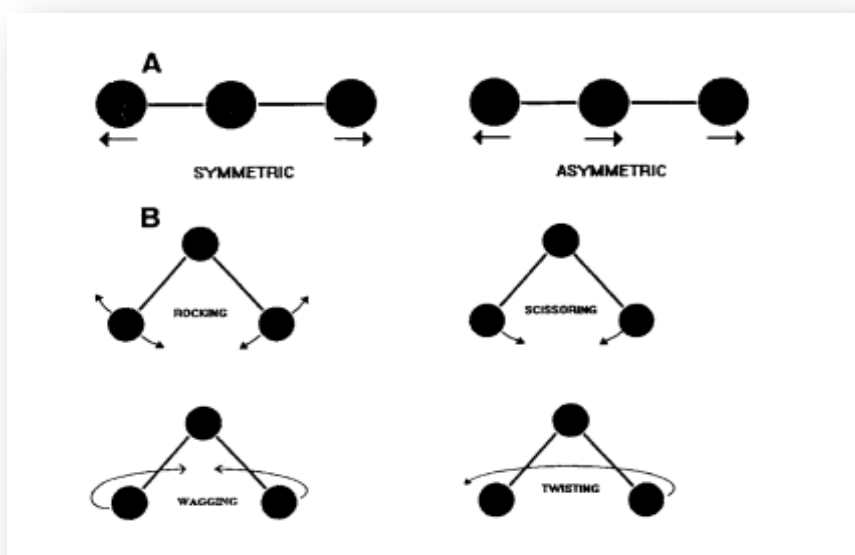
Η υπέρυθη ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει μεταβολές της δονητικής ενέργειας των μορίων στην ίδια ηλεκτρονιακή στάθμη και μπορεί να απορροφηθεί από ένα μόριο μόνο όταν υποστεί περιοδική μεταβολή η διπολική ροπή αυτού κατά τη διάρκεια της δόνησής. Ακόμη, για να μπορούν τα μόρια του δείγματος να απορροφήσουν στο υπέρυθρο φάσμα, θα πρέπει η συχνότητα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας να συμπίπτει με τη συχνότητα δόνησης των ατόμων του δεσμού. Η συχνότητα δόνησης τάσεως προκύπτει από το νόμο του Hooke για αρμονικό ταλαντωτή όπου  $k$  είναι η σταθερά ισχύος του δεσμού και  $\mu$  είναι η ανηγμένη μάζα (Ismail, Van de Voort & Sedman, 1997):

$$v = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Ένα μη γραμμικό μόριο αποτελούμενο από  $N$  άτομα θεωρείται ότι έχει  $3N$  βαθμούς ελευθερίας επειδή εάν περιγραφόταν η θέση κάθε ατόμου από τρεις συντεταγμένες (π.χ.,  $x$ ,  $y$  και  $z$  σε ένα καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων), η θέση, το σχήμα και ο προσανατολισμός του μορίου στον τρισδιάστατο χώρο θα περιγραφόντουσαν πλήρως. Γι' αυτό το λόγο (επειδή χρειάζονται τρεις συντεταγμένες), θεωρείται ότι το μόριο έχει τρεις βαθμούς ελευθερίας. Τρεις επιπλέον βαθμοί ελευθερίας αντιπροσωπεύουν την

περιστροφή του μορίου γύρω από τους τρεις άξονες. Οι υπόλοιποι βαθμοί ελευθερίας αντιστοιχούν σε κινήσεις δόνησης και το μόριο, συνεπώς, θεωρείται ότι έχει  $3N-6$  τρόπους δόνησης. ΑΣτην περίπτωση γραμμικού μορίου, υπάρχουν μόνο δύο βαθμοί ελευθερίας περιστροφής, καθώς η περιστροφή γύρω από τον άξονα του δεσμού δεν είναι δυνατή. Επομένως, ένα γραμμικό μόριο έχει  $3N-5$  τρόπους δόνησης (Ismail, Van de Voort & Sedman, 1997).

Οι μοριακές δονήσεις μπροούν να κατηγοριοποιηθούν σε δονήσεις τάσης και κάμψης. (Εικόνα 22). Ως αποτέλεσμα των δονήσεων τάσης αλλάζει το μήκος του δεσμού και ως αποτέλεσμα των δονήσεων κάμψης αλλάζει η γωνία μεταξύ των δεσμών (Μπατσούλης, 2016).



**Εικόνα 22:** Σχηματική απεικόνιση ειδών δόνησης. Οι δύο πάνω είναι οι δονήσεις τάσης: αριστερά η συμμετρική και δεξιά η ασύμμετρη. Οι τέσσερις κάτω είναι δονήσεις κάμψης: πάνω αριστερά είναι η δόνηση λικνιζόμενη δόνηση (*rocking*), πάνω δεξιά η ψαλιδοειδής (*scissoring*), κάτω αριστερά η παλλόμενη (*wagging*) και κάτω δεξιά η συστρεφόμενη δόνηση (*twisting*). (Πηγή: (Ismail, Van de Voort & Sedman, 1997).

Σε ένα τυπικό φάσμα IR, οι χαρακτηριστικές ομάδες απορροφούν στην περιοχή  $4.000-1.000\text{ cm}^{-1}$  ενώ στην περιοχή  $1.400-600\text{ cm}^{-1}$  (περιοχή δακτυλικών αποτυπωμάτων), οι ζώνες απορρόφησης οφείλονται στη δόνηση του σκελετού του μορίου. Υπάρχουν

πίνακες που λειτουργούν ως κατευθυντήριες γραμμές σχετικά με τις περιοχές που απορροφούν διάφορες οργανικές ενώσεις και αποτελούν χρήσιμο εργαλείο στην ερμηνεία φασμάτων IR (Μπατσούλης, 2016).

#### 4.6.2 Λειτουργία φασματοφωτόμετρου υπέρυθρου

Ένα φασματομέτρο αποτελείται γενικά από μια πηγή υπέρυθρης ακτινοβολίας, ένα μονοχρωμάτωρα, έναν υποδοχέα δείγματος και έναν ανιχνευτή. Η πηγή της ακτινοβολίας μπορεί να είναι μια λυχνία βολφραμίου-αλογόνου ή νικελίου-χρωμίου. Ο μονοχρωμάτωρας μπορεί να είναι ένα φράγμα ή ένα πρίσμα και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των μεμονωμένων συχνοτήτων της ακτινοβολίας. Ο διαχωριστής μήκους κύματος περιστρέφεται έτσι ώστε η ακτινοβολία των μεμονωμένων μηκών κύματος να φθάνει στον ανιχνευτή. Οι ανιχνευτές μπορεί να είναι κατασκευασμένοι από πυρίτιο, θειούχο μόλυβδο, δευτεριωμένη θειική τριγλυκίνη κ.α. και μπορεί να έχουν διαφορετικό μέγεθος, ταχύτητα, ευαισθησία και λόγο σήματος προς θόρυβο. Όπως αναφέραμε, η ακτινοβολία που αλληλεπιδρά με ένα δείγμα μπορεί να απορροφηθεί, να διαπεράσει το σώμα ή να ανακλαστεί. Συνεπώς, υπάρχουν διαφορετικοί τρόποι μέτρησης που ταιριάζουν σε διαφορετικές εφαρμογές (Μπατσούλης, 2016; Kong & Singh, 2016).

Με τη βελτίωση της τεχνολογίας των υπολογιστών, αναπτύχθηκε ένα φασματοφωτόμετρο υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR) στο οποίο, αντί μονοχρωμάτωρα που χρησιμοποιείται σε ένα απλό φασματοφωτόμετρο, χρησιμοποιείται ένα συμβολομέτρο Michelson το οποίο επιτρέπει να κατευθύνονται στον ανιχνευτή όλες οι συχνότητες ταυτόχρονα και όχι η μια μετά την άλλη. Το συμβολογράφημα, το οποίο καταγράφει τις μεταβολές στην απόκριση του ανιχνευτή σε συνάρτηση με το χρόνο, μετατρέπεται σε ένα συμβατικό φάσμα IR μέσω μαθηματικής επεξεργασίας με τον αλγόριθμο μετασχηματισμού Fourier. Τα φασματοφωτόμετρα είναι φθηνότερα από τα συμβατικά και είναι πιο γρήγορα στην απόκριση δεδομένου ότι οι πληροφορίες για όλες τις συχνότητες συλλέγονται ταυτόχρονα. Αυτά τα φασματομέτρα, επίσης, έχουν ευαισθησία στις μετρήσεις.





**Εικόνα 23:** Φασματοφωτόμετρο υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR) (Πηγή: <https://www.ssi.shimadzu.com/products/ftir-spectrophotometers/iraffinity-1s.html>).

#### 4.6.3 Εφαρμογές IR στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων

Οι Di Egidio et al. (2009) μελέτησαν τη διάρκεια ζωής φρεσκοκομμένου ανανά που αποθηκεύεται σε διαφορετικές θερμοκρασίες μέσω φασματοσκοπίας FT-NIR και FT-MIR. Τα φάσματα FT-NIR αποκτήθηκαν σε λειτουργία ανάκλασης απευθείας στη φέτα του φρεσκοκομμένου ανανά στην περιοχή  $12.500-3.900\text{ cm}^{-1}$ , ενώ τα φάσματα FT-MIR αποκτήθηκαν στην περιοχή  $4.000-700\text{ cm}^{-1}$  χρησιμοποιώντας ένα κρύσταλλο ATR (αποσβένουσας ολικής ανάκλασης). Εφαρμόστηκε ανάλυση PCA στα φάσματα προκειμένου να διερευνηθούν οι μεταβολές που συμβαίνουν κατά την αποθήκευση. Οι ερευνητές μπόρεσαν να διακρίνουν με σαφήνεια μεταξύ των «φρέσκων» και των «παλαιών» δειγμάτων καθώς και να καθορίσουν το χρονικό διάστημα για το οποίο το τρόφιμο εμφανίζει σταθερότητα για κάθε θερμοκρασία και το οποίο αντιστοιχεί στο χρόνο που ξεκινά να χάνεται η φρεσκότητα. Ο χρόνος για τον οποίο το τρόφιμο εμφανίζει σταθερότητα που υπολογίστηκε με το NIR συνάδει με αυτόν που υπολογίστηκε βάσει του MIR. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι μη καταστρεπτικές μέθοδοι, όπως η φασματοσκοπία NIR και MIR θα μπορούσαν να υποστηρίξουν συμβατικές τεχνικές (χημική και μικροβιολογική ανάλυση) στη μελέτη της διάρκειας ζωής των φρεσκοκομμένων φρούτων. Η αρχική απώλεια φρεσκάδας που παρατηρήθηκε στο IR επιβεβαιώθηκε μέσω των μικροβιολογικών αναλύσεων. Ακόμη, οι κύριες αλλαγές που παρατηρούνται στα φάσματα σχετίζονται με την απώλεια νερού και την τροποποίηση της σύστασης του

προϊόντος κατά την αποθήκευση, τα οποία μπορεί επίσης να οφείλονται σε μικροβιακή ανάπτυξη. Οι Sinelli et al. (2005) μελέτησαν τη διάρκεια ζωής τυποποιημένου βιομηχανικού τυριού ρικότα που αποθηκεύτηκε σε διαφορετικές θερμοκρασίες μέσω φασματοσκοπίας FT-NIR (12.000 έως 4.400  $\text{cm}^{-1}$ ). Μέσω ανάλυσης PCA οι ερευνητές ήταν σε θέση να βρουν μια κρίσιμη ημέρα για κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης, η οποία αντιστοιχεί στη ημέρα που η φρεσκότητα “χάνεται” λόγω ενζυματικών ή οξειδωτικών διεργασιών και αυτό έχει αρνητική συνέπεια στην ποιότητα του προϊόντος. Η αποθήκευση πέραν αυτής της ημέρας οδηγεί σε μη αποδεκτό προϊόν. Η κρίσιμη ημέρα υπολογίστηκε και μέσω φυσικοχημικών και ρεολογικών μεθόδων και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά που προέκυψαν από τη φασματοσκοπία. Παρατηρήθηκε ότι για την αποθήκευση στους 3°C υπολογίστηκε μέσω IR ότι χρειάζεται λιγότερος χρόνος (κατά 11 ημέρες) για να φτάσει το κατώφλι απώλειας φρεσκότητας σε σχέση με τις άλλες μεθόδους. Κάτι παρόμοιο φάνηκε και για τους 10°C, όπου το NIR εντόπισε το κατώφλι απώλειας της φρεσκότητας δύο μέρες νωρίτερα από τις άλλες τεχνικές. Σύμφωνα με τους ερευνητές, αυτό υποδεικνύει ότι το NIR έχει τη δυνατότητα να ανιχνεύει απώλειες στη φρεσκότητα νωρίτερα, κάτι που στους 3°C ήταν πολύ πιο προφανές λόγω του μεγαλύτερου χρόνου αποθήκευσης. Επίσης, οι στατιστικοί δείκτες που προέκυψαν (πχ  $R^2$ ) υποδεικνύουν ότι το NIR μπορεί να είναι ένα αξιόπιστο εργαλείο στη πρόβλεψη της διάρκειας ζωής φρέσκων γαλακτοκομικών προϊόντων ακόμα και εάν τα δείγματα εμφανίζουν μειωμένο βαθμό υποβάθμισης και του οποίου τα αποτελέσματα που παρέχει είναι συγκρίσιμα με αυτά από χημικές ρεολογικές μετρήσεις.

#### **4.7. Ανάλυση προφίλ υφής (TPA)**

Η υφή είναι ένας σημαντικός δείκτης ποιότητας για τα τρόφιμα και θεωρείται ότι επηρεάζει τη συνολική γνώμη και προτίμηση των καταναλωτών. Συνεπώς, σε μια μελέτη διατηρησιμότητας ενός τροφίμου, πιθανή μεταβολή αυτού του ποιοτικού χαρακτηριστικού πρέπει να εξετάζεται. Μια ενόργανη μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η ανάλυση προφίλ υφής (Texture Profile Analysis – TPA) και επιτρέπει τη συσχέτιση οργανοληπτικών παραμέτρων με άμεσα μετρήσιμα φυσικά μεγέθη.

##### **4.7.1 Αναλυτής υφής**

Το όργανο που χρησιμοποιείται ονομάζεται αναλυτής υφής και αποτελείται από ένα βραχίονα, ο οποίος έχει τη δυνατότητα να κινείται και στον οποίο τοποθετείται ένα στέλεχος (probe) το οποίο μπορεί να είναι πλάκα, λεπίδα, βελόνα κ.α. Όταν το τρόφιμο

τοποθετείται στην επιφάνεια μέτρησης, ο βραχίονας το συμπιέζει δύο φορές προκειμένου να προσομοιωθεί η διαδικασία της μάσησης. Η αλληλεπίδραση του αναλυτή υφής και του τροφίμου μετράται ως δύναμη σε συνάρτηση με το χρόνο. Μέσω αυτής της διαδικασίας, μπορούν να προσδιοριστούν διάφορες ιδιότητες του τροφίμου, οι κυριότερες από τις οποίες θα αναλυθούν παρακάτω (Λημναίος, Κατσιμίχας & Ταούκης, 2021). Στον αναλυτή υφής, πέραν του είδους του στέλεχους, ανάλογα το τρόφιμο μπορούν να βελτιστοποιηθούν παράμετροι όπως ο χρόνος που θα μεσολαβήσει μεταξύ των δύο συμπιέσεων, η ταχύτητα κίνησης του αναλυτή, η δύναμη, το επί τοις εκατό ποσοστό του τροφίμου που θα συμπιεστεί (επιλέγοντας τα εκατοστά ή χιλιοστά στα οποία θα γίνει η συμπίεση) κ.α.



**Εικόνα 24:** Αναλυτής υφής (Πηγή: Λημναίος, Κατσιμίχας & Ταούκης, 2021).

Η μέτρηση TPA γενικά ακολουθεί την εξής πορεία ([www.rheologylab.com](http://www.rheologylab.com))

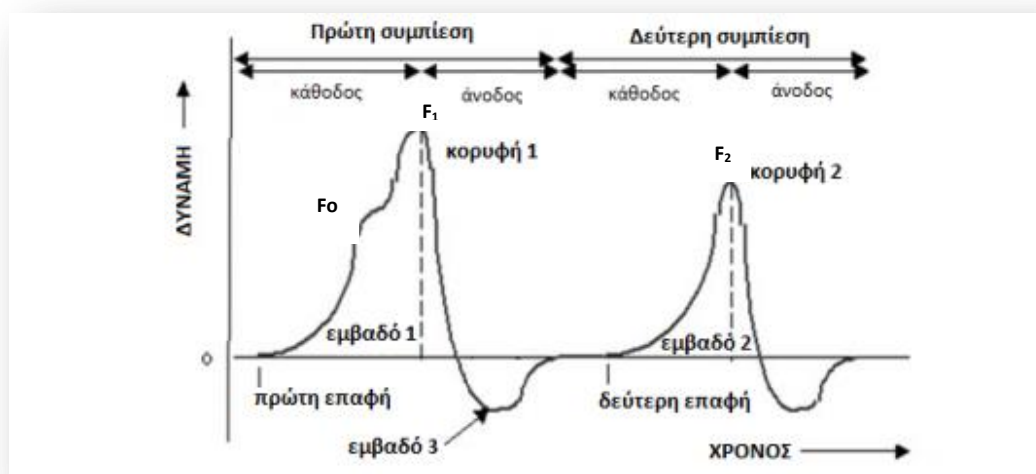
1<sup>η</sup> συμπίεση: Το στέλεχος κατεβαίνει προς το δείγμα και μόλις το ακουμπά ξεκινά η μέτρηση. Η κατάβαση γίνεται με μια καθορισμένη ταχύτητα, για μια καθορισμένη απόσταση ή για μια καθορισμένη χρονική διάρκεια.

1<sup>η</sup> άνοδος: Όταν το στέλεχος κατέβει την επιθυμητή απόσταση ή χρονική διάρκεια, ξεκινά η απόσυρσή του από το δείγμα, δηλαδή η άνοδος. Συνήθως γίνεται με γρηγορότερη ταχύτητα για καθορισμένη απόσταση ή χρονική διάρκεια.

Αναμονή: Μπορεί να οριστεί μπορεί κάποιο διάστημα αναμονής προκειμένου το δείγμα να ανακάμψει πριν επαναληφθεί η διαδικασία με 2<sup>η</sup> συμπίεση και 2<sup>η</sup> άνοδο.

#### 4.7.2. Μετρούμενες ιδιότητες

Ένα κλασικό γράφημα που λαμβάνεται από τον αναλυτή υφής φαίνεται στην εικόνα 25.



**Εικόνα 25:** Τυπικό διάγραμμα ανάλυσης προφίλ υφής (Πηγή: Λημναίος, Κατσιμίχας & Ταούκης, 2021).

Οι κύριες ιδιότητες που μετρούνται φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Λημναίος, Κατσιμίχας & Ταούκης, 2021).

Ιδιότητα	Οργανοληπτικός ορισμός	Αντικειμενικός ορισμός
Σκληρότητα	Η δύναμη που χρειάζεται προκειμένου να συμπιεστεί το τρόφιμο ανάμεσα στους γομφίους.	Η μέγιστη δύναμη κατά την 1 <sup>η</sup> συμπίεση, δηλαδή, το ύψος της κορυφής 1 ( $F_1$ ).
Ευθραστότητα	Η δύναμη στην οποία το τρόφιμο θραύεται.	Το ύψος της 1 <sup>ης</sup> σημαντικής κορυφής (εάν υπάρχει) κατά την 1 <sup>η</sup> συμπίεση ( $F_o$ ).
Ελαστικότητα	Το ποσοστό κατά το οποίο ένα τρόφιμο επανέρχεται στο αρχικό μέγεθος μετά το τέλος της συμπίεσης.	Λόγος του 1 <sup>ου</sup> χρόνου επαφής προς το χρόνο 2 <sup>ης</sup> επαφής.
Προσκολλησιμότητα	Το έργο που απαιτείται για την απομάκρυνση ενός τροφίμου από μια επιφάνεια.	Εμβαστό της πρώτης αρνητικής κορυφής (εμβαστό 3).
Συνεκτικότητα	Η ισχύς των εσωτερικών δεσμών στο τρόφιμο.	Αναλογία του εμβαστού κορυφής κατά τη δεύτερη συμπίεση προς αυτό της πρώτης συμπίεσης (εμβαστό 2/εμβαστό 1).

#### 4.7.3. Εφαρμογές ανάλυση προφίλ υφής στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων

Η υφή είναι ένα σημαντικότερο χαρακτηριστικό το οποίο αξιολογείται στις περισσότερες μελέτες διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων. Παρακάτω θα παρουσιαστούν κάποιες τέτοιες μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκε αναλυτής υφής καθώς και τα αποτελέσματά που προέκυψαν. Οι Melro et al. (2020) μελέτησαν επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος, και πιο συγκεκριμένα αλλαντικά ζαμπόν, γαλοπούλας και μπέικον, τα οποία είχαν αποθηκευτεί υπό ψύξη για 35 ημέρες. Μεταξύ άλλων μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια αυτής της έρευνας, μετρήθηκαν η σκληρότητα, η ελαστικότητα και η δύναμη θραύσης μέσω ενός αναλυτή υφής. Έξι επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε δείγμα και τα αποτελέσματα βασίστηκαν στη μέση τιμή αυτών. Προέκυψε ότι γενικά, το ζαμπόν παρουσιάζει υψηλότερες τιμές για όλες τις παραμέτρους σε σχέση με τα άλλα δύο προϊόντα. Στις μετρήσεις που λήφθηκαν την 35<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης, παρατηρήθηκε ότι όλες οι παράμετροι είχαν ελαφρώς αυξηθεί, όμως, δεν βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι Jacobsson et al. (2004) μελέτησαν την επίδραση που έχουν διάφορα υλικά συσκευασίας στη διάρκεια ζωής φρέσκου μπρόκολου όσον αφορά αλλαγές στο βάρος, το χρώμα και την υφή του προϊόντος. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με αναλυτή υφής στα κοτσάνια του μπρόκολου και υπολογίστηκε η ενέργεια που απαιτείται για την κοπή ως η δύναμη  $F$  προς τη διάμετρο  $D$  του κοτσανιού. Θεωρήθηκε ότι το τέλος της διάρκειας ζωής επήλθε όταν η ενέργεια άλλαξε κατά 20% από την αρχική τιμή (είτε αύξηση είτε μείωση). Επιλέχθηκε αυτό το όριο ως μια εκτίμηση των αποδεκτών ορίων από καταναλωτικής πλευράς, καθώς οι περισσότεροι καταναλωτές προτιμούν ένα τραγανό κοτσάνι που δεν είναι ούτε πάρα πολύ σκληρό ούτε πάρα πολύ μαλακό. Βρέθηκε ότι το μπρόκολο που αποθηκεύτηκε σε υλικό PVC στους 4 °C μαλάκωσε πολύ γρηγορότερα και η ενέργεια που απαιτείται για την κοπή είχε μειωθεί κατά 20% μόλις σε 2 εβδομάδες. Οι Tsironi et al. (2007) μελέτησαν και μοντελοποίησαν την επίδραση των μεταβολών στις συνθήκες αποθήκευσης στη διατηρησιμότητα και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά κατεψυγμένης γαρίδας. Στα πλαίσια της έρευνας αυτής, οι μηχανικές ιδιότητες μετρήθηκαν με δοκιμή συμπίεσης μέσω αναλυτή υφής χρησιμοποιώντας ένα στέλεχος με επίπεδη άκρη διαμέτρου 20 mm προκειμένου να προσωμοιώσει το ανθρώπινο δάχτυλο. Ακόμη, πραγματοποιήθηκε δοκιμή διπλής συμπίεσης προκειμένου να εξαχθεί το προφίλ υφής του προϊόντος. Βρέθηκε ότι στην αρχή της αποθήκευσης η κατεψυγμένη γαρίδα είχε συμπαγή

και ελαστική υφή. Αλλαγές στις παραμέτρους υφής συνέβησαν, αλλά δεν ήταν σημαντικές. Τα δείγματα μαλάκωσαν και είχαν λαστιχωτή υφή κατά την αποθήκευση στους  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης, η σάρκα της γαρίδας απέκτησε μια ξηρή, άκαμπτη υφή. Η σκληρότητα και η ελαστικότητα εμφάνισαν μειωμένες τιμές σε υψηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης αλλά για τις γαρίδες που αποθηκεύτηκαν στους  $-12$  και  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  παρατηρήθηκαν μικρές αλλαγές. Οι άλλες παράμετροι υφής (π.χ. συνεκτικότητα, προσκολλησιμότητα κ.α.) εμφάνισαν μικρές αλλαγές σε όλες τις θερμοκρασίες κατά την αποθήκευση. Συνεπώς, οι αλλαγές στις παραμέτρους υφής δεν μοντελοποιήθηκαν ως δείκτες επειδίνωσης της ποιότητας.

#### **4.8. Ακουστικές ιδιότητες τροφίμων**

Η ευθρυπτότητα και η τραγανότητα που σχετίζονται με την υφή, είναι σε μεγάλο βαθμό ακουστικές αισθήσεις και η αποδοχή του προϊόντος εξαρτάται από το αναμενόμενο επίπεδο ήχου (Tunick et al., 2013). Η δύναμη που απαιτείται για το δάγκωμα και τον επικείμενο ήχο που εκπέμπεται είναι υπεύθυνη για την τραγανότητα. Η ανάλυση των ακουστικών ιδιοτήτων μπορεί να συνοψιστεί, εν συντομία, ως σκέδαση και ανάκλαση ηχητικών κυμάτων παρόμοια με τα κύματα φωτός. Προϊόντα τροφίμων, όπως το μήλο, αποτελούνται από διεσταλμένα κύτταρα λόγω του υγρού που περιέχεται εντός αυτών και τα οποία έχουν ελαστικά κυτταρικά τοιχώματα. Όταν τα κύτταρα σπάνε, παράγεται ήχος με μορφή κυμάτων ηχητικής πίεσης. Προϊόντα με ξηρή υφή, όπως τα πατατάκια, περιέχουν αέρα μέσα στα κύτταρά τους τα οποία έχουν εύθραυστα τοιχώματα. Όταν εφαρμόζεται δύναμη, αυτά λυγίζουν και σπάνε. Αυτή η κίνηση δημιουργεί δονήσεις και κύματα ηχητικής πίεσης (Duijzer, 2001). Παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη κατά τη μελέτη ακουστικών δεδομένων περιλαμβάνουν το εύρος του ήχου που παράγεται, το μέγιστο επίπεδο ήχου, το μέσο ύψος των κορυφών, τον αριθμό των ήχων που παράγονται, και τη διάρκεια, ενέργεια, πίεση και ένταση του ήχου. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι ο βαθμός της έντασης του ήχου, όπως υποδηλώνεται από την παρατηρούμενη συχνότητα, είναι ο καθοριστικός παράγοντας για την αίσθηση της ευθρυπτότητας και της τραγανότητας (Tunick et al., 2013).

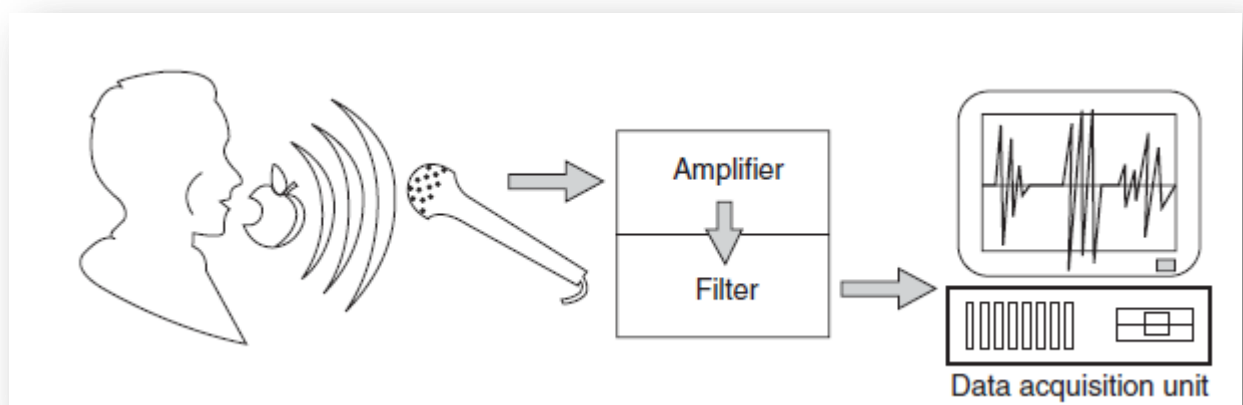
Η μέτρηση του ήχου που παράγεται κατά το χειρισμό ενός τροφίμου μπορεί να πραγματοποιηθεί με καταστρεπτικές ή και με μη καταστρεπτικές δοκιμές (παθητική και ενεργητική μέθοδος). Οι ακουστικές μέθοδοι χωρίζονται σε μεθόδους μέτρησης εκπομπής ήχου, απορρόφησης και άλλων μεθόδων προσδιορισμού της φάσης ταλάντωσης. Για την

αξιολόγηση της υφής των τροφίμων έχει χρησιμοποιηθεί περισσότερο η καταστρεπτική τεχνική, η οποία θα αναλυθεί παρακάτω, ενώ η μη καταστρεπτική έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως για τη μελέτη της σκληρότητας/ακαμψίας (που σχετίζεται με την ωριμότητα) των φρούτων και λαχανικών (Duizer 2004).

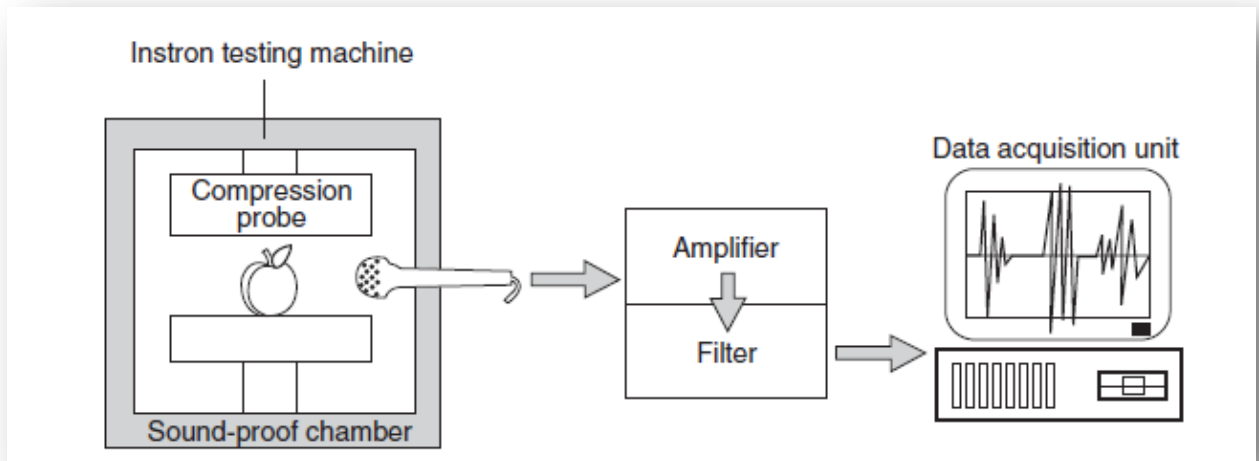
#### 4.8.1. Διαδικασία μέτρησης με καταστρεπτική τεχνική

Ο ήχος παράγεται λόγω της άσκησης δύναμης στο τρόφιμο. Τα κυτταρικά τοιχώματα του προϊόντος σπάνε και απελευθερώνεται ενέργεια. Αυτή η ενέργεια, που κινείται μέσω του αέρα (ή άλλου μέσου), ανιχνεύεται και καταγράφεται. Οι καταστρεπτικές τεχνικές διεξάγονται με δύο τρόπους: είτε μέσω της μαγνητοσκόπησης των ήχων που παράγονται με την εφαρμογή μιας δύναμης στο προϊόν από τα δόντια (κατά τη διάρκεια του δαγκώματος και του μασήματος) είτε μέσω οργάνων διάτρησης ή στελεχών που συμπιέζουν το τρόφιμο (Duizer 2004).

Για την καταγραφή της εκπομπής ήχου που παράγεται μέσω καταστρεπτικών τεχνικών, απαιτείται πειραματική ρύθμιση όπως αυτή που φαίνεται στις εικόνες 26 και 27. Πρέπει να υπάρχουν: ένα μέσο σύνθλιψης του προϊόντος (είτε μάσηση όπως φαίνεται στην εικόνα 26 είτε με μηχανική σύνθλιψη όπως φαίνεται στην εικόνα 27), ένα μικρόφωνο συνδεδεμένο με έναν ενισχυτή και μερικές φορές ένα φίλτρο. Συνδεδεμένος στον ενισχυτή και το φίλτρο είναι ένας υπολογιστής ή ένα άλλο σύστημα απόκτησης δεδομένων (όπως μια συσκευή καταγραφής σε χαρτί). Επίσης, απαιτείται λογισμικό ανάλυσης δεδομένων για την ανάλυση των συλλεχθέντων δεδομένων (Duizer 2004).



**Εικόνα 26:** Παράδειγμα εξοπλισμού που χρησιμοποιείται για καταστρεπτική μέτρηση μέσω μάσησης με δόντια (Duizer 2004).



**Εικόνα 27:** Παράδειγμα εξοπλισμού που χρησιμοποιείται για καταστρεπτική μέτρηση μέσω συμπίεσης από όργανο (Duizer 2004).

Το μικρόφωνο που επιλέγεται για χρήση πρέπει να μπορεί να ανιχνεύει συχνότητες εντός του εύρους 20-20.000 Hz. Το μικρόφωνο μετατρέπει την ακουστική ενέργεια του ηχητικού κύματος που παράγεται κατά τη σύνθλιψη των τροφίμων σε ηλεκτρική τάση. Εν συνεχεία, το σήμα τάσης ενισχύεται και φιλτράρεται. Η ενίσχυση αυξάνει το σήμα ενώ το φιλτράρισμα μειώνει τον θόρυβο και δίνει ένα πιο ομαλό σήμα για επεξεργασία. Σε ορισμένα συστήματα, προενισχυτές και ενισχυτές συνδέονται με το μικρόφωνο για το σκοπό αυτό και τα δεδομένα υποβάλλονται σε επεξεργασία πριν από την αποθήκευση. Ωστόσο, είναι επίσης δυνατή η χρήση μιας μονάδας απόκτησης δεδομένων όπου η ενίσχυση και το φιλτράρισμα μπορεί να γίνει αυτόματα (τέτοια συστήματα είναι εμπορικά διαθέσιμα) (Duizer 2004).

Μόλις ενισχυθεί το σήμα (και πιθανώς φιλτραριστεί) τα δεδομένα αποθηκεύονται (συνήθως ως αρχεία σε ηλεκτρονικό υπολογιστή) και μέσω λογισμικών αναλύονται και βρίσκεται η συχνότητα των ηχητικών κυμάτων. Αυτή η πειραματική ρύθμιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί, όπως αναφέρθηκε, για την καταγραφή δεδομένων κατά τη διάρκεια δοκιμών με άτομα που δαγκώνουν και μασούν τα δείγματα καθώς και κατά τη συμπίεση και τη διάτρηση από όργανα (Duizer 2004).



#### 4.8.2. Εφαρμογές μέτρησης ακουστικών ιδιοτήτων στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων

Οι Costa *et al.* (2011) μελέτησαν εάν ο χαρακτηρισμός των μηχανικών και ακουστικών ιδιοτήτων μήλων μπορεί να παρέχει μια μέθοδο η οποία να περιλαμβάνει όλες τις πτυχές που σχετίζονται με την υφή των μήλων, παρέχοντας και μια καλύτερη συσχέτιση με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποίησαν έναν αναλυτή υφής συζευγμένο με ακουστικό ανιχνευτή. Ο ήχος που παράχθηκε κατά τη συμπίεση του δείγματος ανιχνεύτηκε από ένα μικρόφωνο το οποίο ήταν 5 cm μακριά από το δείγμα. Οι πληροφορίες για τις μηχανικές και τις ακουστικές ιδιότητες λήφθηκαν ταυτόχρονα από το όργανο και αναλύθηκαν από το ίδιο λογισμικό. Βάσει των αποτελεσμάτων της μελέτης, οι ερευνητές συμπέραναν ότι υπήρχε καλή συσχέτιση μεταξύ του συνδυασμού μηχανικών-ακουστικών αποτελεσμάτων και τα αποτελέσματα από οργανοληπτική αξιολόγηση πάνελ (μη εκπαιδευμένο) για τη μέτρηση της τραγανότητας στο μήλο. Οι Arimi *et al.* (2012) μελέτησαν την τραγανότητα ενός προϊόντος απομίμησης τυριού, το οποίο διαστέλλεται μέσω μικροκυμάτων. Ο ήχος μετρήθηκε κατά τη διάτρηση του δείγματος, μέσω ενός μικροφώνου που συνδεόταν σε ένα προενισχυτή. Οι ηχητικοί παράμετροι που λήφθηκαν ήταν η μέγιστη ηχητική πίεση και ο αριθμός των κορυφών ήχου. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η ακουστική μέθοδος εφαρμόστηκε με επιτυχία για την αξιολόγηση της υφής του προϊόντος. Η τραγανότητα αυξήθηκε όταν παρατάθηκε ο χρόνος θέρμανσης με μικροκύματα λόγω της εξάτμισης νερού. Τα αποτελέσματα από την μελέτη των ακουστικών ιδιοτήτων συσχετίστηκαν πολύ καλά με τα οργανοληπτικά αποτελέσματα από πάνελ ( $R^2$  0,942), κάτι που υποδεικνύει ότι η ακουστική μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τέτοιες μελέτες. Οι Mohammed *et al.* (1982) πραγματοποίησαν μετρήσεις σε προϊόντα όπως μπισκότα σαβουαγιάρ, βάφλες και Maltesers προκειμένου να μετρήσουν την τραγανότητά τους. Ο ήχος καταγράφηκε κατά τη μηχανική παραμόρφωση του δείγματος με τη βοήθεια μικροφώνου που είχε τοποθετηθεί 6 εκ. μακριά από αυτό. Οι ακουστικές ιδιότητες συσχετίστηκαν μέτρια με τα οργανοληπτικά αποτελέσματα από πάνελ όμως, αυτό που προκαλεί ενδιαφέρον, είναι ότι όταν τα αποτελέσματα από τη μηχανική παραμόρφωση συνδυάστηκαν με τα ακουστικά αποτελέσματα προκειμένου να προβλεφθεί η τραγανότητα μέσω ανάλυσης παλινδρόμησης, η συσχέτιση που προέκυψε ήταν 0,922 για τα προϊόντα αυτά.

## 4.9. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Ο αριθμός των μικροοργανισμών που υπάρχουν στα τρόφιμα είναι ένας άλλος δείκτης για την εύρεση της διάρκειας ζωής. Παρασοδιακά, οι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα μελετώνται μέσω καλλιέργειας. Όμως, αυτή η μέθοδος δεν επιτρέπει την ανίχνευση μη καλλιεργήσιμων κυττάρων αλλά ούτε και το χαρακτηρισμό μη επικρατούντων πληθυσμών, για τους οποίους απαιτείται εκλεκτικός εμπλουτισμός. Συνεπώς, το ενδιαφέρον έχει στραφεί σε μεθόδους που δεν στηρίζονται στην καλλιέργεια, όπως η τεχνική της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR). Σε σύγκριση με την παραδοσιακή μέθοδο, η PCR είναι γενικά πιο γρήγορη, πιο ακριβής και πιο ευαίσθητη και χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό και την ποσοτικοποίηση τόσο παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα όσο και ωφέλιμων πληθυσμών όπως προβιοτικά (Kong & Singh, 2016).

### 4.9.1. Αρχή λειτουργίας PCR

Η PCR είναι μια ενζυμική μέθοδος ενίσχυσης συγκεκριμένων τμημάτων γενετικού υλικού *in vitro*. Το DNA εξάγεται (εκχυλίζεται) από το δείγμα και καθαρίζεται πριν την PCR. Η αρχή της PCR είναι μια διαδικασία τριών σταδίων: της μετουσίωσης, της υβριδοποίησης (*annealing*) εκκινητών και της επιμήκυνσης. Στο πρώτο στάδιο, το δίκλωνο DNA μετουσιώνεται μέσω θέρμανσης (συνήθως 93 – 96 °C) προκειμένου να σπάσουν οι δεσμοί υδρογόνου. Έτσι, το δίκλωνο DNA αποδιατάσσεται σε δύο μονόκλωνα τμήματα. Ο τύπος του διαλύτη, η συγκέντρωση άλατος και το pH μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία μετουσίωσης. Το στάδιο αυτό διαρκεί για περίπου 30 δευτερόλεπτα έως 1 λεπτό. Το δεύτερο στάδιο, η υβριδοποίηση εκκινητών, πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες περίπου 55 – 65 °C. Τα ολιγονουκλεοτίδια που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές συνήθως αποτελούνται από σχετικά μικρές αλληλουχίες (15 - 25 νουκλεοτίδια) οι οποίες είναι συμπληρωματικές με τις αλληλουχίες του DNA στο σημείο αναγνώρισης. Όταν η θερμοκρασία μειώνεται, οι δύο συμπληρωματικές μονόκλωνες αλυσίδες DNA τείνουν να επαναυβριδοποιηθούν σε ένα δίκλωνο μόριο DNA. Σε αυτή τη φάση, ιοντικοί δεσμοί συνεχώς δημιουργούνται και σπάνε μεταξύ του μονόκλωνου εκκινητή και του μονόκλωνου μορίου DNA που λειτουργεί ως εκμαγείο. Εάν οι εκκινητές υβριδοποιηθούν επαρκώς στο εκμαγείο, οι ιοντικοί δεσμοί είναι αρκετά ισχυροί προκειμένου να σταθεροποιήσουν τη δίκλωνη, πλέον, αυτή δομή και να επιτρέψουν στην πολυμεράση να προσδεθεί και να ξεκινήσει να αντιγράφει το εκμαγείο. Το στάδιο αυτό διαρκεί για περίπου 30 δευτερόλεπτα

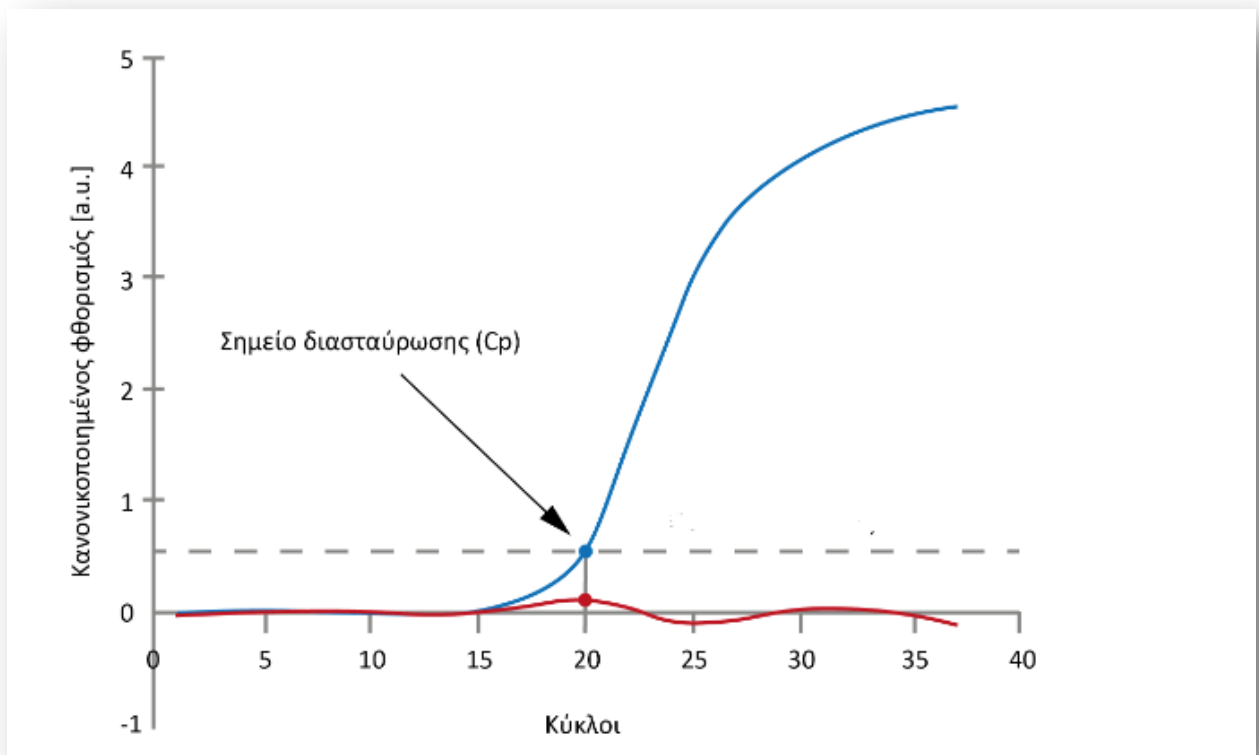
έως 1 λεπτό. Το τρίτο στάδιο, αυτό της επιμήκυνσης, διεξάγεται κατά μήκος της αλληλουχίας-στόχου χρησιμοποιώντας ένα θερμοανθεκτικό ένζυμο, τη DNA πολυμεράση, με παρουσία τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dNTPs) και  $MgCl_2$ , οδηγώντας σε αντιγραφή του αρχικού μορίου-στόχου (Rodríguez-Lázaro & Hernández, 2013). Το ένζυμο αυτό, προσθέτει τα dNTPs στο μονόκλωνο DNA με φορά  $5' \rightarrow 3'$ . Η ταχύτητα σύνθεσης της νέας αλυσίδας είναι της τάξης των 1000 ζευγών βάσης ανά λεπτό. Η πολυμεράση που χρησιμοποιείται ευρέως στο στάδιο αυτό είναι η TAQ πολυμεράση, η οποία έχει βέλτιστη δράση στους  $72^\circ C$  (Παπανικολάου, Παλαιολόγου & Κατσαρέλη, 2015). Μετά το τέλος των τριών σταδίων, θεωρούμε ότι έχει πραγματοποιηθεί ένα κύκλος. Μετά από κάθε κύκλο, το νεοσυντιθέμενο δίκλωνο DNA μπορεί να λειτουργήσει ως εκμαγείο για τον επόμενο κύκλο. Έτσι, εάν θεωρήσουμε ότι υπάρχει 100% απόδοση σε κάθε κύκλο, μετά από 40 κύκλους PCR το DNA θα έχει ενισχυθεί κατά  $2^{40}$ , δηλαδή θα έχουν δημιουργηθεί 1.000 δις αντίγραφα (Rodríguez-Lázaro & Hernández, 2013).



**Εικόνα 28:** Όργανο PCR. (Πηγή: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4484077>).

#### 4.9.2. Ποσοτική PCR

Η ανάπτυξη της ποσοτικής PCR (qPCR) ή αλλιώς PCR σε πραγματικό χρόνο (real-time PCR), αντιπροσωπεύει μια σημαντική πρόοδο για πολλές μοριακές τεχνικές που περιλαμβάνουν ανάλυση νουκλεϊκών οξέων. Η qPCR επιτρέπει την παρακολούθηση της σύνθεσης νέων προϊόντων πολλαπλασιασμού κατά τη διάρκεια της PCR (δηλαδή σε πραγματικό χρόνο). Συνεπώς, τα δεδομένα συλλέγονται καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας PCR, δηλαδή παρακολουθείται η διαδικασία ενίσχυσης σε πραγματικό χρόνο με χρήση φθορισμού και όχι μόνο στο τέλος της αντίδρασης (όπως συμβαίνει στη συμβατική PCR) καθώς διάφορες φθορίζουσες χρωστικές ενσωματώνονται στα προϊόντα πολλαπλασιασμού. Είναι δυνατή η ταυτόχρονη μέτρηση πολλών διαφορετικών χρωστικών σε μια αντίδραση PCR. Τα αποτελέσματα της qPCR αποτελούνται από καμπύλες ενίσχυσης (amplification curves), που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αρχικών ποσοτήτων μορίων DNA με υψηλή ακρίβεια σε ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων (Rodríguez-Lázaro & Hernández, 2013).



**Εικόνα 29:** Καμπύλη ενίσχυσης της qPCR. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιπροσωπεύει το κατώφλι όπου ο φθορισμός των προϊόντων πολλαπλασιασμού είναι μεγαλύτερος από τη γραμμή βάσης (*baseline*). Ο κύκλος που γίνεται αυτό, ονομάζεται και σημείο διασταύρωσης, *C<sub>p</sub>* (*crossing point*) και είναι αναγκαίο να βρεθεί για να γίνει ποσοτικοποίηση (Παπανικολάου, Παλαιολόγου & Κατσαρέλη, 2015).

Η ποσοτικοποίηση γίνεται βάσει της αρχής ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των μορίων DNA που επιθυμούμε να ανιχνεύσουμε στο αρχικό δείγμα, τόσο λιγότεροι κύκλοι χρειάζονται για να παραχθεί ικανός αριθμός προϊόντων πολλαπλασιασμού προκειμένου ο φθορισμός του δείγματος να ξεπεράσει τη γραμμή βάσης (Παπανικολάου, Παλαιολόγου & Κατσαρέλη, 2015).

#### **4.9.3. Εφαρμογές PCR στη μελέτη διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων**

Για να μπορεί μια νέα εναλλακτική μέθοδος που βασίζεται σε PCR να χρησιμοποιηθεί ως αναλυτικό εργαλείο, η διαγνωστική ακρίβειά της πρέπει να μελετηθεί εκτενώς και να αποδειχθεί. Παρακάτω, παρουσιάζονται μελέτες επικύρωσης μεθόδων PCR για την ανίχνευση τριών βασικών παθογόνων μικροοργανισμών των τροφίμων. Οι Delibato et al. (2014) παρουσίασαν μια μελέτη επικύρωσης μεθόδου βασισμένη σε ποσοτική PCR για την ανίχνευση *Salmonella* spp. σε χοιρινό κρέας, στην οποία συμμετείχαν 13 ευρωπαϊκά εργαστήρια. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε μια προσπάθεια επικύρωσης μιας εναλλακτικής μεθόδου στην οποία γίνεται προ-εμπλουτισμός των δειγμάτων πριν εξαχθεί το DNA και αναλυθεί με ποσοτική PCR. Η PCR βασίζεται στην ενίσχυση συγκεκριμένης περιοχής του γονιδίου *ttr* του είδους *Salmonella*. Το όριο ανίχνευσης ήταν 10 CFU ανά 25 g δείγματος και υπήρχε αντιστοιχία της τιμής αυτής μεταξύ όλων των δειγμάτων και των εργαστηρίων (100%). Επί προσθέτως, εξαιρετικές τιμές παρουσιάστηκαν και για τη σχετική ακρίβεια, εκλεκτικότητα και ευαισθησία (100%) όταν τα αποτελέσματα της μελέτης συγκρίθηκαν με αποτελέσματα από τη μέθοδο ISO 6579:2002. Συνολικά, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η μέθοδος αυτή μπορεί να αποτελέσει μια εξαιρετική εναλλακτική της μεθόδου ISO καθώς δείχνει μια εξαιρετικά καλή και αξιόπιστη απόδοση ενώ μειώνει τόσο το κόστος όσο και τον χρόνο της αναλυτικής διαδικασίας. Παρ' όλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι η μελέτη έγινε μόνο σε μια κατηγορία τροφίμου λόγω κόστους και θα πρέπει για την επιβεβαίωση των ενθαρρυντικών αποτελεσμάτων να διενεργηθούν μελέτες και σε άλλα είδη τροφίμων. Οι Gianfranceschi et al. (2014) παρουσίασαν μια μελέτη επικύρωσης

μεθόδου βασισμένη σε ποσοτική PCR για την ανίχνευση του παθογόνου μικροοργανισμού *Listeria monocytogenes* στην οποία συμμετείχαν δώδεκα εργαστήρια από έξι ευρωπαϊκές χώρες. Η μέθοδος αυτή μπορεί να δώσει αποτελέσματα εντός μιας ημέρας εν αντιθέσει με την κλασική μέθοδο η οποία θέλει έως και 7 ημέρες για την τελική επιβεβαίωση του αποτελέσματος. Για την πραγματοποίηση της μελέτης, ως τρόφιμο επιλέχθηκε μαλακό τυρί καθώς πρόκειται για μια δύσκολη μήτρα για εξαγωγή του DNA λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος και πρωτεΐνες. Το όριο ανίχνευσης που παρατηρήθηκε ήταν 10 CFU ανά 25g δείγματος και υπήρχε αντιστοιχία της τιμής αυτής μεταξύ των δειγμάτων και των εργαστηρίων (75%). Επιπλέον, παρατηρήθηκαν πολύ καλές τιμές για τη σχετική ακρίβεια, εκλεκτικότητα και ευαισθησία (82,75%, 96,70% και 97,62%, αντίστοιχα) όταν τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά από τη μέθοδο ISO 11290-1. Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση είναι ότι η ανίχνευση του παθογόνου *L. monocytogenes* με τη μέθοδο αυτή επηρεάστηκε λιγότερο από την παρουσία του *Listeria innocua*, η παρουσία του οποίου σε προηγούμενες μελέτες είχε οδηγήσει σε υψηλά ποσοστά ψευδών αρνητικών αποτελεσμάτων, καθιστώντας έτσι αυτή τη μέθοδο πιο αξιόπιστη από τη μέθοδο αναφοράς. Όμως, πρέπει να αναφερθεί, ότι και σε αυτή τη μέθοδο λήφθηκαν κάποια ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα, ενδεχομένως λόγω της πολυπλοκότητας της διαδικασίας εξαγωγής DNA, ειδικά από μη έμπειρα στον τομέα εργαστήρια. Μάλιστα, ένα από τα εργαστήρια αποκλείστηκε από τη μελέτη καθώς έδωσε αρνητικό αποτέλεσμα τόσο με τη μέθοδο PCR όσο και με τη μέθοδο ISO. Παρ' όλα αυτά, τα αποτελέσματα της μελέτης είναι ενθαρρυντικά για τη χρησιμοποίηση της μεθόδου ως εναλλακτική της μεθόδου ISO καθώς έχει υψηλή απόδοση και μειώνει πολύ τόσο το κόστος όσο και το χρόνο που απαιτείται για την ανάλυση, όμως, απαιτούνται περισσότερες μελέτες επικύρωσης και σε άλλες κατηγορίες τροφίμων για να επαληθευτούν τα αποτελέσματα. Οι Abdulmawjood et al. (2004), στο πλαίσιο της μελέτης FOOD-PCR από την Ευρωπαϊκή Ένωση, ανέπτυξαν, επικύρωσαν και τυποποίησαν μια μέθοδο ανίχνευσης του *E. Coli* O157 με μέθοδο PCR. Για την ανίχνευση του ορότυπου αυτού, επιλέχθηκε το γονίδιο *rfbE* και λόγω του ότι αυτό το γονίδιο υπάρχει και στα είδη *Vibrio*, δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στην εκλεκτικότητα των εκκινητών. Για τον έλεγχο της εκλεκτικότητας, η μέθοδος εφαρμόστηκε και σε άλλους ορότυπους *E. Coli* και σε στελέχη *Salmonella*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella* spp., *Serratia marcescens* και *Vibrio* spp. και η εκλεκτικότητα φάνηκε να είναι εξαιρετική (100%). Ο αριθμός των κυττάρων ανά αντίδραση που μπορούν να

ανιχνευθούν με 100% πιθανότητα είναι  $2 \times 10^3$ . Η μολυσματική δόση όμως του *E. Coli* O157 μπορεί να είναι τόσο χαμηλή όσο 10 κύτταρα συνεπώς, η μέθοδος αυτή δεν πρέπει να χρησιμοποιείται χωρίς κατάλληλο βήμα προεμπλουτισμού. Ακόμα, η μέθοδος αυτή ανιχνεύει όλα τα στελέχη του *E. Coli* O157, είτε είναι παθογόνα είτε όχι και είναι πιο κατάλληλη ως μέθοδος ελέγχου παρουσίας *E. Coli* O157 σε πολλά είδη δειγμάτων, ενώ για την έρευση γονότυπου που προκαλεί παθογένεση πρέπει να γίνονται παραπάνω έλεγχοι όπως PCR για ανίχνευση των γονιδίων *vtx* ή *eae*. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι η διαγνωστική ακρίβεια αξιολογήθηκε ενδοεργαστηριακά και ότι για την τυποποίηση της μεθόδου θα πρέπει η απόδοση να αξιολογηθεί από πολλά εργαστήρια.

#### **4.10. Θερμοκρασιακοί δείκτες**

Υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για αισθητήρες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση της ποιότητας των αποθηκευμένων τροφίμων. Πολλές προσπάθειες έχουν επικεντρωθεί στην ανάπτυξη και βελτίωση αισθητήρων-δεικτών χρόνου-θερμοκρασίας. Όπως υποδηλώνει το όνομα, αυτοί οι αισθητήρες παρέχουν πληροφορίες σχετικά με το ιστορικό θερμοκρασίας. Καθώς η θερμοκρασία είναι ένας από τους σημαντικότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά ποιότητας στα τρόφιμα, είναι πολύ σημαντικό να γνωρίζουμε τη θερμοκρασία στην οποία εκτίθεται μια παρτίδα τροφίμων κατά την αποθήκευση και διανομή. Για να είναι οι δείκτες πιο χρήσιμοι για το σκοπό αυτό, πρέπει να είναι μη αναστρέψσιμοι. Κατά προτίμηση, θα πρέπει να παρέχουν μια ολοκληρωμένη απόκριση τόσο του χρόνου όσο και της θερμοκρασίας. Τις τελευταίες δεκαετίες, έχουν εκδοθεί πολλά διπλώματα ευρεσιτεχνίας που αφορούν συσκευές που παρέχουν μια ένδειξη του ιστορικού θερμοκρασίας χρησιμοποιώντας μια ποικιλία διαφορετικών αρχών, όπως μηχανικές, ενζυμικές ή χημικές αλλαγές, ανάπτυξη χρώματος ή μεταβολή του χρώματος σε μια κλίμακα. Οι δείκτες χρόνου-θερμοκρασίας μπορούν να ταξινομηθούν είτε ως δείκτες κρίσιμης θερμοκρασίας, δείκτες μερικού ιστορικού ή δείκτες πλήρους ιστορικού (Man & Jones, 1994). Πρέπει να σημειωθεί ότι οι δείκτες αυτοί δεν χρησιμοποιούνται από εργαστήρια ή βιομηχανίες τροφίμων για την μελέτη της διατηρησιμότητας των τροφίμων. Όμως, δεδομένου ότι οι μελέτες διατηρησιμότητας πραγματοποιούνται κάτω από δεδομένες συνθήκες θερμοκρασίας, οι δείκτες αυτοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν προκειμένου οι βιομηχανίες τροφίμων να διασφαλίσουν ότι οι καταναλωτές δε θα καταναλώσουν ακατάλληλο ή μη ποιοτικό προϊόν, καθώς τις

περισσότερες φορές οι διακυμάνσεις στη θερμοκρασία κατά την αποθήκευση και διανομή δεν είναι υπαιτιότητά τους.

#### 4.10.1. Δείκτες κρίσιμης θερμοκρασίας

Οι δείκτες κρίσιμης θερμοκρασίας ενεργοποιούνται κι αποκρίνονται μόνο όταν η θερμοκρασία είτε πηγαίνει πάνω ή κάτω από μια συγκεκριμένη προεπιλεγμένη τιμή. Αυτοί οι δείκτες όμως, δεν μας παρέχουν θερμοκρασιακό ιστορικό (για παράδειγμα, πόση ώρα η θερμοκρασία ήταν διαφορετική από την προεπιλεγμένη τιμή). Αυτοί οι τύποι δεικτών είναι χρήσιμοι για να δείξουν εάν το τρόφιμο εκτέθηκε σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία, για παράδειγμα, εάν ένα ευαίσθητο στην κατάψυξη προϊόν εκτέθηκε σε θερμοκρασία κατάψυξης. Αυτός ο τύπος πληροφοριών είναι χρήσιμος εάν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος είναι ευαίσθητα σε ορισμένες κρίσιμες θερμοκρασίες (Man & Jones, 1994). Ένα παράδειγμα, είναι ο δείκτης Freeze Watch της 3M που δείχνει αλλαγή όταν εκτεθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 0°C ή -4°C. Αποτελείται από αμπούλα γεμάτη με υγρή χρωστική τοποθετημένη σε λευκό απορροφητικό χαρτί. Όταν ο δείκτης εκτεθεί σε θερμοκρασίες κατάψυξης, παγώνει, διαστέλλεται και σπάει την αμπούλα, οπότε βάφεται με τη χρωστική το λευκό χαρτί (εικόνα 30).



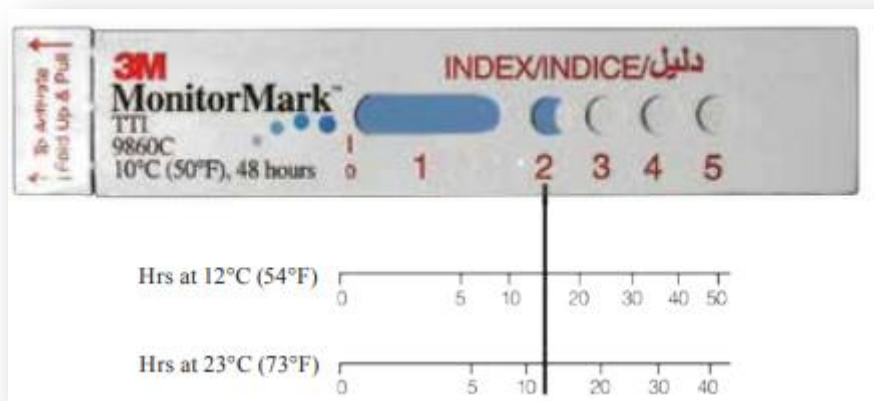
**Εικόνα 30:** Δείκτης κρίσιμης θερμοκρασίας Freeze Watch της 3M. (Πηγή: <http://lgpharma.com/cold-indicators/freezewatch/>)

#### 4.10.2 Δείκτες μερικού ιστορικού

Οι δείκτες μερικού ιστορικού αποκρίνονται μόνο όταν η θερμοκρασία υπερβαίνει (ή είναι χαμηλότερη) μια συγκεκριμένη προκαθορισμένη τιμή. Ένα παράδειγμα είναι το MonitorMark™ Extended Response Indicator της 3M. Αυτός ο τύπος δείκτη βασίζεται στη



διάχυση ενός λιπαρού εστέρα σ' ένα πορώδες φιλί. Μια μπλε χρωστική έχει προστεθεί στον εστέρα ώστε να είναι δυνατή η οπτική παρατήρηση της μετατόπισης του εστέρα στο φιλί, η οποία εξαρτάται από το χρόνο και τη θερμοκρασία έκθεσης. Υπάρχουν ανοίγματα στο κάλυμμα του φιλιού για να μετράται η διανυθείσα απόσταση. Για κάθε τύπο του MonitorMark™ διατίθεται και μια κάρτα απόκρισης η οποία έχει τυπωμένες δυο κλίμακες χρόνου σε δυο θερμοκρασίες. Από τη θέση του μετώπου του μπλε χρώματος στο φιλί μπορεί να εκτιμηθεί ο ισοδύναμος χρόνος έκθεσης του δείκτη στις δυο συγκεκριμένες θερμοκρασίες (εικόνα 31).



**Εικόνα 31:** Δείκτης MonitorMark™ της 3M (πάνω) και η κάρτα απόκρισής του (κάτω). (Πηγή: <https://multimedia.3m.com/mws/media/8726400/brochure-food-safety.pdf>)

Στις θερμοκρασίες χρήσης του δείκτη, ο εστέρας μπορεί να υφίσταται είτε ως στερεό είτε ως υγρό. Η διάχυση εξελίσσεται μόνο όταν η θερμοκρασία ξεπερνάει το σημείο τήξεως του εστέρα και ο εστέρας είναι υγρό. Η κρίσιμη θερμοκρασία απόκρισης του δείκτη, μπορεί να επιλεγεί μεταβάλλοντας το είδος και τη συγκέντρωση του εστέρα οπότε μεταβάλλεται και το σημείο τήξεως. Άρα, ο δείκτης 3M MonitorMark™ μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης μερικού ιστορικού εάν η κρίσιμη θερμοκρασία για την ποιότητα και την ασφάλεια του τροφίμου ταυτίζεται με το σημείο τήξεως του εστέρα.

#### 4.10.3. Δείκτες πλήρους ιστορικού

Οι δείκτες πλήρους ιστορικού παρέχουν μια συνεχή απόκριση βάσει των αλλαγών στη θερμοκρασία. Η απόκριση αυτών των δεικτών έχει ταχύ ρυθμό σε υψηλότερες

θερμοκρασίες και αργό σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Παράδειγμα αποτελεί ο δείκτης Fresh-Check της TEMPTIME. Η αρχή λειτουργίας του είναι ο πολυμερισμός σε στερεά φάση ενός άχρωμου διακετυλενικού μονομερούς που όταν πολυμεριστεί μετατρέπεται, λόγω των συζυγών διπλών δεσμών, σ' ένα πολύ σκούρο πολυμερές. Ο δείκτης αποτελείται από μια αυτοκόλλητη ετικέτα με έναν επίπεδο δίσκο από το πολυμερές, ο οποίος είναι το ενεργό κέντρο του δείκτη. Γύρω από το δίσκο, υπάρχει ένας οβάλ δακτύλιος με το χρώμα αναφοράς. Το πολυμερές προοδευτικά γίνεται πιο σκούρο ανάλογα με τη θερμοκρασία και το χρόνο έκθεσης. Συστήνεται το προϊόν να καταναλώνεται μόνο εάν το ενεργό κέντρο του δείκτη είναι πιο ανοιχτό χρώμα από τον δακτύλιο (εικόνα 32).



**Εικόνα 32:** Δείκτης Fresh-Check της TEMPTIME. (Πηγή: <http://fresh-check.com/>).

Η χρησιμότητα αυτών των δεικτών στην παρακολούθηση της ποιότητας εξαρτάται από το πόσο καλά μπορούν να μιμούνται τις αλλαγές στην ποιότητα. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί δείχνουν ότι αυτοί οι δείκτες είναι κατάλληλοι για την παρακολούθηση αλλαγών λόγω θερμοκρασίας σε επιλεγμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε με 12 διαφορετικά τρόφιμα (Wells & Singh, 1988), επιλεγμένα χαρακτηριστικά ποιότητας παρακολουθήθηκαν τόσο με τους δείκτες όσο και αναλυτικά. Διαπιστώθηκε ότι ένα μέρος αυτών των αλλαγών οφείλεται σε θερμοκρασιακή έκθεση και ότι η απόκριση δεικτών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για παρακολούθηση των αλλαγών σε επιλεγμένα χαρακτηριστικά ποιότητας.

## Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα

Παρ' όλο που οι οργανοληπτικές μετρήσεις είναι ο βασικός κορμός για την εκτίμηση της διάρκειας ζωής των τροφίμων, οι πρακτικές δυσκολίες που υπάρχουν κατά την εφαρμογή τους ωθούν τις προσπάθειες για έρευνα απλούστερων, λιγότερο χρονοβόρων και λιγότερο δαπανητών εναλλακτικών. Οι αναλυτικές μέθοδοι τις περισσότερες φορές έχουν μεγαλύτερη ακρίβεια και αναπαραγωγιμότητα όμως, όταν αυτές χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση οργανοληπτικών ποιοτικών χαρακτηριστικών, μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστες μόνο εάν οι μετρούμενες παράμετροι συσχετίζονται καλά με τα αντίστοιχα αποτελέσματα από οργανοληπτική αξιολόγηση. Γι' αυτό το λόγο, το μεγαλύτερο εμπόδιο το οποίο πρέπει να προσπελαστεί προκειμένου οι αναλυτικές μέθοδοι να χρησιμοποιούνται ευρέως στις μελέτες διάρκειας ζωής τροφίμων χωρίς να απαιτείται και οργανοληπτική αξιολόγηση, είναι να γίνουν αρκετές μελέτες προκειμένου τα δεδομένα τα οποία καθιστούν τις μεθόδους αυτές αξιόπιστες να είναι επαρκή για μεγάλη ποικιλία τροφίμων.

Η μέτρηση χρώματος μέσω χρωματομέτρου καθώς και η μέτρηση της υφής μέσω αναλυτή υφής είναι περισσότερο καθιερωμένες ως προς τη χρήση τους σε μελέτες διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων και χρησιμοποιούνται ευρέως έναντι οργανοληπτικής αξιολόγησης. Πολλές φορές μάλιστα, όταν μελετάται η αποτελεσματικότητα άλλων μεθόδων στη μελέτη τη διατηρησιμότητας, τα αποτελέσματα συγκρίνονται με αυτά που προκύπτουν από αυτές τις μεθόδους. Για παράδειγμα, οι Arias et al. (2008) που προσδιόρισαν τη διατηρησιμότητα φρεσκοκομμένων φετών αχλαδιού μέσω ανάλυσης εικόνας, συνέκριναν τα αποτελέσματα όχι μόνο με αποτελέσματα που προέκυψαν από πάνελ αλλά και με μετρήσεις με χρωματομέτρο.

Η χρωματογραφία είναι μια, επίσης, ευρέως καθιερωμένη τεχνική για ποσοτικές και ποιοτικές αναλύσεις. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πολλούς σκοπούς όπως η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση θρεπτικών συστατικών, για μελέτες μετανάστευσης από υλικά συσκευασίας κ.α. Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση των πτητικών ενώσεων, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το άρωμα και η παρακολούθηση των προϊόντων οξείδωσης των λιπών μέσω της αέριας χρωματογραφίας είναι εξαιρετικά χρήσιμη, καθώς σε σχέση με πιο κλασικές τεχνικές όπως η τιμή υπεροξειδίων και η μέθοδος θεοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) είναι λιγότερο χρονοβόρα. Όμως, το μειονέκτημα είναι ότι απαιτείται πρόσβαση σε αέριο χρωματογράφο για αυτό το λόγω χρησιμοποιείται κυρίως από εργαστήρια για ερευνητικούς σκοπούς.

Για τη μελέτη πτητικών ενώσεων με σκοπό την πρόβλεψη διάρκειας ζωής τροφίμων έχει χρησιμοποιηθεί και η ηλεκτρονική μύτη. Η τεχνική αυτή ακόμα αναπτύσσεται και τα αποτελέσματα είναι πολλά υποσχόμενα, ειδικά λαμβάνοντας υπόψη ότι οι ηλεκτρονικές μύτες είναι εύκολο να κατασκευαστούν χωρίς μεγάλο κόστος, ο χρόνος της ανάλυσης είναι μικρός και είναι μη καταστρεπτικές. Παρ' όλα αυτά, πρέπει να πραγματοποιηθεί περαιτέρω έρευνα ειδικά στους τομείς που αφορούν τους αισθητήρες, την επεξεργασία δεδομένων, την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και κυρίως, τις μελέτες επικύρωσης προκειμένου αυτή η μέθοδος να μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτόνομα για την εκτίμηση της διατηρησιμότητας και σταθερότητας τροφίμων.

Παρόμοια συμπεράσματα με αυτά για την ηλεκτρονική μύτη εξάγονται και για την ηλεκτρονική γλώσσα. Από τις μελέτες που έχουν γίνει φαίνεται να μπορεί αποτελεσματικά να προβλέψει τους βιοχημικούς και μικροβιακούς δείκτες επιδείνωσης κάποιων τροφίμων, όμως, προς το παρόν, χρησιμοποιείται συμπληρωματικά με τις κλασικές μεθόδους.

Όσον αφορά τη φασματοσκοπία υπέρυθρης ακτινοβολίας, η χρησιμότητά της ως αναλυτικό εργαλείο είναι ανδιαμφισβήτητη. Παρόλα αυτά, η χρήση της για την παρακολούθηση των αλλαγών που συμβαίνουν στα τρόφιμα κατά την αποθήκευση με σκοπό την έρευνα της διάρκειας ζωής τους, ως μια γρήγορη και μη καταστρεπτική μέθοδος, έχει γίνει σε περιορισμένο αριθμό προϊόντων. Δεδομένου, όμως, ότι τα αποτελέσματα από τις μελέτες αυτές είναι εξαιρετικά καλά με υψηλές συσχετίσεις με χημικές μετρήσεις και οργανοληπτικές αξιολογήσεις, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι εάν γίνουν περισσότερες μελέτες, μπορούν να βρεθούν μοντέλα πρόβλεψης της διατηρησιμότητας για μια μεγάλη ποικιλία τροφίμων.

Μια όχι τόσο εύχρηστη μέθοδος, είναι η μελέτη των ακουστικών ιδιοτήτων των τροφίμων με σκοπό τον προσδιορισμό της υφής. Η πλειοψηφία αυτών των μελετών, χρησιμοποιεί αναλυτή υφής για τη διάτρηση των δειγμάτων και την καταγραφή του ήχου. Πέραν τούτου, στις περισσότερες μελέτες καλές συσχετίσεις σε σχέση με αποτελέσματα από πάνελ έχουν ληφθεί όταν οι μηχανικές μετρήσεις συνδυάζονται με τις ακουστικές. Δεδομένου, λοιπόν, ότι οι ακουστικές μετρήσεις δεν μπορούν τις περισσότερες φορές να χρησιμοποιηθούν αυτόνομα ως τεχνικές και εξοπλισμός που χρειάζεται περιλαμβάνει συνήθως και αναλυτή υφής, καταλήγω στο συμπέρασμα ότι η τεχνική αυτή δεν εξυπηρετεί για τη μελέτη διατηρησιμότητας τροφίμων καθώς ανάλογα αποτελέσματα μπορούν να ληφθούν μόνο με μέτρηση από αναλυτή υφής.

Αντίθετα, πολλά υποσχόμενη μέθοδος είναι αυτή που περιλαμβάνει ανάλυση εικόνων. Η μέθοδος αυτή δίνει τη δυνατότητα παρακολούθησης πολλών χαρακτηριστικών των τροφίμων τόσο εξωτερικών (π.χ. χρώμα, υφή, παρουσία ελαττωμάτων κ.α.) όσο και κάποιων εσωτερικών (π.χ. μικροβιακό πληθυσμό). Μέσω της τεχνικής αυτής, δίνεται η δυνατότητα μελέτης των τροφίμων με γρήγορο, μη καταστρεπτικό, αντικειμενικό τρόπο χωρίς μεγάλο κόστος. Έως τώρα, έχουν ερευνηθεί σχετικά λίγα προϊόντα, όμως τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα στρέφουν όλο και περισσότερο τις έρευνες σε αυτόν τον τομέα και φαίνεται, ότι αν οι έρευνες επεκταθούν, θα μπορούν να λαμβάνονται αποτελέσματα για την πλειονότητα των τροφίμων χωρίς να είναι η απαραίτητη η οργανοληπτική αξιολόγηση ή οι εκτεταμένες χημικές μετρήσεις.

Επίσης, οι μελέτες στις οποίες χρησιμοποιείται PCR έναντι κλασικών μεθόδων καταμέτρησης μικροοργανισμών δείχνουν ότι μπορούν να εξαχθούν αποτελέσματα πιο ακριβή με μεγαλύτερη ευαισθησία και εκλεκτικότητα, γρηγορότερα. Όμως, για να μπορούν αυτές οι εναλλακτικές μέθοδοι να χρησιμοποιηθούν σαν αναλυτικό εργαλείο πρέπει να επικυρωθούν. Δυστυχώς, έχουν γίνει λίγες μελέτες επικύρωσης, οι οποίες είναι κυρίως πανευρωπαϊκές, λόγω του μεγάλου κόστους. Απαιτείται, λοιπόν, να διεξαχθούν περισσότερες, στις οποίες θα συμπεριληφθούν τόσο περισσότεροι μικροοργανισμοί όσο και περισσότερες κατηγορίες δειγμάτων.

Τέλος, όσον αφορά τους θερμοκρασιακούς δείκτες, παρ' όλο που δεν χρησιμοποιούνται για την έρευνα της διατηρησιμότητας τροφίμων, κατ' εμέ είναι πολύ χρήσιμοι για τη βεβαίωση ότι η διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα είναι και η σωστή. Οι μελέτες διατηρησιμότητας γίνονται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, για παράδειγμα θεωρώντας ότι το τρόφιμο θα διατηρείται σε θερμοκρασία κάτω από 4°C καθ' όλη τη διάρκεια ζωής. Όμως, πολλές φορές αυτό δεν ισχύει. Η έκθεση σε μη κατάλληλες θερμοκρασίες μπορεί να μειώσει την ποιότητα των τροφίμων και πολλές φορές να τα καταστήσει ακατάλληλα (είτε για λόγους ποιότητας είτε για λόγους ασφάλειας). Συνεπώς, οι θερμοκρασιακοί δείκτες μπορούν να λειτουργήσουν ως ένα πρόσθετο προληπτικό μέτρο ώστε οι βιομηχανίες να διασφαλίσουν ότι ο καταναλωτής θα καταναλώσει ένα ποιοτικό και ασφαλές προϊόν.

Από την παρούσα μελέτη, λοιπόν, καταλήγουμε ότι το ζήτημα της μελέτης της διατηρησιμότητας των τροφίμων είναι ένα πολύ περίπλοκο ζήτημα. Παρουσιάστηκαν κάποιες σύγχρονες και ταχείες τεχνικές στις οποίες έχουν στραφεί οι έρευνες προκειμένου

να διευκολυνθεί η μελέτη της διάρκειας ζωής και οι περισσότερες από τις οποίες φαίνεται να έχουν σπουδαίες προοπτικές. Παρ' όλα αυτά, απαιτείται περισσότερη έρευνα προκειμένου να συσχετιστούν τα αποτελέσματα των μεθόδων αυτών με αυτά από καθιερωμένες παραδοσιακές τεχνικές για πολλές κατηγορίες τροφίμων.

## Αναφορές

- Abbott, J. A. (1999). Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*.
- Abdulmawjood, A., Bülte, M., Roth, S., Schönenbrücher, H., Cook, N., Heuvelink, A. E., & Hoorfar, J. (2004). Development, Validation, and Standardization of Polymerase Chain Reaction-Based Detection of E. coli O157. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*.
- Ampuero, S., & Bosset, J. O. (2003). The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensors and Actuators B: Chemical*.
- Anonymous 1996, CIE L\* a\* b\* Color Scale, HunterLab, Applications Note, Vol. 8, No. 7. Ανακτήθηκε από: [http://lib3.dss.go.th/fulltext/glass/GlassTheories/CIE\\_Lab\\_info.pdf](http://lib3.dss.go.th/fulltext/glass/GlassTheories/CIE_Lab_info.pdf)
- Anonymous 2001, The Basics Of Color Perception and Measurements, HunterLab Presents, Version 1.4. Ανακτήθηκε από: <https://ucanr.edu/datastoreFiles/608-161.pdf>
- Arias, E., Oria, R., & López-Buesa, P. (2018). Determination of acceptability and shelf life of fresh-cut pear by digital image analysis. *Journal of Food Measurement and Characterization*.
- Arimi, J. M., Duggan, E., O'Sullivan, M., Lyng, J. G., & O'Riordan, E. D. (2012). Crispiness of a microwave-expanded imitation cheese: Mechanical, acoustic and sensory evaluation. *Journal of Food Engineering*,
- Benedetti S., Sinelli N., Buratti S. & Riva M. (2005). Shelf Life of Crescenza Cheese as Measured by Electronic Nose. *J. Dairy Sci*.
- Bhattacharyya, N., & Bandhopadhyay, R. (2010). *Electronic Nose and Electronic Tongue. Nondestructive Evaluation of Food Quality*.
- Bowser, T.J., Mwavita M., Al-Sakini A., McGlynn W. & Maness N.O. (2014). Quality and Shelf Life of Fermented Lamb Meat Sausage with Rosemary Extract. *The Open Food Science Journal*.

Chroma Meter CR – 400/410. Instruction Manual, Konica Minolta. Ανακτήθηκε από: [https://www.konicaminolta.com/instruments/download/instruction\\_manual/color/pdf/cr-400-410\\_instruction\\_eng.pdf](https://www.konicaminolta.com/instruments/download/instruction_manual/color/pdf/cr-400-410_instruction_eng.pdf)

Choubert, G., Blanc, J.-M., & Vallee, F. (1997). Colour measurement, using the CIELCH colour space, of muscle of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed astaxanthin: effects of family, ploidy, sex, and location of reading. *Aquaculture Research*.

Condurso, C., Verzera, A., Romeo, V., Ziino, M., & Conte, F. (2008). Solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf-life. *International Dairy Journal*.

Cosio, M. S., Ballabio, D., Benedetti, S., & Gigliotti, C. (2007). Evaluation of different storage conditions of extra virgin olive oils with an innovative recognition tool built by means of electronic nose and electronic tongue. *Food Chemistry*.

Costa, F., Cappellin, L., Longhi, S., Guerra, W., Magnago, P., Porro, D., Soukoulis, C., Salvi, S., Velasco, R., Biasioli, F. et al. (2011). Assessment of apple (*Malus × domestica* Borkh.) fruit texture by a combined acoustic-mechanical profiling strategy. *J. Postharvest. Biol. Technol.*

Delibato, E., Rodriguez-Lazaro, D., Gianfranceschi, M., De Cesare, A., Comin, D., Gattuso, A., ... De Medici, D. (2014). European validation of Real-Time PCR method for detection of *Salmonella* spp. in pork meat. *International Journal of Food Microbiology*.

Di Egidio, V., Sinelli, N., Limbo, S., Torri, L., Franzetti, L., Casiraghi, E., (2009). Evaluation of shelf-life of fresh-cut pineapple using FT-NIR and FT-IR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*.

Duizer, L. (2001). A review of acoustic research for studying the sensory perception of crisp, crunchy and crackly textures. *Trends in Food Science & Technology*.

Duizer, L. M. (2004). Sound input techniques for measuring texture. *Texture in Food*.

Gentili, A., Caretti, F., D'Ascenzo, G., Marchese, S., Perret, D., Di Corcia, D. and Rocca, R.M. (2008). Simultaneous determination of water-soluble vitamins in selected food



matrices by liquid chromatography/ electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*

Gianfranceschi, M. V., Rodriguez-Lazaro, D., Hernandez, M., González-García, P., Comin, D., Gattuso, A., ... De Medici, D. (2014). European validation of a real-time PCR-based method for detection of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. *International Journal of Food Microbiology.*

Gil, L.; et al. (2011) Monitoring of Physical–Chemical and Microbiological Changes in Fresh Pork Meat under Cold Storage by Means of a Potentiometric Electronic Tongue. *Food Chem.*

González-Sálamo, J., Socas-Rodríguez, B., & Hernández-Borges, J. (2018). Analytical methods for the determination of phthalates in food. *Current Opinion in Food Science.*

Grillo, O., Rizzo, V., Saccone, R., Fallico, B., Mazzaglia, A., Venora, G., & Muratore, G. (2014). Use of image analysis to evaluate the shelf life of bakery products. *Food Research International.*

Han, F.K., Y., H.X., Teye, E., et al. (2014). A Nondestructive Method for Fish Freshness Determination with Electronic Tongue Combined with Linear and Non-Linear Multivariate Algorithms. *J. Food Sci.*

Hanson, A. L., & Metzger, L. E. (2010). Evaluation of increased vitamin D fortification in high-temperature, short-time–processed 2% milk, UHT-processed 2% fat chocolate milk, and low-fat strawberry yogurt. *Journal of Dairy Science,*

Harris, D. C. (2007). *Quantitative chemical analysis.* New York, NY: W.H. Freeman and Co.

Ismail, A. A., van de Voort, F. R., & Sedman, J. (1997). Chapter 4 Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications. *Instrumental Methods in Food Analysis.*

Jacobsson, A., Nielsen, T., & Sjöholm, I. (2004). Effects of type of packaging material on shelf-life of fresh broccoli by means of changes in weight, colour and texture. *European Food Research and Technology*.

Jiang, H., Zhang, M., Bhandari, B., & Adhikari, B. (2018). Application of electronic tongue for fresh foods quality evaluation: A review. *Food Reviews International*.

Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2000). *The stability and shelf-life of food*. Woodhead Publishing Limited.

Kong, F., & Singh, R. P. (2016). Advances in Instrumental Methods for Shelf Life Evaluation. *The Stability and Shelf Life of Food*.

Labuza, T.P. (1982) Shelf-Life Dating of Foods, Food and Nutrition Press, Westport, Connecticut.

Man, C., & Jones, A. (1994). *Shelf life Evaluation of Foods*. Springer-Science and Business media.

Manzocco, L., Rumignani, A., & Lagazio, C. (2012). Use of Images in Shelf Life Assessment of Fruit Salad. *Journal of Food Science*.

McClellan, M. R., Lind, L. R., & Kime, R. W. (1995). Hue angle determinations and statistical analysis for multiquadrant hunter L,a,b data. *Journal of Food Quality*.

Melro E, Antunes F, Cruz I, Ramos PE, Carvalho F, Alves L,(2020) Morphological, textural and physico-chemical characterization of processed meat products during their shelf life, *Food Structure*.

Miller, J. M. (2009). Chromatography. *Digital Encyclopedia of Applied Physics*.

Mohamed, A. A. A., Jowitt, R., & Brennan, J. G. (1982). Instrumental and sensory evaluation of crispness: I—In friable foods. *Journal of Food Engineering*.

Peris, M., Escuder-Gilabert, L. (2009). A 21st century technique for food control: Electronic noses. *Analytica Chimica Acta*.

Rodríguez-Lázaro, D., & Hernández, M. (2013). Real-time PCR in Food Science: Introduction. *Curr. Issues Mol. Biol.*

Rodríguez-Mendez, M.L.; et al.(2009) Biogenic Amines and Fish Freshness Assessment Using a Multisensor System Based on Voltammetric Electrodes. Comparison between CPE and Screen-Printed Electrodes. *Electrochim. Acta.*

Ros-Chumillas, M., Belissario, Y., Iguaz, A., & López, A. (2007). Quality and shelf life of orange juice aseptically packaged in PET bottles. *Journal of Food Engineering,*

Sinelli, N., Barzaghi, S., Giardina, C., Cattaneo, T.M.P., 2005. A preliminary study using Fourier transform near infrared spectroscopy to monitor the shelf-life of packed industrial ricotta cheese. *Journal of Near Infrared Spectroscopy.*

Singh, R., Heldman, D., & Kirk, J. (1975). Kinetic analysis of light-induced riboflavin loss in whole milk. *Journal of Food Science.*

Song, Y., Hu, Q., Wu, Y., Pei, F., Kimatu, B. M., Su, A., Ma N., Fang Y., Yang, W. (2018). Storage time assessment and shelf-life prediction models for postharvest *Agaricus bisporus*. *LWT - Food Science and Technology*

Shellhammer, T., & Singh, R. (1991). Monitoring Chemical and Microbial Changes of Cottage Cheese using a Full-history Time-temperature Indicator. *Journal of Food Science.*

Singh, R., Heldman, D., & Kirk, J. (1975). Kinetic analysis of light-induced riboflavin loss in whole milk. *Journal of Food Science.*

Taoukis, P.S., Labuza, T. P. and Saguy, I. (1997). *Kinetics of Food Deterioration and Shelf-Life prediction. The handbook of food engineering practice.* CRC Press.

Tsironi, T., Dermesonlouoglou, E., Giannakourou, M., Taoukis, P. (2008). Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. *LWT - Food Science and Technology.*

Tunick, M. H., Onwulata, C. I., Thomas, A. E., Phillips, J. G., Mukhopadhyay, S., Sheen, S., Liu, C., Latona, N., Pimentel M. R., Cooke, P. H. (2013). Critical Evaluation of Crispy and Crunchy Textures: A Review. *International Journal of Food Properties*.

Turgut, S., Karacabey, E., & Küçüköner, E. (2014). Potential of image analysis based systems in food quality assessments and classification. *FoodBalt*.

Wei, Z.; Wang, J.; Zhang, X. (2013) Monitoring of Quality and Storage Time of Unsealed Pasteurized Milk by Voltammetric Electronic Tongue. *Electrochim. Acta*.

Wells, J., & Singh, R. (1988). Application of time-temperature indicators in monitoring changes in quality attributes of perishable and semiperishable foods. *Journal of Food Science*.

Zhou, T., Harrison, A. ., McKellar, R., Young, J. ., Odumeru, J., Piyasena, P., Lu, X., Mercer, D.G., Karr, S. (2004). Determination of acceptability and shelf life of ready-to-use lettuce by digital image analysis. *Food Research International*.

Zhuang, S., Li, Y., Jia, S., Hong, H., Liu, Y., & Luo, Y. (2019). Effects of pomegranate peel extract on quality and microbiota composition of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets during chilled storage. *Food Microbiology*.

A. Λημναίος, Α. Κατσιμίχας, Π. Ταούκης (2021). Χημεία, Μικροβιολογία και Αρχές Συντήρησης Τροφίμων (Εργαστηριακές Ασκήσεις). Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΜΠ.

Καρκαλούσος, Π., Γεωργίου, Ζ., Κρούπης, Χ., Παπαϊωάννου, Α., Πλαγεράς, Π., Σπυρόπουλος, Β., Τσότσου, Γ. Ε., Φούντζουλα, Χ. (2015). Η υπέρυθη φασματοσκοπία και οι εφαρμογές της στην κλινική χημεία., Εργαστηριακές ασκήσεις κλινικής χημείας, Εκδόσεις Κάλλιπος.

Μπατσούλης Ν. Απόστολος (2016). Εφαρμογές της υπέρυθρης φασματοσκοπίας (FT-IR) και της φασματοσκοπίας Raman (FT-RAMAN) στη μελέτη συστατικών γεωργικών προϊόντων. Η περίπτωση του Kenaf, του μελιού και των φύλλων της μουριάς.

Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του ανθρώπου.

Παπανικολάου, Γ., Παλαιολόγου Δ., Κατσαρέλη Ε. (2015). Παπανικολάου, Γ., Παλαιολόγου, Δ., Κατσαρέλη, Ε. 2015. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. [Κεφάλαιο Συγγράμματος]. Ανακτήθηκε από:  
[https://repository.kallipos.gr/pdfviewer/web/viewer.html?file=/bitstream/11419/647/1/02\\_chapter\\_07.pdf](https://repository.kallipos.gr/pdfviewer/web/viewer.html?file=/bitstream/11419/647/1/02_chapter_07.pdf)

Στρουθόπουλος, Χ. (2014). Αναγνώριση Προτύπων – Νευρωνικά Δίκτυα. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κεντρικής Μακεδονίας. Ανακτήθηκε από:  
[http://strouthopoulos.teicm.gr/images/docs/pattern\\_recognition.pdf](http://strouthopoulos.teicm.gr/images/docs/pattern_recognition.pdf)

## **Κανονισμοί και Οδηγίες**

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) αριθ. 1169/2011 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 25ης Οκτωβρίου 2011 σχετικά με την παροχή πληροφοριών για τα τρόφιμα στους καταναλωτές, την τροποποίηση των κανονισμών του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου (ΕΚ) αριθ. 1924/2006 και (ΕΚ) αριθ. 1925/2006 και την κατάργηση της οδηγίας 87/250/ΕΟΚ της Επιτροπής, της οδηγίας 90/496/ΕΟΚ του Συμβουλίου, της οδηγίας 1999/10/ΕΚ της Επιτροπής, της οδηγίας 2000/13/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, των οδηγιών της Επιτροπής 2002/67/ΕΚ και 2008/5/ΕΚ και του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 608/2004 της Επιτροπής.

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1924/2006 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 20 Δεκεμβρίου 2006 σχετικά με τους ισχυρισμούς διατροφής και υγείας που διατυπώνονται στα τρόφιμα.

ΟΔΗΓΙΑ 2000/13/ΕΚ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 20ής Μαρτίου 2000 για προσέγγιση των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με την επισήμανση, την παρουσίαση και τη διαφήμιση των τροφίμων.

## Ιστότοποι

<https://www.andersonmaterials.com/gas-chromatography-mass-spectroscopy-gc-ms/>

<https://www.microtrace.com/technique/uplc-hrms/>

<https://www.rheologylab.com/services/texture-analysis/>

<https://www.ssi.shimadzu.com/products/ftir-spectrophotometers/iraffinity-1s.html>

<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4484077>