



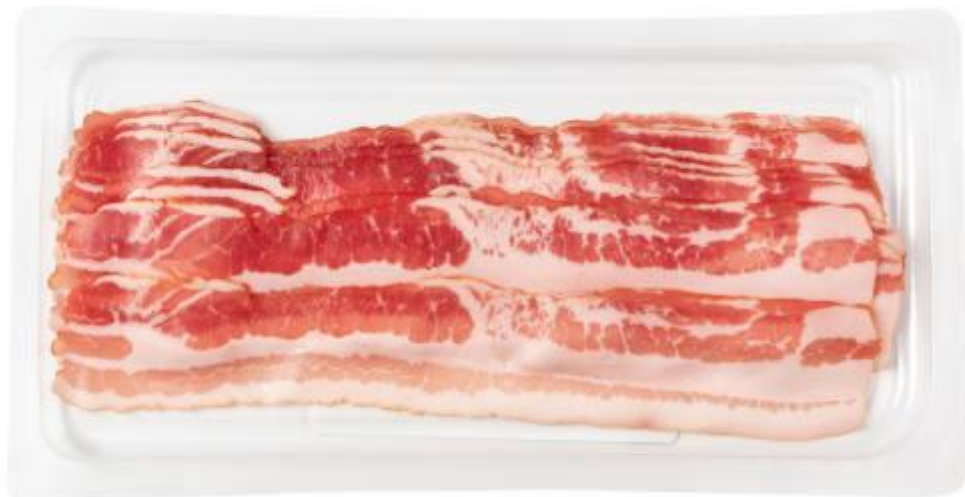
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**
UNIVERSITY OF WEST ATTICA

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΜΑ:

**ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΣΕ ΚΡΕΑΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΑ ΥΠΟ
ΚΕΝΟ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΟΥ ΛΙΠΟΥΣ.**

**MICROBIAL SPOILAGE IN MEAT PRODUCTS PACKED UNDER VACUUM AND
FAT OXIDATION.**



ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ/NAME OF THE STUDENT

ΦΑΣΙΑ ΜΑΡΙΑ/FASIA MARIA

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

ΣΠΥΡΙΔΩΝ ΚΟΝΤΕΛΕΣ - SPYRIDON KONTELES

Αθήνα 09 Σεπτεμβρίου 2023.

ΑΙΓΑΛΕΩ/EGALEO 2023

Έγινε δεκτή

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη πτυχιακή εργασία με τίτλο **‘Μικροβιακές αλλοιώσεις σε κρεατοσκευάσματα συσκευασμένα υπό κενό και οξείδωση λίπους’** που παρουσιάστηκε από τη Φασιά Μαρία και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία

Όνομα επιβλέποντος

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

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.

Όνομα φοιτητή

ΦΑΣΙΑ ΜΑΡΙΑ.



Ευχαριστίες.

Για την παρούσα εργασία θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άτομα που συνέβαλλαν στην εκπόνησή της. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή Κοντελέ Σπύρο για την καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων και της συγγραφής της πτυχιακής μου. Απέκτησα πολλές γνώσεις. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω να υποψήφια διδάκτωρ Ναταλία Σταυροπούλου. Εκτιμώ πολύ τον χρόνο και την προσπάθεια που κατέβαλλε για να με βοηθήσει κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Σε εργαστηριακό επίπεδο, έμαθα να διεξάγω σωστά τα πειράματα. Τέλος, ευχαριστώ θερμά τους δικούς μου ανθρώπους, την μητέρα μου, τον πατέρα μου και τον Βιντσέντζο που με βοήθησαν να διαχειριστώ το άγχος μου και με στήριξαν.

Περίληψη.

Η συγκεκριμένη μελέτη αφορά τη διερεύνηση των μικροβιακών μεταβολών της αερόβιας ψυχρότροφης χλωρίδας καθώς και της οξυγαλακτικής σε δυο κρεατοσκευάσματα, τεμαχισμένα σε φέτες και συσκευασμένα υπό κενό συντηρούμενα σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (5, 10, 15°C). Τα προϊόντα αυτά είναι το μπέικον και το «καπρικό», ένα παραδοσιακό προϊόν της Κρήτης. Όλα τα δείγματα ήταν βιοτεχνικής προελεύσεως. Παράλληλα κατά τη διάρκεια την συντήρησης των δειγμάτων αναλύονταν και η εξέλιξη της οξείδωσης των λιπαρής τους φάσης.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και στα δύο προϊόντα, τα οποία έχουν δεχθεί θερμική επεξεργασία, το αρχικό μικροβιακό φορτίο σε όλα τα δείγματα ήταν πάντοτε μεγαλύτερα από 10^4 cfu/ g. Σε όλες τις θερμοκρασίες συντήρησης η αύξηση τόσο της αερόβιας ψυχρότροφής χλωρίδας ήταν ταχεία γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στο υψηλό αρχικό μικροβιακό φορτίο. Ενδεικτικά στα δείγματα που συντηρούνταν στους 5°C η φάση της λογαριθμικής ανάπτυξης της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας ολοκληρώθηκε μέσα σε μία περίπου εβδομάδα ενώ για την αντίστοιχη ψυχρόφιλη οξυγαλακτική χρειάστηκαν 40 ημέρες. Σε κανένα από τα δείγματα δεν παρουσιάστηκε παραγωγή αερίου ή δυσσομία. Ως αλλοίωση θεωρήθηκε η ανάπτυξη γλοίας στην επιφάνεια των δειγμάτων.

Σε ό,τι αφορά τον βαθμό οξείδωσης των δειγμάτων, διαπιστώθηκε ότι σε απόλυτες τιμές ο βαθμός οξείδωσης των δειγμάτων «καπρικού» ήταν πολύ μεγαλύτερος από αυτό των δειγμάτων μπέικον. Επίσης κατά τη διάρκεια της συντήρησης των δειγμάτων διαπιστώθηκε σταδιακή αύξηση του βαθμού οξείδωσης.

Λέξεις κλειδιά: μπέικον, ψυχρότροφα, TBA, οξείδωση λίπους.

Abstract

This study concerns the microbial changes of the aerobic psychrophilic microbiota as well as of the lactic acid bacteria in two heat-treated meat preparations, sliced, vacuum-packed, and stored at three different temperatures (5, 10, 15°C). These products were bacon and "caprico", a traditional product of Crete. All samples were of industrial origin. At the same time, during the sample storage, the lipid oxidation was analyzed.

The results showed that in both products, the initial psychrophilic microbial population was always greater than 10^4 cfu/g. The aerobic psychrophilic microbiota increased quickly at all storage temperatures. This was likely because the initial microbial load was quite high. For instance, in the samples kept at 5°C, the logarithmic growth phase of the aerobic psychrophilic population was completed within about a week, while 40 days were needed for the psychrophilic lactic acid bacteria. No gas production or off-odor occurred in any of the samples. The development of slime on the surface of the samples was considered a spoilage index.

Regarding the sample oxidation, it was found that, in absolute values, the oxidation of the "caprico" samples was much higher than that of the bacon samples. Also, during the preservation of the samples, a gradual increase in the degree of oxidation was found.

Keywords: bacon, psychrotrophic, TBA, fat oxidation.

Table of Contents

ΘΕΜΑ: 1

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΣΕ ΚΡΕΑΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΑ ΥΠΟ ΚΕΝΟ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΟΥ ΛΙΠΟΥΣ.	1
MICROBIAL SPOILAGE IN MEAT PRODUCTS PACKED UNDER VACUUM AND FAT OXIDATION.	1
Ευχαριστίες.	4
Περίληψη.....	5
Abstract.	6
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ.	9
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.	9
1. Εισαγωγή.	11
1.1. Χοιρινό κρέας.	11
1.2. Βιομηχανία Μπέικον.	11
1.3. Συσκευασία Υπό Κενό.	12
1.4. Θρεπτικά υποστρώματα.	13
1.4.1. Plate Count Agar (PCA).	13
1.4.2. de Man, Rogosa and Sharpe (MRS).	14
2. Μικροβιακές Αλλοιώσεις	14
2.1. Μικροβιακή αλλοίωση.	14
2.2. Θερμοκρασία και παρουσία οξυγόνου ως παράγοντες μικροβιακής αλλοίωσης.	15
2.2.1. Θερμοκρασία.	15
2.2.2. Οξυγόνο.	15
2.3. Ψυχρότροφα βακτήρια στο κρέας.	16
3. Οξείδωση Λίπους.	17
3.1. Μηχανισμός οξείδωσης λίπους.	17
3.1.1. Έναρξη	17
3.1.2. Διάδοση.	18
3.1.3. Τερματισμός.	18
3.2. Μηλονική αλδεΐδη (MDA).	18
3.3. Αντίδραση του Θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA).	20
4. Σκοπός πειραμάτων.	21
5. Υλικά και μέθοδοι.	22
5.1. Πείραμα 1^ο : Μικροβιολογικές αναλύσεις και μέτρηση pH.	22
5.1.1. Προετοιμασία θρεπτικών υποστρωμάτων PCA, MRS.	22
5.1.2. Παρασκευή αραιωτικού υγρού Ringer.	24
5.1.3. Δειγματοληψία.	24

5.1.4.	Εμβολιασμός υποστρωμάτων και επώαση.	26
5.1.5.	Καταμέτρηση των αποικιών που σχηματίστηκαν.	27
5.1.6.	Μέτρηση pH.....	28
5.2.	2 ^ο πείραμα: Δοκιμή TBA.....	29
5.2.1.	Παρασκευή διαλύματος TBA.	29
5.2.2.	Δοκιμή TBA.	30
6.	Αποτελέσματα.....	33
6.1.	Αποτελέσματα 1 ^{ου} πειράματος: Μικροβιολογικές Αναλύσεις και μέτρηση pH.....	33
6.1.1.	Πειραματικά δεδομένα μέτρησης pH στα προϊόντα μπέικον και καπρικό σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.....	33
6.1.2.	Πειραματικά δεδομένα μέτρησης pH στα προϊόντα μπέικον και καπρικό σε θερμοκρασία αποθήκευσης 10°C..... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
6.1.3.	Πειραματικά δεδομένα μέτρησης pH στα προϊόντα μπέικον και καπρικό σε θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C..... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
6.1.4.	Πειραματικά αποτελέσματα μικροβιακής ανάπτυξης μπέικον σε θερμοκρασία συντήρησης 5° C.....	36
6.1.5.	Πειραματικά αποτελέσματα μικροβιακής ανάπτυξης μπέικον σε θερμοκρασία συντήρησης 10ο C.....	37
6.1.6.	Πειραματικά δεδομένα μικροβιακής ανάπτυξης σε μπέικον σε θερμοκρασία συντήρησης 15° C.....	39
6.2.	Αποτελέσματα 2 ^{ου} πειράματος: εκτίμηση οξείδωσης με τη μέθοδο TBA.....	40
6.2.1.	Πειραματικά δεδομένα οξείδωσης λίπους σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.	40
6.2.2.	Πειραματικά δεδομένα οξείδωσης λίπους σε θερμοκρασία αποθήκευσης 10° C.	41
6.2.3.	Πειραματικά δεδομένα οξείδωσης λίπους σε θερμοκρασία αποθήκευσης 15° C.	42
7.	Συζήτηση.....	43
8.	Συμπεράσματα.....	45
9.	Βιβλιογραφία.....	45

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ.

Εικόνα 1 Σχηματισμός μηλονικής αλδεΐδης (MDA).....	19
Εικόνα 2 Αντίδραση MDA-TBA	20
Εικόνα 3 Αποικίες σε υπόστρωμα PCA.....	23
Εικόνα 4 Αποικίες σε υπόστρωμα MRS.....	23
Εικόνα 5 Δείγμα καπρικού.....	26
Εικόνα 6 Δείγμα Μπέικον.....	26
Εικόνα 7 Δοχείο για αναερόβιες συνθήκες.....	27
Εικόνα 8 pHμετρο.....	29
Εικόνα 9 Τα δείγματα στο υδατόλουτρο.....	32
Εικόνα 10 Αλλαγή χρώματος μετά την θέρμανση στο υδατόλουτρο.....	32
Εικόνα 11 Το φασματοφωτόμετρο.....	33

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.

Διάγραμμα 1 Μεταβολή του pH στα δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασίες συντήρησης (α) 5°C, (β) 10°C και (γ) 15°C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες. .	34
Διάγραμμα 2 Μεταβολή του pH στα δείγματα καπρικού συσκευασμένα υπό κενό στην θερμοκρασία συντήρησης (α) 5oC, (β) 10oC και (γ) 15oC. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες	35
Διάγραμμα 3 Μεταβολή του πληθυσμού των οξυγαλακτικών ψυχροτρόφων (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 5oC. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	36
Διάγραμμα 4 Μεταβολή του πληθυσμού της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 5oC. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	37
Διάγραμμα 5 Μεταβολή του πληθυσμού της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 10° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	38
Διάγραμμα 6 Μεταβολή του πληθυσμού των Οξυγαλακτικών Ψυχρότροφων (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 10° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	38
Διάγραμμα 7 Μεταβολή του πληθυσμού της Αερόβιας Ψυχρόφιλης Χλωρίδας (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 15oC. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	39
Διάγραμμα 8 Μεταβολή του πληθυσμού των Οξυγαλακτικών Ψυχρότροφων (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 15oC. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	40

Διάγραμμα 9 Μεταβολή του βαθμού οξειδωσης του λίπους του μπέικον και του καπρικού σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5ο C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	41
Διάγραμμα 10 Μεταβολή του βαθμού οξειδωσης του λίπους του μπέικον και του καπρικού σε θερμοκρασία αποθήκευσης 10 ^ο C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	41
Διάγραμμα 11 Μεταβολή του βαθμού οξειδωσης του λίπους του μπέικον και του καπρικού σε θερμοκρασία αποθήκευσης 15 ^ο C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.....	42

1. Εισαγωγή.

1.1. Χοιρινό κρέας.

Το χοιρινό κρέας είναι το πιο δημοφιλές είδος κρέατος προς κατανάλωση και από αυτό μπορούν να παραχθούν και πολλά άλλα προϊόντα. Όσον αφορά την χημική του σύσταση, ο χοιρινός μυς αποτελείται από 70-75% νερό ενώ η πρωτεΐνη κυμαίνεται από 18 έως 22%. Το λίπος που αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό του χοιρινού κρέατος κυμαίνεται στο 5-7% και αποτελείται από δυο κατηγορίες: τα φωσφολιπίδια και τα τριγλυκερίδια. Η περιεκτικότητα του μυ σε υδατάνθρακες είναι αμελητέα καθώς αποτελούν μόνο το 1% του του μυϊκού ιστού. Οι βιταμίνες και τα μεταλλικά στοιχεία κυμαίνονται επίσης σε ποσοστό 1-2%. Η σύσταση του μυϊκού ιστού διαφέρει στις διάφορες κόπες του κρέατος, γεγονός που οφείλεται στη μεγάλη διαφοροποίηση της συγκέντρωσης του λίπους στα διαφορετικά κομμάτια του σφαγίου.

Το χοιρινό κρέας αποτελεί πηγή πολλών θρεπτικών συστατικών για τον οργανισμό, που συμβάλλουν στην ανάπτυξη. Είναι εξαιρετική πηγή πρωτεΐνης, αφού σε μια μερίδα 85g παρέχεται το 41% της ημερήσιας απαραίτητης πρόσληψης. Αυτή η πρωτεΐνη θεωρείται καλής ποιότητας. Όσον αφορά τα λίπη, το 34% των λιπαρών οξέων είναι κορεσμένα και το 66% είναι ακόρεστα. Ένα από τα λιπαρά που περιέχεται στο χοιρινό κρέας είναι και η χοληστερόλη. Η χοληστερόλη είναι απαραίτητη για τον οργανισμό έως 300 mg ημερησίως ωστόσο, σε μεγαλύτερες ποσότητες έχει ενοχοποιηθεί για την πρόκληση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Όμως, σε μια μερίδα 85 g χοιρινού περιέχονται 79 mg χοληστερόλης, δηλαδή το 26% της προτεινόμενης ημερήσιας πρόσληψης. Ακόμη, το χοιρινό είναι μια εξαιρετική πηγή θρεπτικών όπως, θειαμίνη, βιταμίνη B12, νιασίνη, ριβοφλαβίνη, βιταμίνη B₆, φώσφορο και σίδηρο. Ιδιαίτερα ο σίδηρος που περιέχει είναι γνωστός ως αιμικός σίδηρος και είναι εκείνος που απορροφάται με μεγαλύτερη ευκολία από τον ανθρώπινο οργανισμό. Επομένως, η κατανάλωση χοιρινού κρέατος, όμως στις συνιστώμενες ποσότητες, είναι ευεργετική για τον ανθρώπινο οργανισμό. Το χοιρινό κρέας είναι ευπροσάρμοστο και μπορεί να καταναλωθεί με διάφορους τρόπους όπως ψητό σε μπριζόλες ή παιδάκια. Από τα πιο δημοφιλή σκευάσματα του χοιρινού είναι το μπέικον αλλά και τα χοιρινά λουκάνικα Φρανκφούρτης ή φρέσκα και το ζαμπόν. (Mercae et al., 1993)

1.2. Βιομηχανία Μπέικον.

Όπως αναφέρθηκε, το μπέικον είναι ένα ιδιαίτερα δημοφιλές παράγωγο του χοιρινού κρέατος που παρασκευάζεται από την κοιλιά ή την πλάτη του χοίρου και υποβάλλεται σε

σκλήρυνση, ξήρανση και κάπνιση. Η κατανάλωση του μπέικον είναι πολύ διαδεδομένη στις δυτικές χώρες αλλά ακόμα και σε όλο τον κόσμο, πιθανότατα λόγω της μοναδικής καπνιστής γεύσης του. Αν και η αντίδραση Maillard καθώς και η οξείδωση του λίπους συμβάλλουν στην δημιουργία πτητικών ενώσεων που δημιουργούν αρώματα, το κάπνισμα είναι η κύρια πηγή πτητικών ενώσεων που επηρεάζουν την γεύση και την οσμή του μπέικον. Είναι πλούσιο σε λιπίδια και πρωτεΐνες που το καθιστούν ευαίσθητο στην οξείδωση με αποτέλεσμα την δημιουργία ταγγού ή άτονου αρώματος και την μείωση της θρεπτικής του αξίας. Ακόμη, η οξείδωση των πρωτεϊνών έχει προσελκύσει την προσοχή των επιστημόνων λόγω της δυσμενούς επίδρασής της στον ανθρώπινο οργανισμό.

Όσον αφορά τη διαδικασία της κάπνισης, παραδοσιακά το κρέας που προορίζεται για την παρασκευή μπέικον εκτίθεται σε καπνό προερχόμενο από καμένο πριονίδι ή ροκανίδα. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή έχει θεωρηθεί επιβλαβής για την υγεία των καταναλωτών λόγω των καρκινογόνων ενώσεων που παράγονται, όπως πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες. Για τον λόγο αυτό αναπτύχθηκε μια νέα τεχνική κάπνισης όπου το κρέας εκτίθεται σε υγρό καπνό. Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί έναντι της παραδοσιακής αφού εκτός από την αποφυγή των καρκινογόνων ενώσεων, είναι γρηγορότερη και με χαμηλότερη περιβαλλοντική ρύπανση.

Οι κύριες χημικές ενώσεις του καπνού είτε αυτός είναι ο παραδοσιακός είτε ο υγρός ανήκουν στις παρακάτω ομάδες: όξινες ενώσεις, φαινολικές ενώσεις και καρβονυλικές ενώσεις. Χρησιμοποιούνται ειδικοί τύποι ξύλων για τον καπνισμό και μάλιστα οι διαφορές στην σύνθεση του κάθε ξύλου ευθύνονται για τις ποιοτικές διαφορές που παρατηρούνται στο μπέικον όσον αφορά το χρώμα, τη γεύση, τη συντήρηση και την διάρκεια ζωής του. (Zhou et al.,2022).

1.3. Συσσκευασία Υπό Κενό.

Οι σύγχρονες μέθοδοι συσκευασίας του χοιρινού κρέατος και των σκευασμάτων του, είναι ωφέλιμες, περισσότερο από τις συμβατικές μεθόδους προστασίας. Η συσκευασία υπό κενό, η τροποποιημένη ατμόσφαιρα και η ενεργή συσκευασία παρατείνουν την διάρκεια ζωής των κρεατοσκευασμάτων. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι το οξυγόνο είναι το βασικότερο συστατικό για την οξείδωση του λίπους, οι συσκευασίες που μειώνουν ή περιορίζουν την έκθεση του κρέατος στο οξυγόνο είναι μια καλή στρατηγική για την πρόληψη και την

επιβράδυνση της οξείδωσης. Η συσκευασία υπό κενό αναφέρεται σε κρέας που τοποθετείται σε συσκευασία πλαστικής μεμβράνης με πολύ χαμηλή διαπερατότητα στο οξυγόνο, στην οποία αφαιρείται το οξυγόνο κατά τη σφράγιση. Κατά την εφαρμογή κενού, η συσκευασία συρρικνώνεται εξασφαλίζοντας στενή επαφή με το κρέας. Αυτή η άμεση επαφή της μεμβράνης με το κρέας είναι πολύ σημαντική διότι, το οξυγόνο που παρέμεινε στην συσκευασία θα μετατραπεί γρήγορα σε διοξείδιο του άνθρακα λόγω της αναπνευστικής δραστηριότητας του κρέατος.

Λόγω της οικονομικής αποδοτικότητας και της ευκολίας εφαρμογής της, η συσκευασία υπό κενό είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την συσκευασία κρέατος. Ωστόσο, λόγω μειονεκτημάτων που εμφανίζει, όπως η παραμόρφωση του προϊόντος και ο σχηματισμός εξιδρώματος, η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα κατέληξε να είναι προτιμότερη από την συσκευασία υπό κενό. (Amaral et al.,2018).

1.4. Θρεπτικά υποστρώματα.

1.4.1. Plate Count Agar (PCA).

Το υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA) είναι ένα γενικής χρήσης μικροβιολογικό μέσο ανάπτυξης βακτηρίων. Χρησιμοποιείται σε μικροβιολογικές αναλύσεις για την αξιολόγηση ή την παρακολούθηση της "συνολικής" βακτηριακής ανάπτυξης σε ένα δείγμα τροφίμου. Το PCA δεν είναι εκλεκτικό υπόστρωμα. Η σύσταση του υποστρώματος είναι η εξής:
Περιεκτικότητα σε g/mL: Enzymatic Digest of Casein/tryptone 5.0, Yeast Extract 2.5, Glucose 1.0, Agar 15.0

Η καζεΐνη παρέχει άζωτο και ο εκχύλισμα μαγιάς είναι η πηγή βιταμινών. Η γλυκόζη αποτελεί το ζυμώσιμο υδατάνθρακα και το άγαρ είναι ο στερεοποιητικός παράγοντας. Ο αριθμός των βακτηρίων υπολογίζεται ως μονάδες σχηματισμού αποικιών ανά γραμμάριο (cfu/g) σε στερεά δείγματα και (cfu/mL) σε υγρά δείγματα (Corry et al.,2012).

1.4.2. de Man, Rogosa and Sharpe (MRS).

Το άγαρ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια της ομάδας των οξυγαλακτικών βακτηρίων ωστόσο δεν αποτελεί εκλεκτικό υπόστρωμα. Μετατρέπεται σε εκλεκτικό υπόστρωμα για τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος με τη μείωση του pH στην τιμή 5,7 και την προσθήκη 0,5% sodium acetate trihydrate. Τα συστατικά από τα οποία περιέχονται στο συγκεκριμένο υπόστρωμα είναι τα εξής:

Περιεκτικότητα (w/v): 1.0% peptone, 1.0% beef extract, 0.4% yeast extract, 2.0% glucose, 0.5% sodium acetate trihydrate, 0.1% polysorbate 80, 0.2% dipotassium hydrogen phosphate, 0.2% triammonium citrate, 0.02% magnesium sulfate heptahydrate, 0.005% manganese sulfate tetrahydrate, 1.0% agar

Όλα τα συστατικά προσθέτονται σε απιονισμένο νερό το οποίο θερμαίνονται μέχρι βρασμού για να διαλυθούν πλήρως. Το MRS άγαρ δίνει καλό αριθμό αποικιών και χαρακτηριστικό μέγεθος και μορφολογία αποικιών για τους γαλακτοβάκιλλους και για άλλα βακτήρια γαλακτικού οξέος (Corry et al., 2003).

2. Μικροβιακές Αλλοιώσεις.

2.1. Μικροβιακή αλλοίωση.

Ακριβώς όπως το χοιρινό είναι πηγή θρεπτικών συστατικών για τον ανθρώπινο οργανισμό, ομοίως είναι και πηγή θρεπτικών συστατικών για την ανάπτυξη διαφόρων ειδών μικροοργανισμών, παθογόνων ή μη. Αποτελεί, όπως όλα τα τρόφιμα, εξαιρετικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη βακτηρίων. Οι συνήθεις μικροοργανισμοί που προκαλούν αλλοιώσεις στο χοιρινό κρέας είναι: *Pseudomonas spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, και *Clostridium spp.* (Mor-Mur et al., 2010). Μικροβιακή επιμόλυνση μπορεί να προκληθεί από την κακή υγιεινή κατά την σφαγή, την μεταφορά των σφαγίων, την μετέπειτα επεξεργασία και την αποθήκευση. Ορισμένα από τα κυριότερα χαρακτηριστικά του αλλοιωμένου κρέατος περιλαμβάνουν:

- **Χρώμα:** Το φρέσκο κρέας έχει συνήθως ένα φωτεινό κόκκινο χρώμα (για το βοδινό) ή ένα ροζ χρώμα (για το χοιρινό και το κοτόπουλο). Η αλλοίωση μπορεί να οδηγήσει σε μια θαμπή, γκριζα ή καφέ απόχρωση.

- **Οσμή:** Το αλλοιωμένο κρέας μπορεί να έχει μια δυνατή, άσχημη οσμή, που μοιάζει με αμμωνία ή άλλες δυσάρεστες οσμές.
- **Υφή:** Το φρέσκο κρέας πρέπει να είναι σφριγηλό στην αφή. Εάν είναι λιπαρό ή έχει μια ιξώδη υφή, μπορεί να είναι αλλοιωμένο.
- **Υγρασία:** Η υπερβολική υγρασία ή το νερό στη συσκευασία μπορεί να είναι ένδειξη αλλοίωσης.
- **Αφρός ή φυσαλίδες:** Η εμφάνιση αφρού ή φυσαλίδων στην επιφάνεια του κρέατος μπορεί να υποδείξει την ανάπτυξη αεροβίων βακτηρίων.
- **Αλλαγή στη γεύση:** Το αλλοιωμένο κρέας μπορεί να έχει μια πικρή ή ξινή γεύση.

2.2. Θερμοκρασία και παρουσία οξυγόνου ως παράγοντες μικροβιακής αλλοίωσης.

2.2.1. Θερμοκρασία.

Η θερμοκρασία είναι ένας από τους κρίσιμους παράγοντες που μπορούν να επιταχύνουν την αλλοίωση των ευπαθών τροφίμων, όπως το κρέας. Είναι αναγκαίος, λοιπόν, ο έλεγχος της θερμοκρασίας σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας, της μεταφοράς και της αποθήκευσης του κρέατος. Οι διάφοροι μικροοργανισμοί που προκαλούν αλλοίωση αναπτύσσονται στο μέγιστο βαθμό σε θερμοκρασίες από 5 έως 60°C. Ωστόσο, η θερμοκρασία αποτελεί ικανό μέσο περιορισμού της εξάπλωσης των βακτηρίων. Η αλλοίωση του κρέατος μπορεί να περιοριστεί με τη μείωση της θερμοκρασίας στους 4°C αμέσως μετά την σφαγή. Ένας ακόμη τρόπος περιορισμού της μικροβιακής ανάπτυξης είναι με ταχεία κατάψυξη, όπου δημιουργούνται παγοκρύσταλλοι και γίνεται αναστολή της ανάπτυξης των βακτηρίων (Rebezon et al., 2021).

2.2.2. Οξυγόνο.

Η μικροβιακή ανάπτυξη εξαρτάται από την παρουσία ή απουσία οξυγόνου. Τα αερόβια βακτήρια αναπτύσσονται ταχέως παρουσία οξυγόνου. Η αλλοίωση ξεκινά από την επιφάνεια του κρέατος η οποία έρχεται σε άμεση επαφή με το οξυγόνο. Για τον έλεγχο της αλλοίωσης, το οξυγόνο περιορίζεται κατά τη συσκευασία. Εκτός από τη συσκευασία υπό κενό, η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας είναι μία ακόμα τεχνολογία που χρησιμοποιείται ευρέως για τον έλεγχο της αλλοίωσης από αερόβια βακτήρια. Στη συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP), το περιβάλλον οξυγόνου μπορεί να αλλάξει με

διοξείδιο του άνθρακα ή άλλα μείγματα αερίων. Ωστόσο, επειδή υπάρχουν και βακτήρια που αναπτύσσονται και χωρίς παρουσία οξυγόνου ο κίνδυνος της μικροβιακής ανάπτυξης δεν είναι μηδενικός ακόμα και στις συσκευασίες που δεν υπάρχει οξυγόνο (Rebezon et al.,2021).

2.3. Ψυχρότροφα βακτήρια στο κρέας.

Η αποθήκευση τροφίμων σε χαμηλές θερμοκρασίες είναι μακράν το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο μέτρο συντήρησης στην παραγωγή και διανομή νωπών τροφίμων. Το κρέας αναγνωρίζεται ως ένα από τα πιο ευπαθή τρόφιμα και οι θερμοκρασίες ψύξης χρησιμοποιούνται πάντα για την καθυστέρηση της αλλοίωσης του. Οι χαμηλές θερμοκρασίες χρησιμοποιούνται για την αποθήκευση των σφάγιων μετά τη σφαγή, των πρωτογενών τεμαχίων και κατά τη μεταφορά του κρέατος στους διανομείς και, τέλος, για την αποθήκευση του κρέατος στους διάφορους χώρους λιανικής πώλησης. Η ανάπτυξη αλλοίωσης σχετίζεται με τη μικροβιακή κατανάλωση θρεπτικών συστατικών του κρέατος, όπως τα σάκχαρα και τα ελεύθερα αμινοξέα. Στο κρέας που αποθηκεύεται υπό ψύξη, οι δραστηριότητες αυτές μπορεί να εκτελούνται στις χαμηλές θερμοκρασίες αποθήκευσης από μια συγκεκριμένη ομάδα βακτηρίων. Τα βακτήρια ονομάζονται ψυχρότροφα και έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες από -5 έως και 30°C. Τα βακτήρια αυτά μπορεί να είναι τόσο θετικά κατά Gram, όπως τα οξυγαλακτικά βακτήρια, όσο και αρνητικά κατά Gram, όπως τα *Pseudomonas spp.* και *Enterobacteriaceae*.

Η συσκευασία υπό κενό ευνοεί τα προαιρετικά αναερόβια βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων των οξυγαλακτικών βακτηρίων και το *Brochothrix thermosphacta*. Το ψυχρότροφο οξυγαλακτικό βακτήριο που εμφανίζονται συχνότερα στο κρέας είναι το *Lactobacillus sakei*, το οποίο θεωρείται παράγοντας αλλοίωσης του συσκευασμένου υπό κενό κρέατος. Ακόμη, το ψυχρότροφο βακτήριο *Brochothrix thermosphacta* είναι σημαντικός παράγοντας αλλοίωσης του κρέατος. Αυτό το είδος αναπτύσσεται υπό αερόβιες συνθήκες αλλά έχει ικανότητα ανάπτυξης και σε κρέας συσκευασμένο σε κενό. Ενώ αυτό το μικρόβιο έχει απομονωθεί από δείγματα βόειου κρέατος καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης, έχει απομονωθεί από χοιρινό κρέας συσκευασμένο σε κενό μόνο μέχρι το μέχρι τα μέσα της περιόδου ζωής του. Στη συνέχεια επικράτησαν τα βακτήρια γαλακτικού οξέος, τα οποία υποδηλώνει τις καλύτερες ανταγωνιστικές τους ικανότητες (Ercolini et al., 2009).

3. Οξείδωση Λίπους.

3.1. Μηχανισμός οξείδωσης λίπους.

Είναι γνωστό ότι τα ακόρεστα λιπαρά οξέα και το οξυγόνο είναι τα συστατικά που αντιδρούν κατά την στη διαδικασία οξείδωσης των λιπιδίων. Τα λιπίδια μπορούν να οξειδωθούν με τρεις κύριους τρόπους που περιλαμβάνουν πολύπλοκες αντιδράσεις: αυτοοξείδωση, ενζυμική-καταλυόμενη οξείδωση και φωτο-οξείδωση. Μεταξύ των τριών μηχανισμών, η αυτοοξείδωση, η οποία είναι μια συνεχής αλυσιδωτή αντίδραση ελεύθερων ριζών, είναι η σημαντικότερη διαδικασία οξείδωσης των λιπιδίων σε προϊόντα κρέατος.

Όπως σχολιάστηκε παραπάνω, η αυτοοξείδωση είναι η κύρια διαδικασία με την οποία τα ακόρεστα λιπαρά οξέα και το οξυγόνο αλληλεπιδρούν και, ως εκ τούτου, προκαλούν οξειδωτική αλλοίωση του κρέατος και των προϊόντων κρέατος. Συνήθως, η διαδικασία αυτοοξείδωσης παρουσιάζεται ως συνδυασμός τριών διακριτών φάσεων: Η έναρξη κατά την οποία εμφανίζονται ελεύθερες ρίζες, η διάδοση κατά την οποία ο αριθμός των αντιδραστικών ενώσεων πολλαπλασιάζεται, και τέλος ο τερματισμός κατά τον οποίο οι αντιδραστικές ενώσεις αποικοδομούνται ή αντιδρούν μεταξύ τους για να δώσουν μη αντιδραστικές ενώσεις (Laguette et al., 2007).

3.1.1. Έναρξη

Η οξείδωση των λιπαρών υλών ξεκινάει αρχικά με τη δημιουργία ελευθέρων ριζών, οι οποίες σχηματίζονται από την επαφή του ακόρεστου λιπιδίου με το οξυγόνο. Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια που περιέχουν ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο γεγονός που τις καθιστά πολύ ασταθείς και δραστικές. Κατά την φάση της έναρξης, οι αντιδράσεις γίνονται είτε με προσθήκη μιας ρίζας στον διπλό δεσμό του ακόρεστου λιπαρού οξέος είτε με αφαίρεση μιας ρίζας υδρογόνου από μία μεθυλική ομάδα (Laguette et al., 2007). Η αντίδραση γίνεται ως εξής: $RH \rightarrow R\bullet + H\bullet$. Αυτή η αντίδραση για την παραγωγή της $R\bullet$ επιταχύνεται συνήθως από την αύξηση της θερμοκρασίας, το φως καθώς και την παρουσία ιχνών μετάλλων.

Κατά την έναρξη, μέσω διαφόρων αντιδράσεων όπως, η αντίδραση του απλού οξυγόνου με ακόρεστα λίπη, παράγονται υδρουπεροξειδία τα οποία συμμετέχουν στην οξείδωση δίνοντας ρίζες, σύμφωνα με τις αντιδράσεις: $ROOH \rightarrow RO\bullet + HO\bullet$ και $2ROOH \rightarrow RO\bullet + ROO\bullet + H_2O$ (Τσάκνης, 2018)

Η διαδικασία οξείδωσης παραμένει αργή κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης. Στο τέλος της περιόδου έναρξης, η οξείδωση επιταχύνεται ξαφνικά, η κατανάλωση οξυγόνου γίνεται υψηλή και η περιεκτικότητα σε υπεροξειδία αυξάνεται σημαντικά (Laguerre et al., 2007).

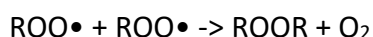
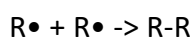
3.1.2. Διάδοση.

Κατά τη φάση της διάδοσης οι ελεύθερες ρίζες μετατρέπονται εκ νέου σε ελεύθερες ρίζες με μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων. Συγκεκριμένα, η ρίζα $R\bullet$ που σχηματίστηκε κατά την έναρξη αντιδρά με το οξυγόνο σχηματίζοντας υπεροξύ-ριζών $ROO\bullet$ σύμφωνα με την αντίδραση: $R\bullet + {}^3O_2 \rightarrow ROO\bullet$. Η αντίδραση αυτή είναι ταχεία με ενέργεια ενεργοποίησης ίση με το μηδέν και η υπεροξειδική ρίζα $-ROO\bullet$ που σχηματίζεται έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση από την ρίζα $-R\bullet$. Στη συνέχεια οι ρίζες $-ROO\bullet$ ξεκινούν μια αλυσιδωτή αντίδραση με άλλα μόρια τριγλυκεριδίων με αποτέλεσμα να σχηματίζονται τα υδρουπεροξειδία των λιπιδίων και οι ελεύθερες ρίζες των λιπιδίων, σύμφωνα με την αντίδραση: $ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet$ (Τσάκνης, 2018).

Η λεγόμενη 'αυτοσυντηρούμενη' αλυσιδωτή αντίδραση των ριζών, είναι μια ταχεία, μη αναστρέψιμη αντίδραση και έχει υπολογιστεί ότι περίπου 25 μόρια λιπαρών οξέων οξειδώνονται κατά τη διάρκεια της φάσης διάδοσης μετά από οξείδωση που ξεκινά από ρίζα. Η φάση της διάδοσης σταματά όταν σχηματιστεί ο μέγιστος αριθμός υπεροξειδίων και ξεκινά η φάση του τερματισμού (Laguerre et al., 2007).

3.1.3. Τερματισμός.

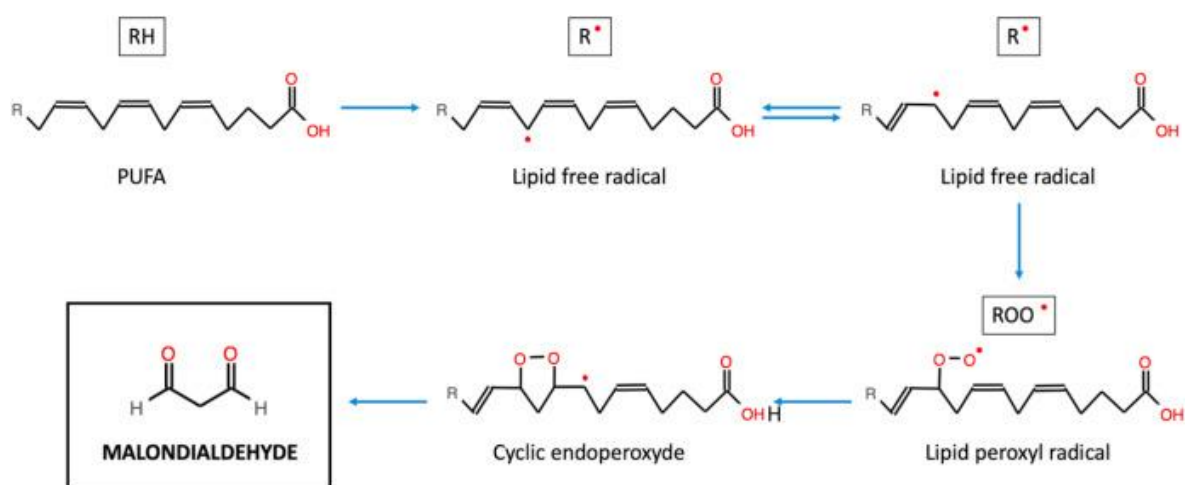
Οι ρίζες, κατά τη φάση του τερματισμού, αντιδρούν με άλλες ρίζες με την ίδια ταχύτητα που αντιδρούν και με το οξυγόνο. Αυτό συμβαίνει διότι, οι ρίζες είναι ηλεκτρικά ουδέτερες, ασταθείς δομικά και έχουν την τάση να αντιδρούν οπουδήποτε είναι δυνατό για τη δημιουργία δεσμού και αυτό τις καθιστά εξαιρετικά ενεργές. Οι αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά των τερματισμό είναι:



3.2. Μηλονική διαλδεΰδη (MDA).

Η μηλονική διαλδεΰδη (MDA) είναι μία από τις πιο άφθονες αλδεΰδες που παράγονται κατά τη διάρκεια της δευτερογενούς οξείδωσης των λιπιδίων και πιθανώς ο πιο συχνά

χρησιμοποιούμενος δείκτης οξείδωσης . Είναι ένα δευτερογενές προϊόν των λιπαρών οξέων με 3 ή παραπάνω διπλούς δεσμούς και ο σχηματισμός της προκύπτει από την αποδόμηση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Η συγκέντρωσή της στα προϊόντα κρέατος μπορεί να φθάσει τα 300 μM ή και περισσότερο. Η MDA έχει αρνητικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό όπως ότι προκαλεί ενδοκυτταρικό οξειδωτικό στρες το οποίο οδηγεί σε βλάβες της μεμβράνης των ερυθρά κύτταρα, είναι επίσης γονοτοξική, αντιδρώντας με το DNA και δημιουργώντας μεταλλάξεις. Η MDA είναι μια εξαιρετικά τοξική ένωση που μπορεί να διαταράξει πολλές φυσιολογικές διαδικασίες στα ζώα και τους ανθρώπους. Ως εκ τούτου, η MDA θεωρείται πιο σημαντική από απλά ένα υποπροϊόν της υπεροξείδωσης των λιπιδίων. Μεταξύ των διαφόρων καρβονυλικών ενώσεων που παράγονται ως δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης των λιπιδίων, η μηλονική αλδεΐδη έχει λάβει ιδιαίτερη προσοχή λόγω του δυνητικού κινδύνου για την υγεία. Μέχρι σήμερα έχει αναπτυχθεί και εφαρμοστεί μια μεγάλη ποικιλία μεθοδολογιών για τον προσδιορισμό τόσο των πρωτογενών όσο και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Οι πιο κοινές μέθοδοι και οι κλασικές διαδικασίες περιγράφονται, όπως η τιμή υπεροξειδίου, η ανάλυση TBARS και η χρωματογραφία. Η πιο διαδεδομένα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό της MDA είναι ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός του ροζ φθορίζοντος συμπλόκου MDA-θειοβαρβιτουρικού οξέος (MDA-TBA) που παράγεται μετά από αντίδραση της με 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA) σε χαμηλό pH και υψηλή θερμοκρασία (Reitznerova et al., 2017).



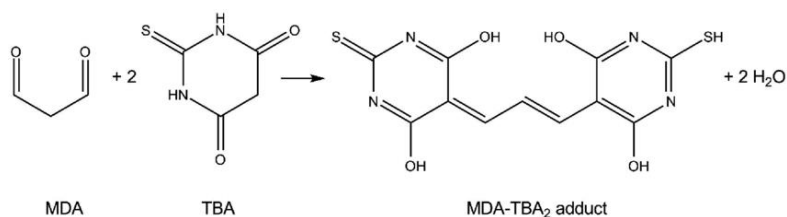
Εικόνα 1 Σχηματισμός μηλονικής διαλδεΐδης (MDA)

3.3. Αντίδραση του Θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA).

Μία από τις κλασικές μεθόδους για την αξιολόγηση της οξειδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα είναι η δοκιμή TBA, όπου τα δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης των λιπιδίων των τροφίμων, όπως η μηλονική διαλδεΐδη (MDA), αντιδρούν με 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ και παράγουν ένα χρωμοφόρο σύμπλοκο που απορροφά στα 532 nm. Ο όρος TBA-αντιδρώσες ουσίες (TBARS) χρησιμοποιείται αρκετά, αντικατοπτρίζοντας το γεγονός ότι όχι μόνο η MDA αλλά και διάφορες άλλες αλδεΐδες και προϊόντα οξειδωσης μπορούν να αντιδράσουν με το 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ. Επομένως, παρόλο που τα αποτελέσματα της δοκιμής TBA εκφράζονται συνήθως ως χιλιοστόγραμμα MDA ανά χιλιόγραμμο, αντανακλούν τη συνολική κατάσταση οξειδωσης του τροφίμου που περιλαμβάνει πολλά δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης των λιπιδίων (Katsanidis et al., 2023).

Ο ρυθμός της αντίδρασης της MDA με το TBA εξαρτάται από τη συγκέντρωση του TBA, το pH και τη θερμοκρασία. Η MDA μπορεί να εκχυλιστεί με απόσταξη ή με διάλυμα οξέος πριν από την αντίδραση με το TBA. Η όξινη εκχύλιση χρησιμοποιείται κυρίως για ωμό και μαγειρεμένο κρέας, όπου χρησιμοποιείται 7,5% TCA. Στη μέθοδο άμεσης αντίδρασης, ένα διάλυμα TBA/TCA προστίθεται σε όγκο ομογενοποιημένου δείγματος και αντιδρά με την MDA σε θερμοκρασία βρασμού για 15 λεπτά. Το χρώμα που σχηματίζεται συλλέγεται μετά από φυγοκέντρηση και η απορρόφηση μετράται με τη χρήση φασματοφωτόμετρου στα 532 nm. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της MDA στο κρέας πραγματοποιείται με τη χρήση μιας πρότυπης καμπύλης και εκφράζεται ως mg MDA/kg τροφίμου.

Η μέθοδος TBA είναι εύκολη, απλή, χαμηλού κόστους και έχει καλή επαναληψιμότητα. Ωστόσο, το μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το TBA μπορεί να αντιδράσει με άλλες οξειδωμένες ενώσεις σε στο τρόφιμο και να παράγει ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Τα νιτρώδη, για παράδειγμα, που χρησιμοποιούνται στα παστεριωμένα προϊόντα κρέατος μπορούν να αντιδράσουν με την MDA υπό όξινες συνθήκες (Abeyrathne et al., 2021).



Εικόνα 2 Αντίδραση MDA-TBA

4. Σκοπός πειραμάτων

Ξεκινώντας, στο πείραμα αναλύθηκαν δείγματα μπέικον και καπρικού. Το καπρικό είναι αλλαντικό όπως το μπέικον, με τη διαφορά ότι δεν περιέχει νιτρικά άλατα. Τα νιτρικά άλατα χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία του κρέατος διότι συμβάλλουν σημαντικά τόσο στην βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, όσο και στην ασφάλεια των κρεατοσκευασμάτων. Τα νιτρικά και νιτρώδη άλατα συμβάλουν στην σταθερότητα του ερυθρού χρώματος, στην ανάπτυξη και διατήρηση του ιδιαίτερου αρώματος, αλλά και στον έλεγχο της οξειδωσης του λίπους. Τα άλατα αυτά έχουν ακόμη σημαντική βακτηριοστατική και βακτηριοκτόνο δράση έναντι αλλοιογόνων αλλά και σημαντικών παθογόνων μικροοργανισμών που μπορεί να αναπτυχθούν σε προϊόντα κρέατος. Από τις πιο σημαντικές δράσεις τους είναι η αναστολή της ανάπτυξης και της παραγωγής τοξίνης από το *Clostridium botulinum* (Govari, et al., 2015)

Κατά το πρώτο πειραματικό μέρος, τα δείγματα μπέικον και καπρικού συσκευασμένα υπό κενό, τοποθετήθηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες, 5, 10, 15°C. Η θερμοκρασία των 5°C είναι η θερμοκρασία ψύξης που συντηρούνται συνήθως τα τρόφιμα για αυτό και επιλέχθηκε. Οι άλλες δυο θερμοκρασίες επιλέχθηκαν για τη παρακολούθηση της αλλοίωσης σε υψηλότερες θερμοκρασίες από αυτή της ψύξης. Ανά χρονικά διαστήματα, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης και τα δείγματα μπέικον αναλύθηκαν μικροβιολογικά. Ύστερα από κάθε δειγματοληψία, μετρήθηκε το pH των δειγμάτων μπέικον και των δειγμάτων καπρικού. Το χρονικό διάστημα που μεσολαβούσε ανάμεσα στις δειγματοληψίες άλλαζε για κάθε διαφορετική θερμοκρασία. Σκοπός του πρώτου αυτού πειράματος, ήταν η παρακολούθηση της ανάπτυξης των ψυχρότροφων βακτηρίων στα δείγματα και η μεταβολή του pH σε συνάρτηση με το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης.

Όσον αφορά το δεύτερο πειραματικό μέρος, τα δείγματα μπέικον και καπρικού στο τέλος κάθε δειγματοληψίας, συσκευάστηκαν εκ νέου υπό κενό και τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη. Ύστερα, έγινε απόψυξη και υποβλήθηκαν σε ανάλυση TBA. Σκοπός της ανάλυσης αυτής ήταν η αξιολόγηση του βαθμού οξειδωσης του λίπους του μπέικον και του καπρικού.

5. Υλικά και μέθοδοι

5.1. Πείραμα 1^ο : Μικροβιολογικές αναλύσεις και μέτρηση pH.

5.1.1. Προετοιμασία θρεπτικών υποστρωμάτων PCA, MRS.

Υλικά και Εξοπλισμός:

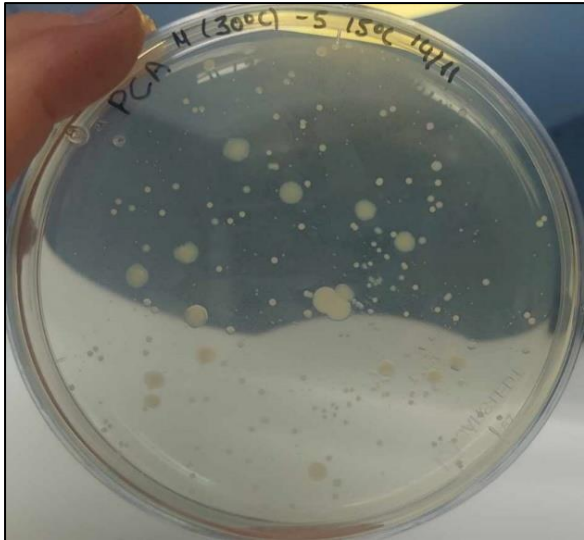
- Ζυγός ακριβείας (Chyo Balance Corp. 69255).
- Γυάλινη φιάλη 500 ml.
- Μεταλλική σπάτουλα.
- Δοκιμαστικός σωλήνας 1L.
- Γυάλινη ράβδος για ανάδευση.
- Τρυβλία Petri 90 x 14 mm (delta lab).
- Απιονισμένο νερό.
- Υδατόλουτρο.
- Αποστειρωτήρας.
- Υποστρώματα PCA, MRS agar .

Τρόπος παρασκευής.

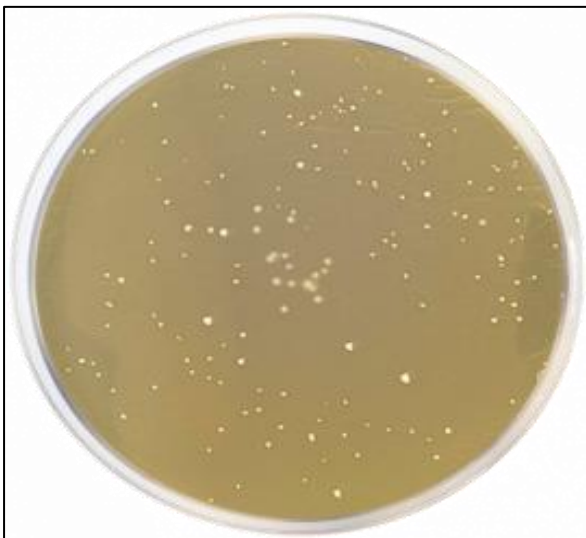
Για την παρασκευή του υποστρώματος PCA, προστίθενται 22,5 g υποστρώματος σε 1 L απιονισμένο νερό, στη συνέχεια με θέρμανση και συχνή ανάδευση γίνεται η πλήρης διαλυτοποίησή του. Σε περίπτωση που το στερεό υπόστρωμα δεν έχει διαλυθεί απόλυτα στο νερό μετά τον βρασμό, τοποθετείται σε φούρνο μικροκυμάτων για ένα λεπτό. Για την αποστείρωση, τοποθετείται σε αυτόκλειστο για 15 λεπτά και σε θερμοκρασία 121° C ενώ, στην συνέχεια ψύχεται στους 44-47 °C μέσα στο υδατόλουτρο. Πριν κρυώσει και σταθεροποιηθεί, τοποθετείται σε τρυβλία petri . Αφού σταθεροποιηθεί διατηρείται σε ψυγείο στους 5 °C. Το χρώμα του υποστρώματος PCA είναι ανοιχτό κίτρινο.

Για την παρασκευή του υποστρώματος MRS, 62 g υποστρώματος προστίθενται σε 1L απιονισμένο νερό, ακολουθεί θέρμανση και συχνή ανάδευση για πλήρη διάλυση του. Σε περίπτωση που το στερεό υπόστρωμα δεν έχει διαλυθεί απόλυτα στο νερό μετά τον βρασμό, τοποθετείται σε φούρνο μικροκυμάτων για ένα λεπτό. Για την αποστείρωση, τοποθετείται σε αυτόκλειστο για 15 λεπτά και σε θερμοκρασία 121 °C και στην συνέχεια ψύχεται στους

45-50°C μέσα στο υδατόλουτρο. Πριν κρυώσει και σταθεροποιηθεί, τοποθετείται σε τρυβλία petri. Αφού σταθεροποιηθεί διατηρείται σε ψυγείο στους 5 °C. Το χρώμα του υποστρώματος MRS είναι κίτρινο.



Εικόνα 3 Αποικίες σε υπόστρωμα PCA



Εικόνα 4 Αποικίες σε υπόστρωμα MRS

5.1.2. Παρασκευή αραιωτικού υγρού Ringer.

Το διάλυμα του Ringer αναπτύχθηκε από τον Sydney Ringer, έναν ιατρό, το 1870. Είναι ένα ισοτονικό διάλυμα και περιέχει χλωριούχο νάτριο, χλωριούχο κάλιο και χλωριούχο ασβέστιο. Προκειμένου να διατηρηθεί το pH σταθερό, περιέχει και ρυθμιστικούς παράγοντες όπως το διττανθρακικό νάτριο. Έχει ευρεία εφαρμογή στην ιατρική και στην βιολογία. Στις μικροβιολογικές αναλύσεις χρησιμοποιείται ως αραιωτικό υγρό (Moore, 2011).

Υλικά και Σκεύη :

- Ογκομετρική φιάλη του 1L.
- Πιπέτα των 1000 μ L με τα αντίστοιχα τιπς.
- Απιονισμένο νερό.
- Μητρικό αραιωτικό διάλυμα Ringer.
- Μπουκαλάκια.
- Γυάλινες φιάλες των 250 ml.
- Αποστειρωτήρας τύπου αυτόκλειστο
- Ζυγός ακριβείας (Chyo Balance Corp. 69255)

Τρόπος παρασκευής.

Για την παρασκευή αραιωτικού υγρού Ringer, σε μία ογκομετρική φιάλη προστίθενται 1,25 ml μητρικού διαλύματος Ringer και συμπληρώνεται απιονισμένο νερό έως τη χαραγή. Ακολουθεί ανακίνηση. Από το διάλυμα που προέκυψε, σε μικρά μπουκαλάκια προστίθενται 9ml. Τα μπουκαλάκια αυτά με το διάλυμα προορίζονται για τις αραιώσεις. Στις φιάλες των 250 ml προστίθενται 225 ml του διαλύματος Ringer που προέκυψε. Οι φιάλες αυτές με το υγρό προορίζονται για την πρώτη αραιώση. Τέλος, όλοι οι περιέκτες με το διάλυμα, τοποθετούνται στο αυτόκλειστο για αποστείρωση. Η αποστείρωση γίνεται σε θερμοκρασία 121°C για 45 λεπτά.

5.1.3. Δειγματοληψία.

Υλικά και Σκεύη

- Ζυγός ακριβείας (Chyo Balance Corp. 69255)
- Ψαλίδι.

- Σπάτουλα.
- Κουτάλι
- Αραιωτικό υγρό Ringer στα μικρά φιαλίδια και σε φιάλες 250ml.
- Μπλέντερ εργαστηρίου.
- Λαβίδα.
- Σακούλες Stomacher με φίλτρο.
- Λυχνία φλόγας.
- Laboratory Blender Stomacher 400.
- Διάλυμα αλκοόλης 70%.
- Πιπέτα Pasteur 1000 μ L και τα αντίστοιχα τιπς.
- Vortex-Genie 2, model G-560E, Scientific Industries INC, USA.

Πειραματική Πορεία.

Αρχικά, ανάβουν οι λυχνίες φλόγας και γίνεται απολύμανση του πάγκου, έτσι ώστε να επικρατούν ασηπτικές συνθήκες πειράματος. Ιδιαίτερη προσοχή, οι λυχνίες δεν πρέπει σε καμία περίπτωση να σβήσουν την ώρα της δειγματοληψίας. Με ένα ψαλίδι, το οποίο έχει υποστεί καυτηριασμό στη λυχνία, ανοίγεται η συσκευασία που περιέχει το δείγμα και με μια λαβίδα, επίσης καυτηριασμένη, το δείγμα τοποθετείται σε εργαστηριακό μπλέντερ. Στη συνέχεια, τεμαχίζεται μέσα στο μπλέντερ για κάποια δευτερόλεπτα έως ότου, να διαλυθούν και να μην υπάρχουν μεγάλα κομμάτια. Με μεταλλικό κουτάλι, το οποίο προηγουμένως εμποτίστηκε με την αλκοόλη 70% και καυτηριάστηκε, λαμβάνονται 25 g τεμαχισμένου δείγματος και τοποθετούνται σε σακούλα Stomacher. Έπειτα, στη σακούλα γίνεται προσθήκη 225 ml του διαλύματος Ringer, από τις φιάλες των 500 ml, που είχε προηγουμένως παρασκευαστεί. Η σακούλα τοποθετείται στη συσκευή Laboratory Blender Stomacher 400 για 30 δευτερόλεπτα με σκοπό την ομογενοποίηση του δείγματος με το διάλυμα Ringer. Η σακούλα με το ομογενοποιημένο δείγμα αποτελεί την αραιώση 10^{-1} . Από την αραιώση, λοιπόν αυτή, ξεκινάν και οι υπόλοιπες αραιώσεις. Με την πιπέτα των 1000 μ L, λαμβάνονται από τη σακούλα 1000 μ L και ενσωματώνονται στα μικρά φιαλίδια που περιέχουν 9ml διαλύματος Ringer που παρασκευάστηκε προηγουμένως. Ακολουθεί καλή ανακίνηση στη συσκευή Vortex, ώστε να γίνει ομοιόμορφη κατανομή των μικροβίων. Για την επόμενη αραιώση λαμβάνονται 1000 μ L και μεταφέρονται στο επόμενο μικρό φιαλίδιο. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου να παρασκευαστούν όλες οι επιθυμητές αραιώσεις, αλλάζοντας τα τιπς της πιπέτας μετά το τέλος κάθε αραιώσης. Προσοχή, τα μικρα φιαλίδια πρέπει να

είναι σε αριθμό ένα λιγότερο από όσες είναι οι επιθυμητές αραιώσεις διότι, η σακούλα αποτελεί την αραιώση 10^{-1} .

Αξίζει να σημειωθεί ότι η δειγματοληψία είναι σημαντικό σημείο στις μικροβιολογικές αναλύσεις. Για να προκύψουν ακριβή και αληθινά αποτελέσματα είναι αναγκαίο η δειγματοληψία να γίνει σωστά και τα δείγματα να είναι όσο το δυνατό πιο αντιπροσωπευτικά. Στο παρόν πείραμα, λαμβάνονταν 1 ή 2 συσκευασίες μπέικον και καπρικού από κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης. Αρχικά, είχαν αναλυθεί τα δείγματα μόλις τα παραλάβαμε, ώστε να αποτελούν το μέτρο σύγκρισης.

Τα δείγματα του μπέικον είχαν ημερομηνία παραγωγής 13/10/2022 και λήξης 22/12/2022.

Τα δείγματα του καπρικού είχαν ημερομηνία παραγωγής 13/10/2022 και λήξης 11/01/2022.

5.1.4. Εμβολιασμός υποστρωμάτων και επώαση.

Υλικά και Σκεύη.

- Διάλυμα αλκοόλης 70%.



Εικόνα 6 Δείγμα Μπέικον.



Εικόνα 5 Δείγμα καπρικού.

- Πιπέτα Pasteur 1000 μ L με τα αντίστοιχα τιπς.
- Γυάλινη Ράβδος.
- Vortex-Genie 2, model G-560E, Scientific Industries INC, USA.
- Ποτήρι ζέσεως.
- Λίχνοι.
- Vortex-Genie 2, model G-560E, Scientific Industries INC, USA.

- Επωαστήρας Memmert.
- Δοχείο για αναερόβιες συνθήκες.

Μέθοδος Επιφανειακής Εξάπλωσης.

Αρχικά, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, πρέπει στο χώρο να υπάρχουν αναμμένες λύχνοι ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνση. Σε ποτήρι ζέσεως που περιέχει την αλκοόλη 70%, τοποθετείται η γυάλινη ράβδος. Με την πιπέτα Pasteur λαμβάνονται 0,1 ml δείγματος από τα μικρά φιαλίδια, αφού πρώτα γίνει καλή ανάδευση στη συσκευή Vortex. Τα 0,1 ml τοποθετούνται στο θρεπτικό υπόστρωμα. Στη συνέχεια, η γυάλινη ράβδος την καυτηριάζεται στη φλόγα έως ότου να εξατμιστεί η αλκοόλη και να αποστειρωθεί. Η ράβδος ακουμπά στην άκρη του υποστρώματος ώστε να κρυσώσει, διότι εάν γίνει η εξάπλωση την ώρα που είναι καυτή, οι μικροοργανισμοί θα θανατωθούν και δεν θα υπάρξουν αποικίες. Τα 0,1 ml, με κυκλικές κινήσεις, εξαπλώνονται στο υπόστρωμα. Με το τέλος της διαδικασίας αυτής, τα τρυβλία αφήνονται να στεγνώσουν και στη συνέχεια τοποθετούνται στον επωαστήρα Memmert, στους 10° C και αφήνονται για επώαση 5 ημέρες. Τα τρυβλία με το υπόστρωμα MRS τοποθετούνται σε ειδικό δοχείο που εξασφαλίζει αναερόβιες συνθήκες.



Εικόνα 7 Δοχείο για αναερόβιες συνθήκες.

5.1.5. Καταμέτρηση των αποικιών που σχηματίστηκαν.

Υλικά-Όργανα.

- Υαλογραφικός μαρκαδόρος.
- Μηχάνημα καταμέτρησης αποικιών (Colony Counter, SC6, BioCote).

Μέθοδος Καταμέτρησης αποικιών.

Μετά την επώαση και τον σχηματισμό των αποικιών στα θρεπτικά υποστρώματα γίνεται η καταμέτρησή τους. Τα τρυβλία, ένα-ένα, τοποθετούνται στη βάση του μηχανήματος καταμέτρησης. Με τον υαλογραφικό μαρκαδόρο χρωματίζεται κάθε αποικία. Το μηχάνημα μετρά αυτόματα κάθε άγγιγμα του μαρκαδόρου στο τρυβλίο. Επομένως, όταν πλέον έχουν χρωματιστεί όλες οι αποικίες, το μηχάνημα δίνει τον τελικό αριθμό τους.

Για τον υπολογισμό του τελικού αποτελέσματος, επιλέγονται τα τρυβλία που έχουν αριθμό αποικιών μεγαλύτερο από 30 και μικρότερο από 300. Στην περίπτωση που όλα τα τρυβλία είναι εκτός ορίων, επιλέγεται εκείνο που είναι πιο κοντά στα όρια. Ακόμη, εάν 2 ή παραπάνω τρυβλία είναι εντός ορίων, για τους υπολογισμούς υπολογίζεται ο μέσος όρος τους. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε Μονάδες Σχηματισμού Αποικιών (Colony Forming Units - CFU) / g ή ml δείγματος.

5.1.6. Μέτρηση pH.

Υλικά-Όργανα.

- Συσκευή μέτρησης pH Crison pH Meter GLP 21.
- Ποτήρι ζέσεως.
- Υδροβολές με απιονισμένο νερό.
- Χαρτί απορροφητικό.
- Σακούλα Stomacher με το ομογενοποιημένο δείγμα.

Διαδικασία Μέτρησης pH.

Στη σακούλα Stomacher, που περιέχει το ομογενοποιημένο δείγμα, τοποθετείται το ηλεκτρόδιο που μετρά το pH. Στη συνέχεια, πατώντας το κουμπί ENT και ύστερα από κάποια δευτερόλεπτα, λαμβάνεται η τιμή του pH στη συγκεκριμένη θερμοκρασία που επικρατεί κατά τη διεξαγωγή του πειράματος. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται 3 φορές και λαμβάνεται ο ηλεκτρόδιο να ξεπλένεται επαρκώς με υδροβολέα που περιέχει απιονισμένο νερό και να σκουπίζεται με απορροφητικό χαρτί. Είναι σημαντικό πριν από κάθε μέτρηση να γίνεται έλεγχος του pHμέτρου για να διαπιστωθεί εάν χρήζει βαθμονόμησης. Σε περίπτωση που είναι αναγκαία η βαθμονόμηση (ένδειξη του μηχανήματος), γίνεται χρήση δύο buffer

βαθμονόμησης με pH 7 και 4. μέσος όρος των τριών τιμών που λήφθηκαν. Ανάμεσα στις επαναλήψεις, πρέπει το Αρχικά, το ηλεκτρόδιο, αφού έχει καθαριστεί σχολαστικά, τοποθετείται στο buffer με pH 7 έως ότου να σταθεροποιηθεί η τιμή και να εμφανιστεί η ένδειξη επιτυχούς βαθμονόμησης. Ομοίως, αφού καθαριστεί ξανά το ηλεκτρόδιο τοποθετείται στο buffer με pH 4 έως ότου να εμφανιστεί η ένδειξη επιτυχούς βαθμονόμησης.



Εικόνα 8 pHμετρο.

5.2. 2^ο πείραμα: Δοκιμή TBA.

Μετά το τέλος κάθε μικροβιολογικής ανάλυσης, κάθε δείγμα τοποθετήθηκε στην κατάψυξη έτσι ώστε να γίνει και δοκιμή TBA και να διαπιστωθεί ο βαθμός οξείδωσης του λίπους. Επομένως, τα δείγματα που εξετάστηκαν ήταν μπέικον και καπρικό, που προήλθαν από διαφορετικές θερμοκρασίες (5, 10, 15 °C) πριν την κατάψυξη.

5.2.1. Παρασκευή διαλύματος TBA.

Υλικά - Σκεύη

- Τριχλωροξικό οξύ (TCA).
- Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA).
- Πυκνό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 37% (HCl).
- Απιονισμένο νερό.
- Γυάλινη φιάλη των 500 ml.
- Μεταλλική σπάτουλα.
- Ζυγός ακριβείας Chgo JL-180.

- Μαγνητικοί αναδευτήρες
- Θερμαντική πλάκα με μαγνήτη.

Τρόπος παρασκευής.

Αρχικά, με μια μεταλλική σπάτουλα ζυγίζονται στον ζυγό ακριβείας Chyo JL-180, 15g TCA και 0,375g TBA και προστίθενται σε γυάλινη φιάλη των 500 ml. Στη συνέχεια, προστίθενται 1,76 ml πυκνού HCl 37% και 82,9 ml απιονισμένου νερού. Στη φιάλη τοποθετούνται σε μαγνητικούς αναδευτήρες με θέρμανση. Οι μαγνητικοί αναδευτήρες ξεκινούν να περιστρέφονται βοηθώντας έτσι, την αποτελεσματικότερη διάλυση όλων των συστατικών του μίγματος. Το μίγμα αφήνεται για θέρμανση και ανάδευση έως ότου διαλυθούν όλα τα συστατικά και προκύψει ένα διαυγές διάλυμα.

5.2.2. Δοκιμή TBA.

Υλικά – Όργανα – Σκεύη.

- Μίξερ
- Απιονισμένο νερό.
- Ζυγός ακριβείας (Chyo Balance Corp. 69255).
- Κουτάλι.
- Πλαστικά φιαλίδια με πώμα Falcon.
- TBA διάλυμα.
- Στατώ.
- Πιπέτα Pasteur 1000μL με τα αντίστοιχα τυπς.
- Υδατόλουτρο witeg.
- Λεκάνη με νερό βρύσης.
- Φυγόκεντρος Thermo SCIENTIFIC.
- Κυψελίδες χαλαζία.
- Φασματοφωτόμετρο SPECTRO PHOTOMETER SPECTRO 23.

Πειραματική πορεία.

Αφού τα δείγματα αποψυχθούν, ζυγίζονται 10 gr από κάθε δείγμα και τοποθετούνται μέσα στο εργαστηριακό μίξερ μαζί με 30 ml απιονισμένο νερό και ομογενοποιούνται. Με μια πιπέτα Pasteur, λαμβάνεται 1 ml ομογενοποιημένου δείγματος και φέρεται σε πλαστικό φιαλίδιο Falcon. Σε κάθε φιαλίδιο προστίθενται 2 ml διαλύματος TBA, που είχε παρασκευαστεί προηγουμένως, και γίνεται ανάδευση. Σε ένα φιαλίδιο δεν τοποθετείται 1 ml δείγματος, αλλά 1 ml απιονισμένο νερό και 2 ml TBA. Αυτό το φιαλίδιο περιέχει μέσα το τυφλό διάλυμα που θα χρησιμοποιηθεί στην φασματοφωτομέτρηση. Τα φιαλίδια που περιέχουν τα δείγματα στη συνέχεια μεταφέρονται με την βοήθεια στατώ και τοποθετούνται μέσα στο υδατόλουτρο. Η θερμοκρασία του υδατόλουτρου πρέπει να είναι 98°C. Τα δείγματα αφήνονται για 15 λεπτά. Υπάρχει αλλαγή χρώματος. Μετά τα 15 λεπτά τα δείγματα μεταφέρονται σε μια λεκάνη με νερό βρύσης με σκοπό να ψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Επόμενο βήμα είναι η φυγοκέντρηση σε 10.000g για 15 λεπτά στη φυγόκεντρο Thermo SCIENTIFIC. Το φιαλίδιο που περιέχει το τυφλό διάλυμα δεν φυγοκεντρείται. Μετά το τέλος της φυγοκέντρησης με πιπέτα Pasteur, το διαυγές διάλυμα που προέκυψε μεταφέρεται σε κυψελίδες χαλαζία και ακολουθεί φασματοφωτομέτρηση στα 532 nm. Προσοχή, η μεταφορά πρέπει να γίνει προσεκτικά έτσι ώστε, να μην υπάρξουν στερεά κομμάτια στις κυψελίδες διότι θα προκύψει πειραματικό σφάλμα κατά τη φασματοφωτομέτρηση.

Φασματοφωτομέτρηση: Αρχικά ρυθμίζεται το φασματοφωτόμετρο στα 532 nm. Η τιμή αυτή του μήκους κύματος αποτελεί το λ βέλτιστο που απορροφά η μηλονική διαλδεΐδη και έχει προκύψει από την πρότυπη καμπύλη απορρόφησης που βρέθηκε από τη βιβλιογραφία. Το μηχάνημα μηδενίζεται με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση του τυφλού διαλύματος, έτσι ώστε να χρησιμοποιηθεί έπειτα στους υπολογισμούς. Κάθε κυψελίδα που περιέχει διαφορετικό δείγμα τοποθετείται στην ειδική θέση μέσα στο φασματοφωτόμετρο. Η τιμή απορρόφησης λαμβάνεται ύστερα από λίγα δευτερόλεπτα όταν σταθεροποιηθεί. Καταγράφονται όλες οι τιμές απορρόφησης. Μετά το τέλος της διαδικασίας είναι απαραίτητο το σωστό ξέπλυμα των κυψελίδων διότι δεν είναι μιας χρήσεως.

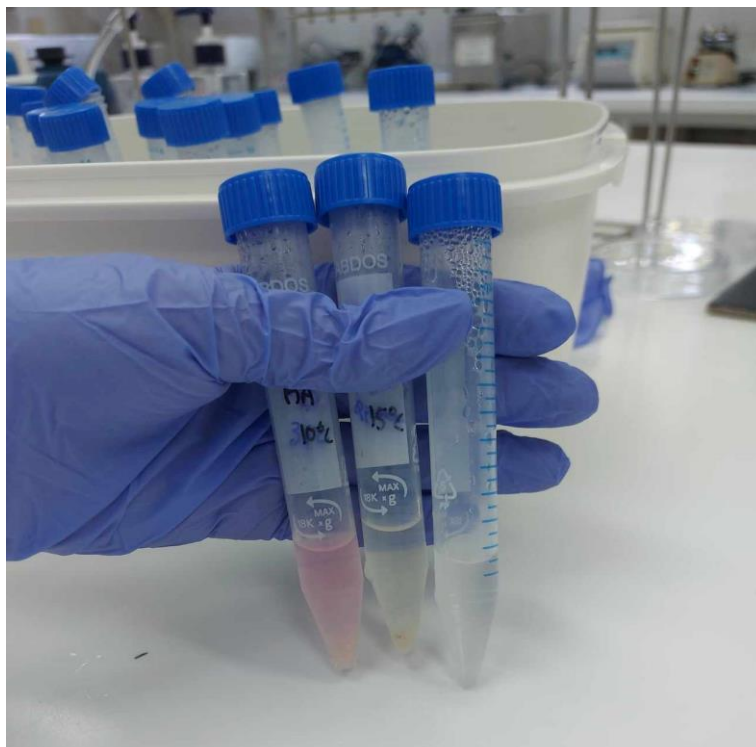
Για του υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης της μηλονικής διαλδεΐδης που υπάρχει στην βιβλιογραφία και είναι η:

$C = A - 0,017 / 0,1513 \text{ mmol MDA} / L$, όπου A η απορρόφηση που καταγράφηκε.

Επειδή ωστόσο τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg MDA/kg προϊόντος πρέπει να γίνει η μετατροπή ως εξής: $220 \times 9 \times C / 1000$.



Εικόνα 9 Τα δείγματα στο υδατόλουτρο.



Εικόνα 10 Αλλαγή χρώματος μετά την θέρμανση στο υδατόλουτρο.



Εικόνα 11 Το φασματοφωτόμετρο.

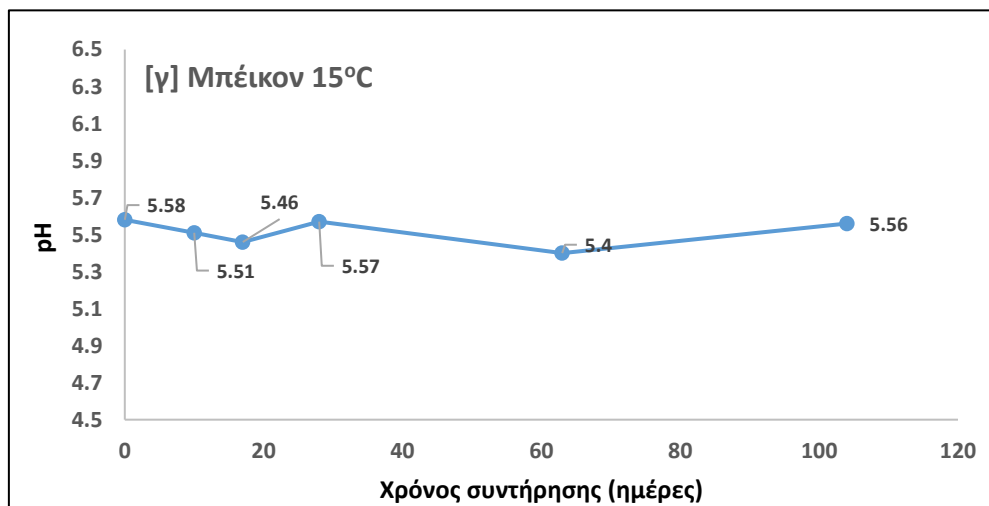
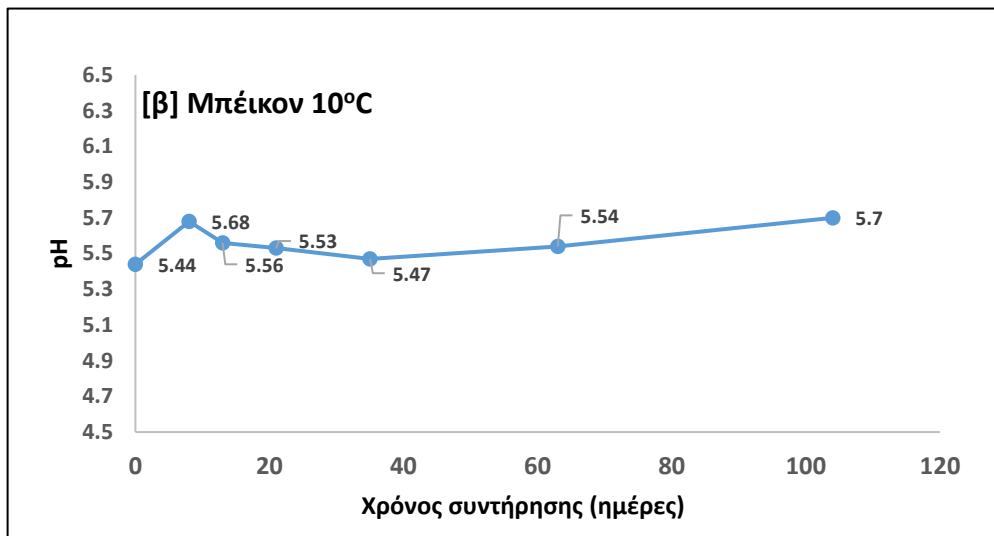
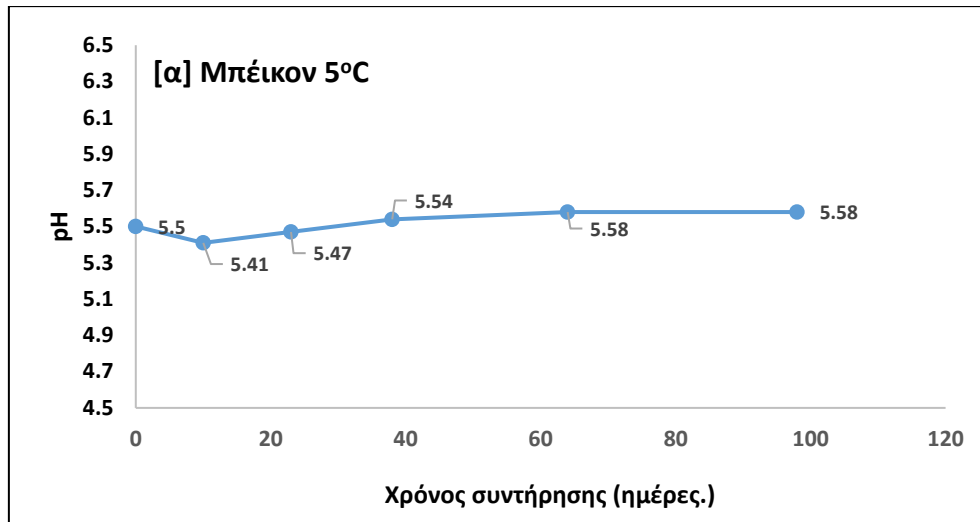
6. Αποτελέσματα

6.1. Αποτελέσματα 1^{ου} πειράματος: Μικροβιολογικές Αναλύσεις και μέτρηση pH.

6.1.1. Μεταβολές του pH σε μπέικον σε θερμοκρασίες συντήρησης 5°C, 10°C, και 15°C.

Ακολουθεί σειρά διαγραμμάτων στα όποια παρουσιάζεται η μεταβολή της τιμής του pH στα προϊόντα μπέικον και καπρικού συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασίες συντήρησης 5°C, 10°C και 15°C.

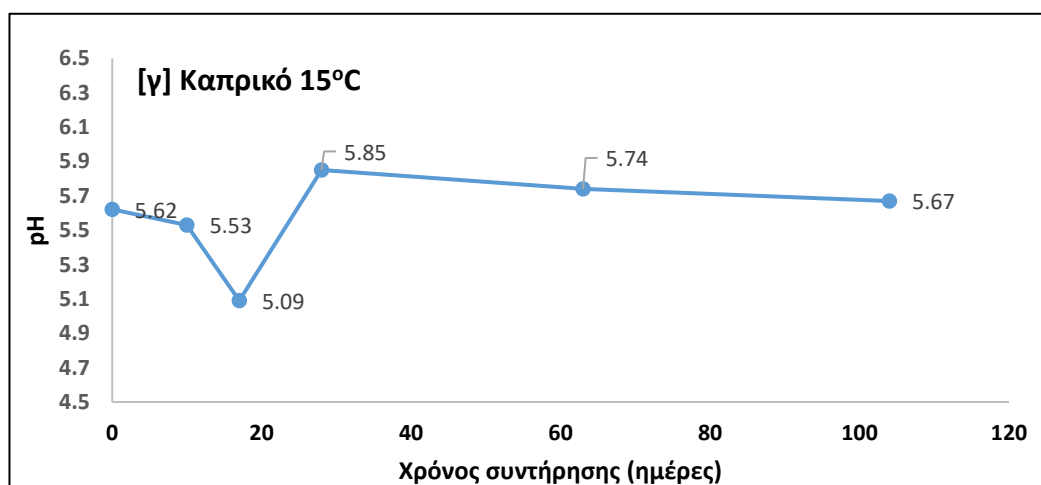
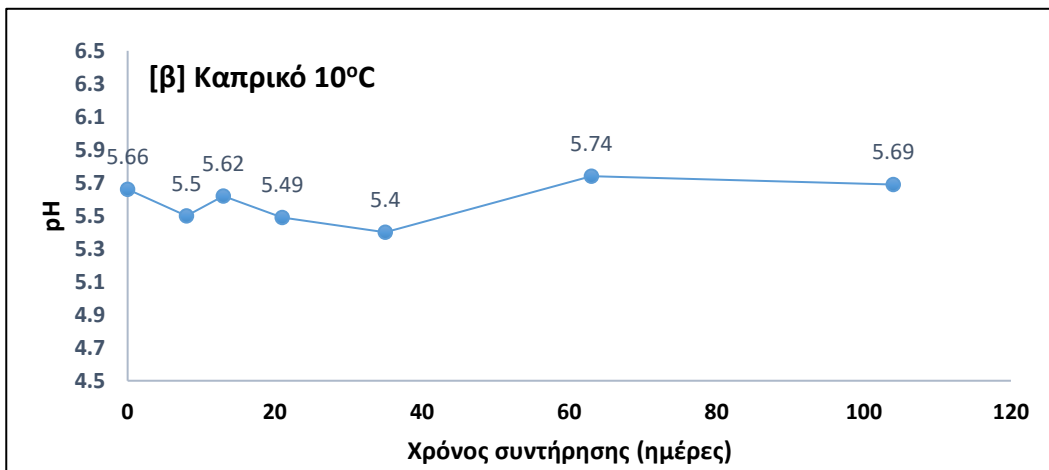
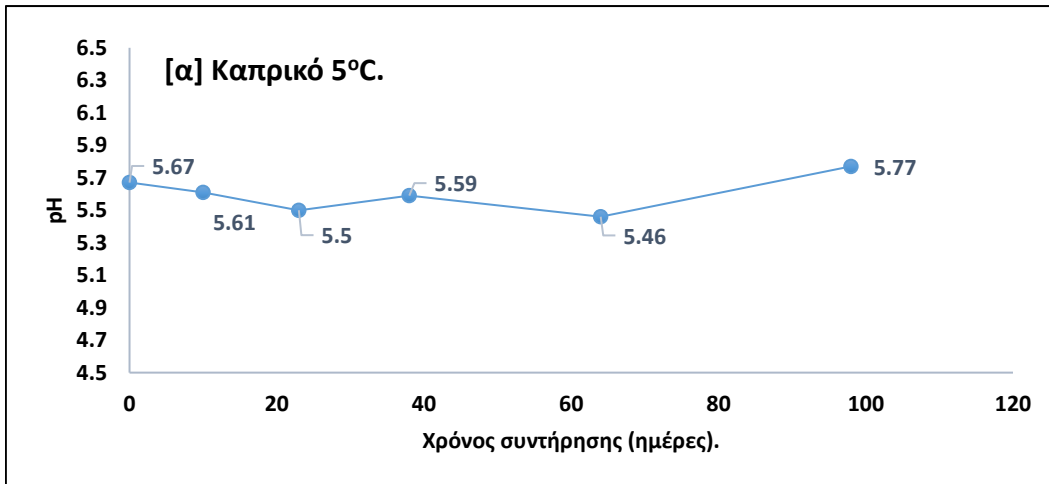
Στο **Διάγραμμα 1** παρουσιάζεται η μεταβολή του pH των δειγμάτων του μπέικον σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες, (α) 5°C, (β) 10°C και (γ) 15°C. Οι αρχικές τιμές pH των δειγμάτων βρίσκονταν στην περιοχή από 5.4 έως 5.6. Αυτό είναι μάλλον αναμενόμενο δεδομένου ότι η αρχική τιμή pH του κρέατος είναι από 5,5 έως 5,8. Κατά τη διάρκεια της συντήρησης η τιμή pH των δειγμάτων δεν παρουσίασε αξιόλογη μεταβολή και βρισκόταν στην περιοχή 5.56 και 5.8.



Διάγραμμα 1 Μεταβολή του pH στα δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασίες συντήρησης (α) 5°C, (β) 10°C και (γ) 15°C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

6.1.2. Μεταβολές του pH σε καπρικό σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 5°C, 10°C, και 15°C.

Στην ακόλουθη σειρά διαγραμμάτων (Διάγραμμα 2) που παρουσιάζει την εξέλιξη των τιμών pH σε δείγματα καπρικό που συντηρούταν ισόθερμα σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (5°C, 10°C και 15°C).

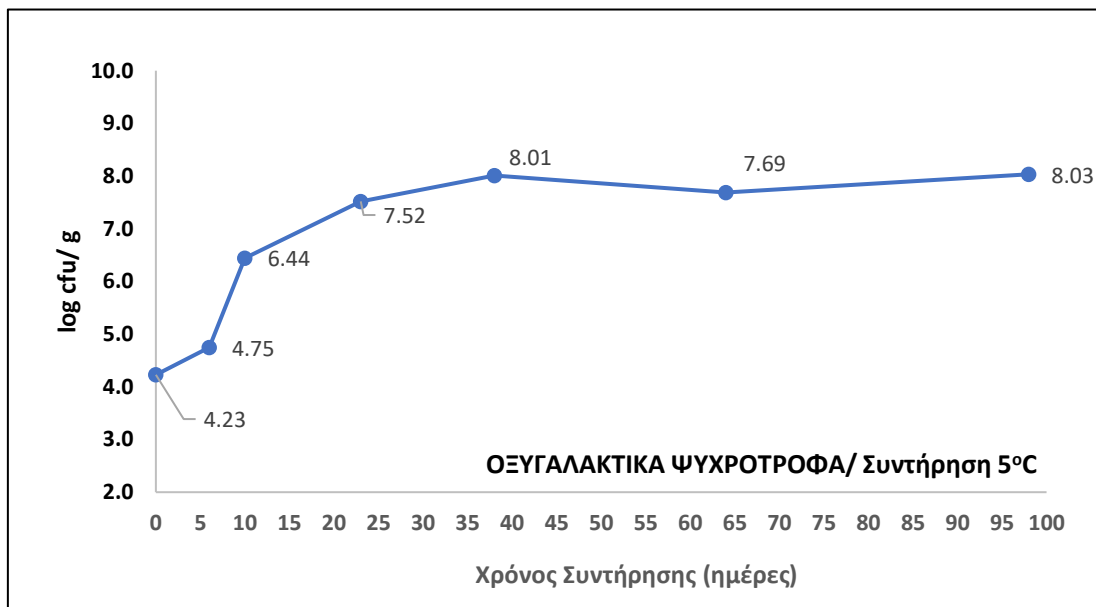


Διάγραμμα 2 Μεταβολή του pH στα δείγματα καπρικού συσκευασμένα υπό κενό στην θερμοκρασία συντήρησης (α) 5° C, (β) 10° C και (γ) 15° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες

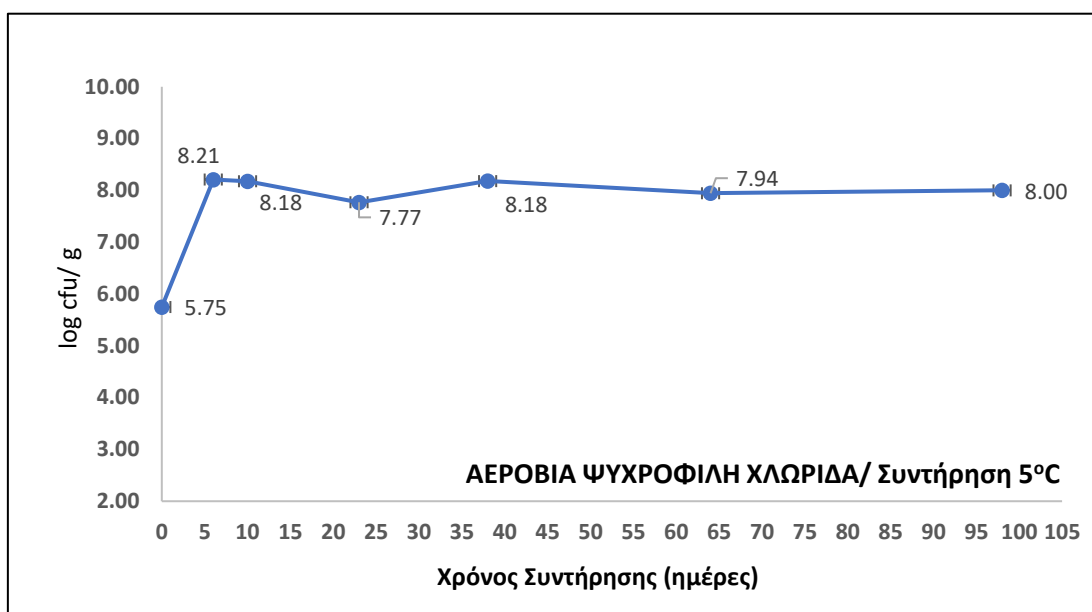
6.1.3. Πειραματικά αποτελέσματα μικροβιακής ανάπτυξης μπείκων σε θερμοκρασία συντήρησης 5° C.

Στο **Διάγραμμα 3** και **Διάγραμμα 4** παρουσιάζεται αντίστοιχα η εξέλιξη της ανάπτυξης των οξυγαλακτικών ψυχρότροφων βακτηρίων και της αερόβιας ψυχρότροφης χλωρίδας σε δείγματα μπείκων συσκευασμένων υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 5°C. Στο **Διάγραμμα 3** φαίνεται ότι ο αρχικός μικροβιακός πληθυσμός των οξυγαλακτικών ψυχρότροφων βακτηρίων στο δείγμα ήταν περίπου 10^4 cfu/g. Έπειτα, ακολούθησε μια φάση προσαρμογής και την 5^η ημέρα περίπου ο μικροβιακός πληθυσμός μπήκε σε φάση λογαριθμικής ανάπτυξης. Έως στην 10^η ημέρα περίπου, αυξήθηκε κατά 2 log cycles. Από την 10^η έως την 35^η ημέρα αυξήθηκε σταδιακά κατά 2 log cycles και πλέον το μικροβιακό φορτίο ήταν 10^8 cfu/g. Από αυτή την ημέρα και έως το τέλος της συντήρησης το μικροβιακό φορτίο παρέμεινε σταθερό.

Στο **Διάγραμμα 4** φαίνεται ότι το αρχικό μικροβιακό φορτίο της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας στο δείγμα είναι σχετικά υψηλό, περίπου 10^6 cfu/g. Δεν ακολούθησε φάση προσαρμογής και ο μικροβιακός πληθυσμός μπήκε αμέσως σε φάση λογαριθμικής ανάπτυξης και έως την 5^η ημέρα αυξήθηκε κατά 2 log cycles περίπου. Από την 5^η ημέρα και έως το τέλος της συντήρησης παρέμεινε σχετικά σταθερός.



Διάγραμμα 3 Μεταβολή του πληθυσμού των οξυγαλακτικών ψυχροτρόφων (cfu/g) σε δείγματα μπείκων συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 5° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

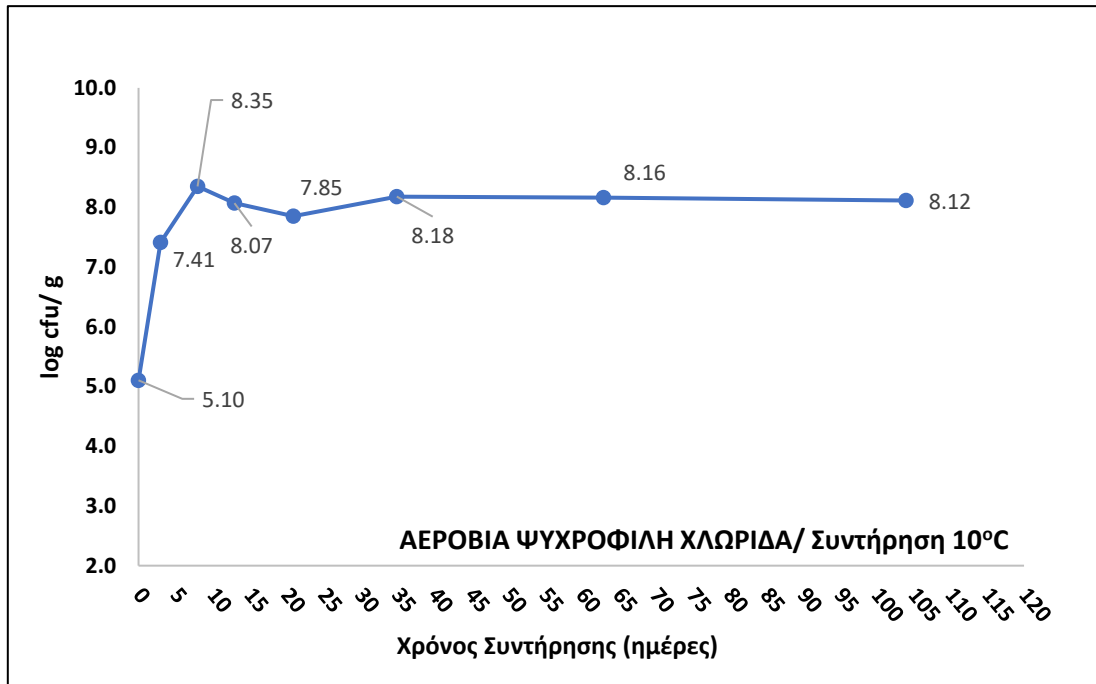


Διάγραμμα 4 Μεταβολή του πληθυσμού της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 5° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

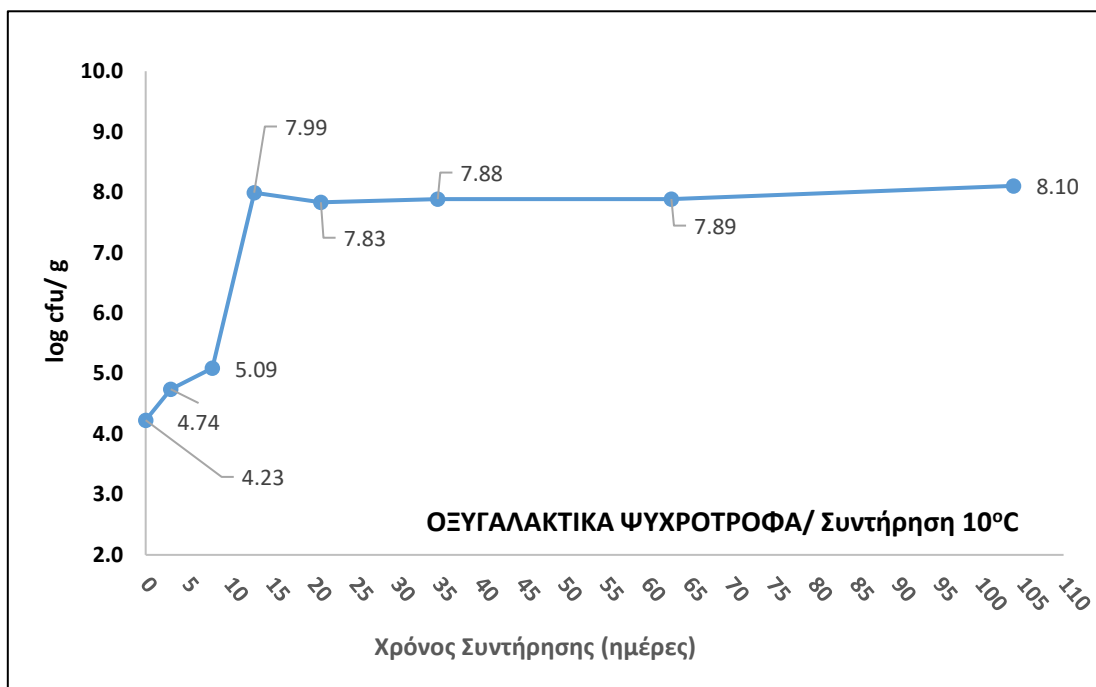
6.1.4. Πειραματικά αποτελέσματα μικροβιακής ανάπτυξης μπέικον σε θερμοκρασία συντήρησης 10°C.

Στα δύο διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζεται η εξέλιξη της ανάπτυξης των οξυγαλακτικών ψυχρότροφων βακτηρίων και της αερόβιας ψυχρότροφης χλωρίδας σε δείγματα μπέικον συσκευασμένων υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 15°C. Συγκεκριμένα, στο **Διάγραμμα 5** φαίνεται ότι ο αρχικός πληθυσμός της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας ήταν 10^5 cfu/g, σχετικά υψηλός. Δεν ακολούθησε φάση προσαρμογής και ο μικροβιακός πληθυσμός μπήκε σε φάση λογαριθμικής ανάπτυξης. Την 10^η ημέρα περίπου αυξήθηκε κατά 3 log cycles, στα 10^8 cfu/g. Από εκείνη την ημέρα κι έως το τέλος της συντήρησης παρέμεινε σχετικά σταθερός.

Στο **Διάγραμμα 6** φαίνεται ότι ο αρχικός πληθυσμός των ψυχρότροφων οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 10^4 cfu/g περίπου. Ύστερα, ακολούθησε φάση προσαρμογής και την 10^η ημέρα ο μικροβιακός πληθυσμός μπήκε σε φάση λογαριθμικής ανάπτυξης. Την 15^η ημέρα περίπου αυξήθηκε κατά 4 log cycles, στα 10^8 cfu/g. Από εκείνη την ημέρα κι έως το τέλος της συντήρησης παρέμεινε σχετικά σταθερός.



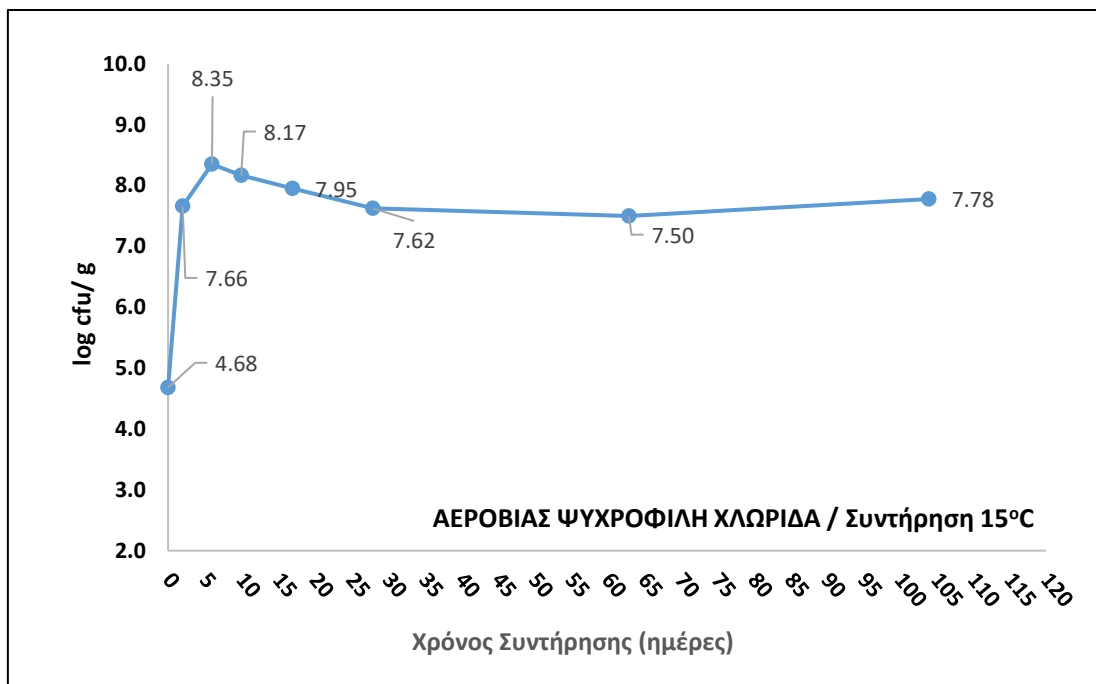
Διάγραμμα 5 Μεταβολή του πληθυσμού της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 10° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες



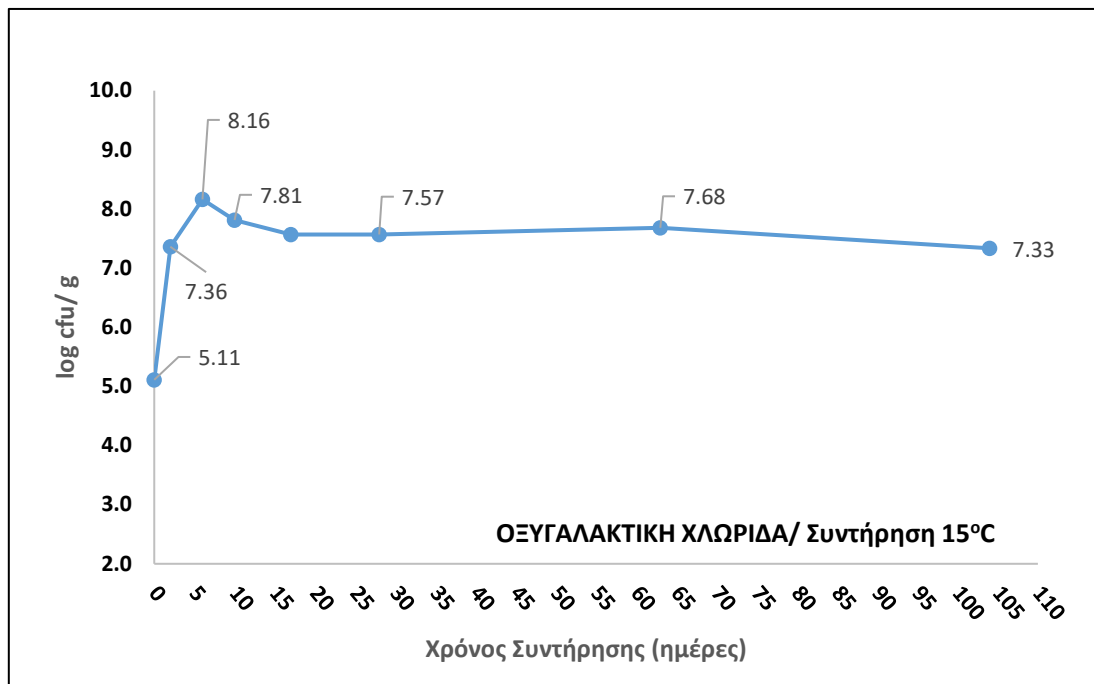
Διάγραμμα 6 Μεταβολή του πληθυσμού των Οξυγαλακτικών Ψυχρότροφων (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 10° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

6.1.5. Πειραματικά δεδομένα μικροβιακής ανάπτυξης σε μπέικον σε θερμοκρασία συντήρησης 15° C.

Στα Διαγράμματα 7 και 8 που ακολουθούν παρουσιάζεται η εξέλιξη της ανάπτυξης των οξυγαλακτικών ψυχρότροφων βακτηρίων και της αερόβιας ψυχρότροφης χλωρίδας σε δείγματα μπέικον συσκευασμένων υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 15°C. Στο **Διάγραμμα 7** φαίνεται ότι ο αρχικός πληθυσμός της αερόβιας ψυχρόφιλης χλωρίδας ήταν 10⁴ cfu/g περίπου. Δεν ακολούθησε φάση προσαρμογής και αμέσως ο μικροβιακός πληθυσμός μπήκε σε φάση λογαριθμικής ανάπτυξης. Την 10^η ημέρα περίπου αυξήθηκε κατά 4 log cycles, στα 10⁸ cfu/g. Από εκείνη την ημέρα κι έως το τέλος της συντήρησης παρέμεινε σχετικά σταθερός. Στο **Διάγραμμα 8** φαίνεται ότι ο αρχικός πληθυσμός των ψυχρότροφων οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 10⁵ cfu/g περίπου, σχετικά υψηλός. Δεν ακολούθησε φάση προσαρμογής και ο μικροβιακός πληθυσμός μπήκε αμέσως σε φάση λογαριθμικής ανάπτυξης. Την 10^η ημέρα περίπου αυξήθηκε κατά 3 log cycles, στα 10⁸ cfu/g. Από εκείνη την ημέρα κι έως το τέλος της συντήρησης παρέμεινε σχετικά σταθερός.



Διάγραμμα 7 Μεταβολή του πληθυσμού της Αερόβιας Ψυχρόφιλης Χλωρίδας (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 15° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.



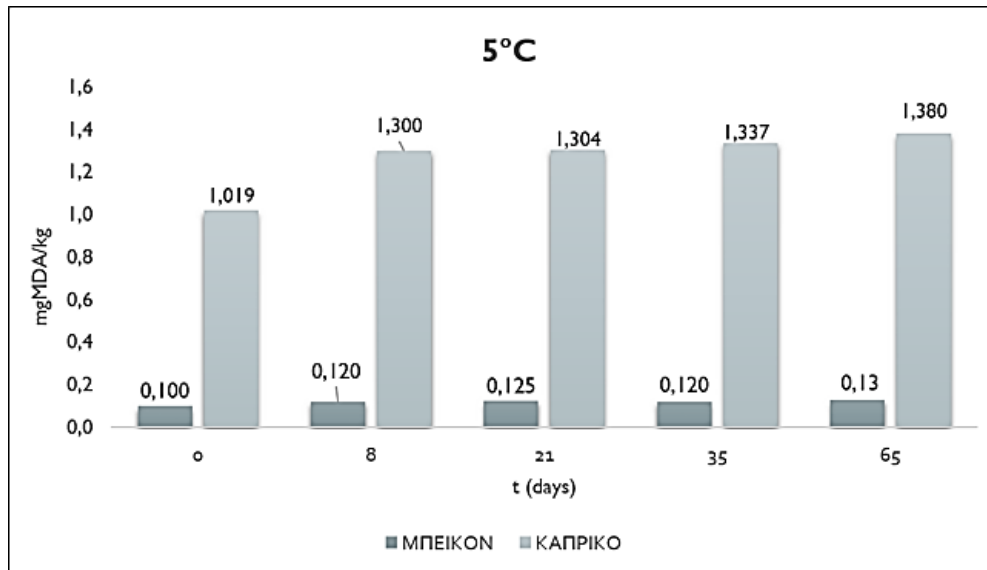
Διάγραμμα 8 Μεταβολή του πληθυσμού των Οξυγαλακτικών Ψυχρότροφων (cfu/g) σε δείγματα μπέικον συσκευασμένα υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 15° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

6.2. Αποτελέσματα 2^{ου} πειράματος: εκτίμηση οξείδωσης με τη μέθοδο TBA.

6.2.1. Πειραματικά δεδομένα οξείδωσης λίπους σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.

Στο διάγραμμα που ακολουθεί (**Διάγραμμα 9**) παρουσιάζεται η εξέλιξη της οξείδωσης του λίπους των δειγμάτων μπέικον και καπρικού συσκευασμένων υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 5°C. Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg MDA/kg. Είναι σαφές ότι ο βαθμός οξείδωσης στο μπέικον σε απόλυτες τιμές είναι πολύ μικρότερος σε σύγκριση το καπρικό. Πιο συγκεκριμένα οι τιμές της μηλονικής διαλδεΐδης στο μπέικον κατά την διάρκεια των 64 ημερών συντήρησης αυξήθηκαν κατά 30%.

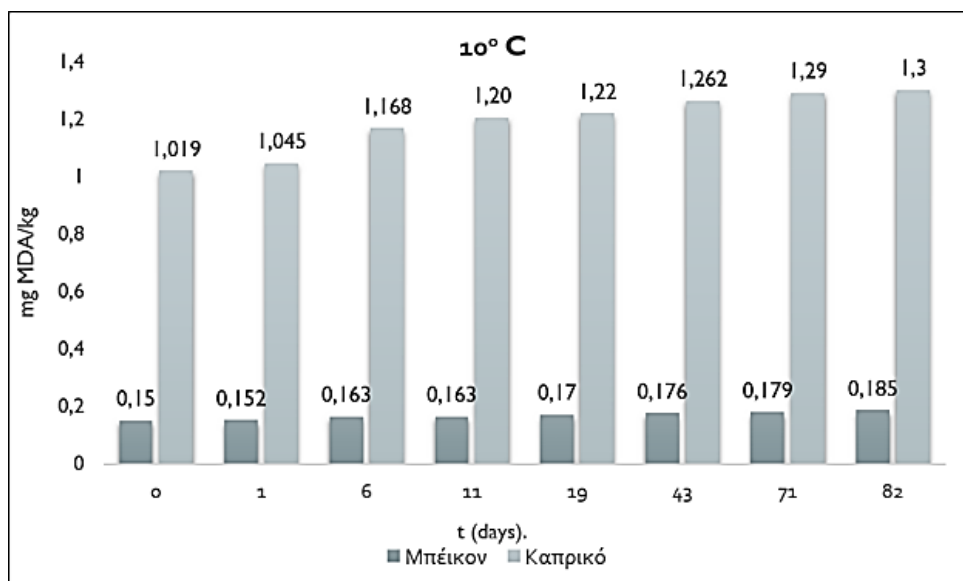
Από την άλλη πλευρά η συγκέντρωση MDA/kg στο καπρικό ξεκίνησε να αυξάνεται από την 8^η ημέρα και μετά και συνέχισε μέχρι την 64^η. Η συνολική μεταβολή της συγκέντρωσης σε μηλονικής διαλδεΐδης ήταν της τάξης του 35%. Πρακτικά δηλαδή κατά την διάρκεια της συντήρησης στους 5°C η μεταβολής της συγκέντρωσης της MDA ήταν παρόμοια και για τα δύο προϊόντα.



Διάγραμμα 9 Μεταβολή του βαθμού οξείδωσης του λίπους του μπέικον και του καπρικού σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

6.2.2. Πειραματικά δεδομένα οξείδωσης λίπους σε θερμοκρασία αποθήκευσης 10°C.

Στο **Διάγραμμα 10** που ακολουθεί παρουσιάζεται η εξέλιξη της οξείδωσης του λίπους των δειγμάτων μπέικον και καπρικού συσκευασμένων υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 10°C. Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg MDA/kg.



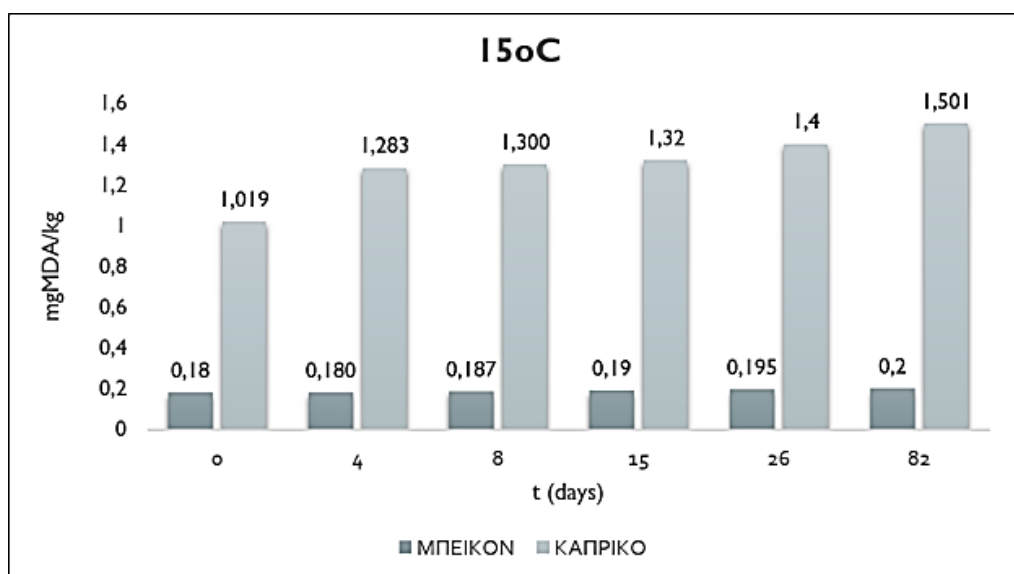
Διάγραμμα 10 Μεταβολή του βαθμού οξείδωσης του λίπους του μπέικον και του καπρικού σε θερμοκρασία αποθήκευσης 10° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

Και στην περίπτωση αυτή οι απόλυτες τιμές μηλονικής διαλδεΐδης είναι σημαντικά υψηλότερες στο καπρικό παρά στο μπέικον. Κατά τη διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων στους 10°C η συγκέντρωση MDA/kg στο μπέικον αυξήθηκε κατά +23%.

Σχετικά με το καπρικό και πάλι η αρχική τιμή MDA/Kg ήταν πολύ υψηλότερη από αυτή του μπέικον. Όμως κατά την διάρκεια των 64 ημερών συντήρησης η μεταβολή της συγκέντρωσης MDA/ Kg ήταν + 27.6%.

6.2.3. Πειραματικά δεδομένα οξείδωσης λίπους σε θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.

Στο **Διάγραμμα 11** που ακολουθεί παρουσιάζεται η εξέλιξη της οξείδωσης του λίπους των δειγμάτων μπέικον και καπρικού συσκευασμένων υπό κενό σε θερμοκρασία συντήρησης 15°C.



Διάγραμμα 11 Μεταβολή του βαθμού οξείδωσης του λίπους του μπέικον και του καπρικού σε θερμοκρασία αποθήκευσης 15° C. Στον οριζόντιο άξονα είναι ο χρόνος συντήρησης σε ημέρες.

Τα αποτελέσματα είναι παρόμοια με αυτά που παρατηρήθηκαν στις δύο θερμοκρασίες συντήρησης που μελετήθηκαν (5°C και 10°C). Στην περίπτωση αυτή η μεταβολή της συγκέντρωσης ήταν της τάξης του 11%, δηλαδή από 0.18 σε 0.2.

Αντίθετα, στην περίπτωση των δειγμάτων καπρικού η αύξηση της συγκέντρωσης MDA/ Kg ήταν σημαντικά υψηλότερη, της τάξης του 47.2%.

7. Συζήτηση

Τα δείγματα που αναλύθηκαν προέρχονται απ' ευθείας από μονάδα παραγωγής, δηλαδή έχουν παραχθεί σε μονάδα στην οποία παράγονται και άλλα προϊόντα.

Σε ό,τι αφορά τα μικροβιολογικά αποτελέσματα ήταν σαφές ότι το αρχικό μικροβιολογικό φορτίο ήταν αρκετά υψηλό για προϊόντα που έχουν δεχθεί θερμική επεξεργασία. Το αρχικό μικροβιολογικό φορτίο την 1^η ημέρα που έγινε η ανάλυση – η οποία όμως απείχε χρονικά 3-4 ημέρες από την ημερομηνία παραγωγής – ήταν πάντοτε μεγαλύτερο από 10⁴ cfu/g. Πρόκειται για προϊόντα που έχουν δεχθεί θερμική επεξεργασία, και το υψηλό μικροβιακό φορτίο μπορεί να αποδοθεί στις συνθήκες υγιεινής κατά τη διάρκεια της συσκευασίας και ειδικότερα των συνθηκών που επικρατούν κατά την κοπή των τελικών προϊόντων σε φέτες προκειμένου μετά αυτά να συσκευαστούν. Φαίνεται πολύ πιθανό ότι τα μαχαίρια κοπής δεν εξυγιαίνονται κατά τη διάρκεια της τεμαχισμού των κρεάτων με αποτέλεσμα με την πάροδο του χρόνου να αποτελούν πηγή επιμόλυνσης των φετών.

Στα δείγματα που αναλύθηκαν τα οξυγαλακτικά βακτήρια ήταν σε υψηλό πληθυσμό και αναπτύσσονταν μέχρι να σταθεροποιηθούν σε υψηλούς πληθυσμούς. Επίσης υψηλός ήταν και ο πληθυσμός της ψυχρότροφης μικροχλωρίδας. Και τα δυο αποτελέσματα είναι συνεπή με το είδος των προϊόντων, της επεξεργασίας που δέχονται. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι πολύ διαδεδομένα σε προϊόντα κρέατος, και η ανάπτυξή τους διευκολύνεται σε προϊόντα συσκευασμένα υπό κενό διότι είναι προαιρετικά αναερόβια. Επίσης στους χώρους παραγωγής των προϊόντων κρέατος επιβάλλεται η θερμοκρασία να είναι αρκετά χαμηλή, συχνά χαμηλότερα από 10°C, με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η ανάπτυξη βακτηρίων με ψυχροτροφικές ιδιότητες, και συνεπώς και στο εξοπλισμό κοπής – εάν δεν εξυγιαίνεται.

Ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση ότι η τιμή pH παραμένει σχετικά σταθερή από την στιγμή έναρξης των πειραμάτων, δεδομένου ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια πολλαπλασιάζονται και παράγουν γαλακτικό οξύ. Συγκεκριμένα και στα δύο προϊόντα οι τιμές pH κινούνταν σε μία ζώνη περίπου 0.2 μονάδες υψηλότερα ή χαμηλότερα από την αρχική τιμή. Επίσης θα μπορούσε να σημειωθεί ότι προς το τέλος της συντήρησης υπήρχε μια ήπια τάση ανόδου του pH. Το τελευταίο πιθανόν να μπορεί να αποδοθεί σε φαινόμενα

πρωτεόλυσης προερχόμενα από την μικροχλωρίδα. Προς την κατεύθυνση αυτή συνηγορεί η ακόλουθη παρατήρηση: έξι μήνες μετά την ημερομηνία παραγωγής των δειγμάτων, αρκετά από αυτά που εξακολουθούσαν να συντηρούνται στους 4°C διαπιστώθηκε ότι είχε πλήρως διαλυθεί η δομή τους – είχαν σχεδόν πολτοποιηθεί – ήταν εξαιρετικά δύσσομα και είχαν pH μεταξύ 7.05 – 7.12. Το φαινόμενο αυτό θα πρέπει να αποδοθεί σε φαινόμενα έντονης πρωτεόλυσης, μέσω ενζύμων τα οποία πιθανόν να προέρχονταν από το μικροβίωμα των δειγμάτων.

Σε ό,τι αφορά την μικροχλωρίδα, ήταν χαρακτηριστικό ότι η Αερόβια Ψυχρόφιλη χλωρίδα αναπτύχθηκε ταχύτητα της πρώτες ημέρες συντήρησης ενώ τα οξυγαλακτικά βακτήρια ολοκλήρωσαν την εκθετική φάση ανάπτυξής αργότερα, σε συνάρτηση πάντα με το αρχικό μικροβιακό φορτίο και την θερμοκρασία συντήρησης. Είναι χαρακτηριστικό ότι από την έναρξη των μικροβιολογικών αναλύσεων η αερόβια ψυχρότροφη χλωρίδα έφτασε σε πληθυσμό περίπου 10^7 - 10^8 cfu/g μέσα σε λίγες ημέρες. Επίσης θα πρέπει να σημειωθεί ότι κανένα από τα δείγματα δεν παρουσίασε διόγκωση, δηλαδή παραγωγή αερίου, δυσσομία ή δυσχρωμία.

Παρόμοια αποτελέσματα σε ό,τι αφορά την εξέλιξη του πληθυσμού αναφέρονται και από τους Li, et al. (2019) σε μπέικον όπου μέσα σε 45 ημέρες στους 4°C ο τελικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν της τάξης του 10^8 cfu/ g. Στο ίδιο πείραμα καταμετρώνταν και η ολική ψυχρόφιλη αερόβια χλωρίδα και τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια με αυτά της παρούσας μελέτης. Συγκεκριμένα, με αρχική αερόβια ψυχρόφιλη χλωρίδα περίπου 10^2 cfu/ g μετά από 15 ημέρες έφτασε στο 10^5 cfu/ g και την 22^η ημέρα στο 10^7 cfu/ g, δηλαδή μέσα σε μία περίπου εβδομάδα ανέβηκε κατά 2 log cycles.

Αναφορικά με τα αποτελέσματα οξείδωσης της λιπαρής ύλης των δειγμάτων διαπιστώθηκε: (α) ο αρχικός βαθμός οξείδωσης ήταν σημαντικά υψηλότερος στα δείγματα καπρικού σε σύγκριση με τα δείγματα μπέικον και (β) η μεταβολή του ποσοστού οξείδωσης κατά τη διάρκεια των 64 ημερών οξείδωσης ήταν παρόμοιος για όλα τα δείγματα πλην των δειγμάτων καπρικού που συντηρούνταν στους 15°C.

Ο χαμηλός βαθμός οξείδωσης των δειγμάτων μπέικον θα πρέπει να αποδοθεί στα νιτρικά και στα ασκορβικά άλατα που προσθέτονται στο μίγμα αλιπάστωσης. Από την άλλη πλευρά το καπρικό στερείται προσθέτων. Ενδεικτικά οι Cornelia et al. (2009) μελέτησαν το βαθμό και της μεταβολής της οξείδωσης μπέικον συσκευασμένου υπό κενό και διαπίστωσαν πολύ μεγάλη αύξηση του βαθμού οξείδωσης (169%). Ωστόσο στην δημοσίευση δεν

αναφέρεται εάν το μπέικον περιείχε αντιοξειδωτικούς παράγοντες όπως τα δείγματα που αναλύονταν.

8. Συμπεράσματα

Τόσο το μπέικον όσο και το «καπρικό» είναι 2 προϊόντα τα οποία δέχονται κάποιας μορφής θερμική επεξεργασία. Όμως και στα δυο το αρχικό τους μικροβιακό φορτίο ήταν αρκετά υψηλό το οποίο μάλλον θα πρέπει να αποδοθεί σε συνθήκες υγιεινής οι οποίες τηρούνται κατά τον τεμαχισμό τους. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ανεξάρτητα των επεξεργασιών που δέχεται ένα τρόφιμο οι συνθήκες υγιεινής που θα τηρηθούν κάτι συσκευασίας του κατά τη συσκευασία του είναι εξαιρετικά μεγάλης σημασίας.

Αν και το αρχικό υψηλό αρχικό μικροβιακό φορτίο οδήγησε σε σύντομη φάση λογαριθμικής ανάπτυξης και σύντομη εισαγωγή στη στατική φάση σε πληθυσμούς της τάξης του $10^7 - 10^8$ cfu/ g δεν παρατηρήθηκαν εμφανείς οργανοληπτικές αλλοιώσεις όπως παραγωγή αέριου ή/και δυσσομίας.

Η οξειδωτική τάγγιση είναι ένα φαινόμενο που δεν μπορεί να περιοριστεί δραστικά παρά μόνο με την χρήση αντιοξειδωτικών, όπως έδειξε η διαφορά στις απόλυτες τιμές της μηλονικής διαλδεΰδης μεταξύ του μπέικον που είχε αντιοξειδωτικά και του «καπρικού» που δεν είχε.

9. Βιβλιογραφία

1. Abeyrathne, E. D. N. S., Nam, K., & Ahn, D. U. (2021). Analytical methods for lipid oxidation and antioxidant capacity in food systems. *Antioxidants*, 10(10), 1587.
2. Amaral, A. B., Silva, M. V. D., & Lannes, S. C. D. S. (2018). Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review. *Food Science and Technology*, 38, 1-15.
3. Cornelia, P. C., Adriana, T. A., & Adrian, T. (2009). Effect of storage condition on the chemical properties of pork bacon. *Anelele Universitatii din Oradea, Fasciculus: ecotoxicology, zootennie si tehnologii de inustrie alimentara*, 565-572.
4. Corry, J. E., Curtis, G. D. W., & Baird, R. M. (Eds.). (2003). *Handbook of culture media for food microbiology* (Vol. 37). Elsevier.
5. Corry, J. E., Curtis, G. D., & Baird, R. M. (Eds.). (2012). *Handbook of culture media for food and water microbiology*. Royal Society of Chemistry.
6. Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P., & Villani, F. (2009). Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef. *Applied and environmental microbiology*, 75(7), 1990-2001.

7. Govari, M., & Pexara, A. (2015). Nitrates and Nitrites in meat products. *Journal of the Hellenic veterinary medical society*, 66(3), 127-140.
8. Kameník, J. (2013). The microbiology of meat spoilage: a review. *Maso International—Journal of Food Science and Technology—2013.—P*, 1-9. (<http://www.maso-international.cz/wp-content/uploads/2013/08/maso-international-2012-2-page-003-010.pdf>)
9. Katsanidis, E., & Zampouni, K. (2023). Development of a novel steam distillation TBA test for the determination of lipid oxidation in meat products. *Foods*, 12(2), 359.
10. Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in lipid research*, 46(5), 244-282.
11. Li, X., Li, C., Ye, H., Wang, Z., Wu, X., Han, Y., & Xu, B. (2019). Changes in the microbial communities in vacuum-packaged smoked bacon during storage. *Food microbiology*, 77, 26-37.
12. Macrae, R., Robinson, R. K., & Sadler, M. J. (1993). *Encyclopaedia of food science, food technology, and nutrition*. (No Title).
13. McDonald, R. E., & Hultin, H. O. (1987). Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle. *Journal of Food Science*, 52(1), 15-21.
14. Moore, F. A. (2011). The use of lactated ringer's in shock resuscitation: the good, the bad and the ugly. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 70(5), S15-S16.
15. Mor-Mur, M., & Yuste, J. (2010). Emerging bacterial pathogens in meat and poultry: an overview. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 24-35.
16. Rebezov, M., Farhan Jahangir Chughtai, M., Mehmood, T., Khaliq, A., Tanweer, S., Semenova, A. & Lorenzo, J. M. (2021). Novel techniques for microbiological safety in meat and fish industries. *Applied Sciences*, 12(1), 319.
17. Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J., Marcinčák, S., Semjon, B., Čertík, M., & Klemková, T. (2017). Lipid peroxidation process in meat and meat products: A comparison study of malondialdehyde determination between modified 2-thiobarbituric acid spectrophotometric method and reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Molecules*, 22(11), 1988.
18. Zhou, B., Luo, J., Quan, W., Lou, A., & Shen, Q. (2022). Antioxidant Activity and Sensory Quality of Bacon. *Foods*, 11(2), 236.
19. Ιωάννης Τσάκνης (2018). *Τεχνολογία-Ποιότητα Λιπών και Λαδιών*, Αθήνα: Εκδόσεις Τζιόλα.