

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΝΗΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

**ΠΜΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΧΡΗΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΓΙΑ
ΤΗΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ
ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΣΕ ΚΟΜΜΕΝΕΣ ΣΑΛΑΤΕΣ
ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΕΞΙΣΩΣΗ**



Ίκαρος – Ελευθέριος Σ. Καμιναρίδης

Επιβλέπων : Σκανδάμης Παναγιώτης

ΑΘΗΝΑ 2014

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΧΡΗΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΓΙΑ
ΤΗΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ
ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΣΕ ΚΟΜΜΕΝΕΣ
ΣΑΛΑΤΕΣ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕ
ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΕΞΙΣΩΣΗ**

Καμιναρίδης Σ. Ίκαρος – Ελευθέριος

Τριμελής εξεταστική επιτροπή :

Σκανδάμης Παναγιώτης (Επιβλέπων)

Ξανθόπουλος Γεώργιος

Πανάγου Ευστάθιος

ΑΘΗΝΑ 2014

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τον επίκουρο καθηγητή του εργαστηρίου ποιοτικού ελέγχου και υγιεινής τροφίμων και ποτών κύριο Σκανδάμη Παναγιώτη για την ανάθεση της μεταπτυχιακής ερευνητικής μελέτης και την συνεχή επιστημονική καθοδήγηση και επίβλεψη κατά την εκπόνηση της συγγραφή αυτής.

Επίσης ευχαριστώ πολύ το προσωπικό του εργαστηρίου, για την παραχώρηση του εργαστηριακού εξοπλισμού και την συνεχή συνεργασία.

Περιεχόμενα

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
2.1. ΡΟΚΑ	11
2.2. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	11
2.3. ΚΟΜΜΕΝΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΕΣ ΣΑΛΑΤΕΣ	12
2.4. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΕΤΟΙΜΩΝ ΠΡΟΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΣΑΛΑΤΩΝ	13
2.5. ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ (Modified Atmosphere Packaging- MAP).....	15
2.6. ΑΕΡΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΙΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΕΣ	17
2.7. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΣΤΑ ΦΡΕΣΚΟΚΟΜΜΕΝΑ ΛΑΧΑΝΙΚΑ.....	18
2.8. ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΣΑΛΑΤΩΝ.....	21
2.9. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΠΡΟΡΡΗΣΗΣ.....	25
2.9.1. Η ΕΝΝΟΙΑ ΚΑΙ Η ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΡΡΗΣΗΣ	25
2.9.2. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΑ ΕΙΔΗ ΤΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ.....	27
2.9.3. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΡΡΗΣΗΣ.....	29
2.10. ΣΤΟΧΟΙ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ.....	30
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	31
3.1. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΩΝ.....	31
3.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΕΡΙΩΝ	32
3.3. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ.....	33
3.4. ΜΕΤΡΗΣΗ pH	35
3.5. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ	35
3.6. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΟΝΤΕΛΩΝ	36
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	37
4.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ	37
4.2. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΑΕΡΙΩΝ ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ.....	41
4.3. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ Ph ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ	45
4.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ	48
4.5. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ	51
4.6. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΑΕΡΙΩΝ ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ	55
4.7. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ pH ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ.....	59

4.8.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ	61
4.9.	ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΜΟΝΤΕΛΑ	64
4.9.1.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ CO₂ ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΛΥΞΗΣΗ ΣΕ ΠΟΛΤΟ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΟ ΡΟΚΑΣ	64
4.10.	ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΠΟΛΥΩΝΙΜΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ	73
4.10.1.	ΠΟΛΤΟΣ ΡΟΚΑΣ	73
4.10.2.	ΛΑΧΑΝΙΚΟ ΡΟΚΑΣ	77
4.10.3	ΕΞΩΤΕΡΙΚΗ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ	80
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	84
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	85

ΕΙΚΟΝΕΣ

Εικόνα 2.1. Διάγραμμα ροής έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών.....	12
Εικόνα 3.1.: Εμπορική συσκευασία ρόκας.....	32
Εικόνα 3.2.: Συσκευαστική μηχανή με εμφύσηση αερίου.....	32
Εικόνα 3.3.: Μετρητής αερίων.....	32
Εικόνα 3.4.: Πάγκος δειγματοληψίας.....	33
Εικόνα 3.5.: Πάγκος εργασίας.....	34
Εικόνα 3.6.: Μέτρηση pH.....	35

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

Διάγραμμα 4.1.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε πολτό ρόκας που συντηρήθηκε στους 0 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ τροποποιημένες ατμόσφαιρες.....	37
Διάγραμμα 4.2.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε πολτό ρόκας που συντηρήθηκε στους 5 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂	38
Διάγραμμα 4.3.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε πολτό ρόκας που συντηρήθηκε στους 10 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂	39
Διάγραμμα 4.4.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε πολτό ρόκας που συντηρήθηκε στους 15 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂	40
Διάγραμμα 4.5.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ και σε θερμοκρασία 0°C.....	41
Διάγραμμα 4.6.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ και σε θερμοκρασία 5°C.....	42
Διάγραμμα 4.7.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ σε θερμοκρασία 10°C.....	43
Διάγραμμα 4.8.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ σε θερμοκρασία 15°C.....	46
Διάγραμμα 4.9.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 0 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂	51

Διάγραμμα 4.10.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων,(γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 5 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ : 5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂	52
Διάγραμμα 4.11.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων,(γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 10 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ : 5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂	53
Διάγραμμα 4.12.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων,(γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 15 °C σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ 10%O ₂ :10%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂	54
Διάγραμμα 4.13.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ σε θερμοκρασία 0°C.....	55
Διάγραμμα 4.14.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ και σε θερμοκρασία 5°C.....	56
Διάγραμμα 4.15.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ και σε θερμοκρασία 10°C.....	57
Διάγραμμα 4.16.: Ποσοστά O ₂ και CO ₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ και σε θερμοκρασία 15°C.....	58
Διάγραμμα 4.17.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	68
Διάγραμμα 4.18.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	68
Διάγραμμα 4.19.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	72
Διάγραμμα 4.20.: : Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	72
Διάγραμμα 4.21.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας σε συσκευασίες TA (α)0%O ₂ : 20%CO ₂ , (β) 5%O ₂ : 15%CO ₂ ,(γ) 10%O ₂ :10%CO ₂ , (δ) 15%O ₂ :5%CO ₂ , (ε) 21%O ₂ : 0%CO ₂	75
Διάγραμμα 4.22.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας σε συσκευασίες TA (α)0%O ₂ : 20%CO ₂ , (β) 5%O ₂ : 15%CO ₂ ,(γ) 10%O ₂ :10%CO ₂ , (δ) 15%O ₂ :5%CO ₂ , (ε) 21%O ₂ : 0%CO ₂	76
Διάγραμμα 4.23.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες TA (α)0%O ₂ : 20%CO ₂ , (β) 10%O ₂ :10%CO ₂ , (γ) 21%O ₂ : 0%CO ₂	77
Διάγραμμα 4.24.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες TA (α) 0%O ₂ : 20%CO ₂ , (β) 10%O ₂ :10%CO ₂ , (γ) 21%O ₂ : 0%CO ₂	78
Διάγραμμα 4.25.: Προβλέψεις σε πολτό ρόκας και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες TA (α)0%O ₂ : 20%CO ₂ , (β) 10%O ₂ :10%CO ₂ , (γ) 21%O ₂ : 0%CO ₂	81
Διάγραμμα 4.26.: Προβλέψεις σε πολτό ρόκας και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες TA (α)0%O ₂ : 20%CO ₂ , (β) 10%O ₂ :10%CO ₂ , (γ) 21%O ₂ : 0%CO ₂	82

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 4.1.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 0 °C	46
Πίνακας4.2.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 5 °C	47
Πίνακας 4.3.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 10 °C	47
Πίνακας 4.4.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ :5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 15 °C.....	48
Πίνακας 4.5.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 0 °C.....	59
Πίνακας 4.6.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ : 5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 5 °C.....	60
Πίνακας 4.7.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 15%O ₂ : 5%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 10 °C.....	60
Πίνακας 4.8.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O ₂ : 20%CO ₂ , 5%O ₂ : 15%CO ₂ , 10%O ₂ :10%CO ₂ , 21%O ₂ : 0%CO ₂ στους 15 °C.....	61
Πίνακας 4.9.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	64
Πίνακας 4.10.: παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του ρυθμού αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας.....	65
Πίνακας 4.11.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	66
Πίνακας 5.12.: παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του λογαριθμικού ρυθμού αύξησης των ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας.....	67
Πίνακας4.13.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	67
Πίνακας 4.14. : παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του λογαριθμικού ρυθμού αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας.....	69
Πίνακας 4.15: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (u _{max}) ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO ₂ και θερμοκρασίας.....	70
Πίνακας 4.16.: παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του λογαριθμικού ρυθμού αύξησης των ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας.....	71

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πολτός και φρεσκοκομμένη σαλάτα ρόκας συσκευάστηκαν στις τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και συντηρήθηκαν σε ψυκτικούς θαλάμους σε θερμοκρασίες 0, 5, 10 και 15 °C. Η μελέτη είχε σαν στόχο να μελετήσει την επίδραση της θερμοκρασίας και του ποσοστού του CO₂ στη μικροβιακή αλλοίωση της φρεσκοκομμένης σαλάτας ρόκας και του πολτού της, καθώς επίσης και αναπτυχθούν και να επικυρωθούν μοντέλα πρόβλεψης της ανάπτυξης των κυρίαρχων μικροοργανισμών συναρτήσει των παραπάνω παραγόντων. Οι μικροοργανισμοί που κυριάρχησαν στην αλλοίωση του φρεσκοκομμένου λαχανικού της ρόκας αλλά και του πολτού αυτής ανεξαρτήτου θερμοκρασίας και ποσοστού CO₂, ήταν οι ψευδομονάδες. Ο ρυθμός αύξησης τους ήταν μεγαλύτερος σε υψηλές θερμοκρασίες και απουσία CO₂. Οι παρατηρήσεις που συλλέχθηκαν από την πειραματική διαδικασία εισήχθησαν στο πρωτογενές μοντέλο των Baranyi and Roberts (1994) με σκοπό να εκτιμηθεί ο μέγιστος ρυθμός αύξησης των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Δημιουργήθηκε έτσι, ένα λογαριθμικό δευτερογενές πολυωνυμικό μοντέλο, συναρτήσει της θερμοκρασίας και του ποσοστού του CO₂. Στο πολτό της ρόκας οι προβλέψεις του μοντέλου ήταν στο μεγαλύτερο ποσοστό τους ικανοποιητικές, ενώ στο λαχανικό της ρόκας οι παρατηρήσεις δε συμφωνούσαν με τις προβλέψεις, με εξαίρεση τις παρατηρήσεις του ρυθμού αύξησης των ψευδομονάδων. Ωστόσο, κατά την εξωτερική επικύρωση του μοντέλου του πολτού ρόκας με τα δεδομένα του λαχανικού της ρόκας, η πρόβλεψη του μοντέλου ήταν επιτυχής. Ως εκ τούτου, το μοντέλο του πολτού της ρόκας, μπορεί να χρησιμοποιηθούν για σύγκριση, επικύρωση άλλων μοντέλων καθώς επίσης και για ασφαλή εκτίμηση, πρόβλεψη και έλεγχο της αλλοίωσης της ρόκας κατά την εκτίμηση κινδύνου στη βιομηχανία.

ABSTRACT

Pulp and fresh rocket salad packaged in modified atmospheres 0% O₂: 20% CO₂, 5% O₂: 15% CO₂, 10% O₂: 10% CO₂, 15% O₂: 5% CO₂, 21% O₂: 0% CO₂ and maintained in cold storage at 0, 5, 10 and 15 °C. The study was aimed to study the effect of temperature and the percentage of CO₂ in the microbial spoilage of fresh cut salad of rocket and pulp, as well as develop and validate predictive models of growth of sovereign microorganisms, function of the above factors. Pseudomonads dominated in the spoilage of fresh rocket salad and pulp independent of the effect of temperature and CO₂. The observations were collected from the experimental procedure introduced in primary model of Baranyi and Roberts (1994) in order to estimate the maximum growth rate of Pseudomonas and lactic acid bacteria. A logarithmic secondary polynomial model was created, function of temperature and the rate of CO₂. Model predictions of rocket pulp were almost satisfactory, while fresh rocket salad observations didn't agree with the predictions, except of the comments of growth rate of pseudomonas. However, when the external validation of the model of pulp rocket with the data of rocket lettuce, the model prediction was successful. Therefore, the model of pulp rocket can be used to compare, validate other models as well as for safe assessment, prediction and control of spoilage of rocket in risk assessment in industry.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2.1.ΡΟΚΑ

Η ρόκα (*Eruca sativa* Mill.) είναι μονοετές, ποώδες φυτό και ανήκει στην οικογένεια των Σταυρανθών (*Brassicaceae*). Κατάγεται από τη νοτιοανατολική Ασία και βρίσκεται αυτοφυές (άγρια ρόκα) ή καλλιεργείται στην περιοχή της Μεσογείου. Είναι γνωστό φυτό από τα αρχαία χρόνια, καθώς χρησιμοποιούνταν στην αρχαία Ελλάδα ως αφροδισιακό και μετέπειτα στα ρωμαϊκά χρόνια, αποτελούσε εκλεκτό φαγητό των πλουσίων. Είναι χειμωνιάτικο φυτό και ανθίζει από το Μάρτιο μέχρι τον Ιούνιο. Το ύψος του φυτού φτάνει τα 80 χιλιοστά με βλαστούς που διακλαδίζονται. Τα άνθη της, που έχουν διάμετρο 2-4 εκατοστά, είναι λευκά με πορφυρές φλέβες ή κιτρινωπά διατεταγμένα και σχηματίζουν ταξιανθίες. Τα φύλλα της είναι πτερωτά και ο καρπός είναι μικρός και κωνικός, ραμφοειδής και φέρει σπόρια ωοειδή, κίτρινου χρώματος. Τα φύλλα και οι νεαροί μίσχοι εκτιμώνται ιδιαίτερα για την ελαφρώς πικάντικη γεύση τους, στην οποία, σημαντικό ρόλο παίζουν οι βιοδραστικές ουσίες της (Drewnowski & Gomez-Carneros, 2000).

2.2.ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Από την αρχαία λογοτεχνία και κλασσική φαρμακολογία, υπάρχει πλήθος αναφορών, για την υψηλή διατροφική αξία της ρόκας καθώς και για τις θεραπευτικές ιδιότητές της (Barillari et al., 2005). Η ρόκα έχει πολύ μικρό αριθμό θερμίδων και είναι πλούσια σε φυτικές ίνες, οι οποίες βοηθούν στη διαδικασία της πέψης, στην αποβολή των τοξινών που συσσωρεύονται στο έντερο καθώς και στην καλή λειτουργία του. Επιπλέον, η ρόκα περιέχει σημαντικά μέταλλα όπως είναι το ασβέστιο, ο χαλκός, το σίδηρο, το μαγνήσιο, το μαγγάνιο, το φώσφορο και το κάλιο.

Επιπλέον, ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά της ρόκας είναι η πληθώρα των αντιοξειδωτικών που περιέχει, τα οποία αποτελούν την καλύτερη αντικαρκινική ασπίδα του οργανισμού. Στα πολλά θρεπτικά συστατικά της ρόκας, περιλαμβάνεται και μια ομάδα στοιχείων υπεύθυνα για τη μεν πικάντικη και πικρή γεύση της, αλλά και για την δυνατή αντικαρκινική της δράση. Τα συστατικά αυτά κατά την μάσηση και πέψη διασπώνται σε στοιχεία μέγιστης αντικαρκινικής δραστηριότητας. Τα

συστατικά που κάνουν τη ρόκα πικρή, βοηθούν στην αντιμετώπιση, των επιβλαβών και καρκινογόνων επιδράσεων των οιστρογόνων του οργανισμού, απωθώντας με αυτόν τον τρόπο μορφές καρκίνου όπως του προστάτη, του στήθους, του τραχήλου της μήτρας, του παχέος εντέρου και των ωοθηκών (Barillari et al.,2005).

Η ρόκα είναι πλούσια σε βιταμίνες K, A και C, οι οποίες στηρίζουν σημαντικά την καλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Τέλος, περιέχει στοιχεία της ομάδας των καροτενοειδών, και θεωρείται μια τροφή σημαντική ενάντια στην ανάπτυξη ασθενειών όπως είναι η εκφύλιση της ωχράς κηλίδας. Ακόμα ένα πλεονέκτημα της ρόκας είναι η χαμηλή της περιεκτικότητα σε οξαλικά, ενώσεις που περιέχονται στα λαχανικά με φύλλα και οι οποίες συχνά συντελούν στη σωστή απορρόφηση του ασβεστίου από τον οργανισμό. Αυτή η ιδιότητά της, σε συνδυασμό με την πληθώρα βιταμινών (κυρίως της βιταμίνης K) και μετάλλων που συναντά κανείς σε αυτή, την καθιστούν σημαντική στη διατήρηση της υγείας των οστών (Barillari et al.,2005).

2.3.ΚΟΜΜΕΝΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΕΣ ΣΑΛΑΤΕΣ

Σύμφωνα με τον διεθνή οργανισμό IFPA (International Fresh-cut Produce Association) τα φρεσκοκομμένα προϊόντα ορίζονται ως φρούτα ή λαχανικά τα οποία έχουν ξεφλουδιστεί ή και κοπεί σε 100% χρησιμοποιήσιμα προϊόντα που έχουν τοποθετηθεί σε σακούλες ή έχουν προσυσκευαστεί για να προσφέρουν στους καταναλωτές υψηλή θρεπτικότητα, άνεση και γεύση ενώ ταυτόχρονα διατηρούν τη φρεσκάδα τους (Lamikanra,2002). Τα φρέσκα και ωμά λαχανικά υποβάλλονται σε χειρισμούς, όπως, τεμαχισμός, την αποφλοιώση, το πλύσιμο, την απολύμανση, την εμφύσηση, την έκλυση και τη συσκευασία. Ως εκ τούτου, είναι ιδιαίτερα ευπαθή, αλλά αγρονομικά και τεχνολογικά πιο επιρρεπή στην υποβάθμιση της ποιότητας τους σε σχέση με τα ολόκληρα λαχανικά. Ωστόσο, η θρεπτική και οργανοληπτική τους ποιότητα πρέπει να είναι συγκρίσιμη με τα μη επεξεργασμένα προϊόντα.

Μετά το πλύσιμο και τον τεμαχισμό των λαχανικών έχει αλλάξει η αρχική τους κατάσταση, ωστόσο παραμένουν σε νωπή κατάσταση. Οι ζωντανοί ιστοί τους είναι

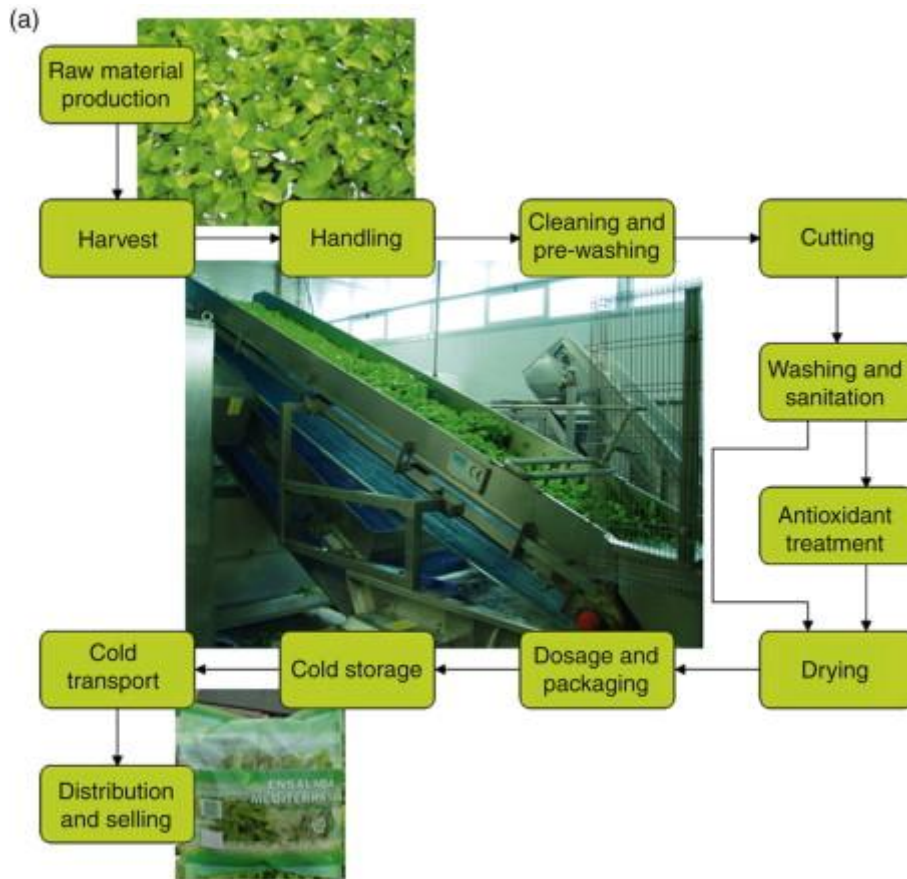
ευαίσθητοι στην ενζυματική δραστηριότητα και αλλοιώνεται η υφή τους, ενώ λόγω της μικροβιακής αύξησης παράγονται ανεπιθύμητες πτητικές ενώσεις. Τέτοιοι παράγοντες μειώνουν αρκετά τη διάρκεια ζωής των λαχανικών. Ως διάρκεια ζωής (self- life) ορίζεται ο χρόνος που απαιτείται ένα φρεσκοκομμένο προϊόν να αλλοιωθούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του όπως η φρεσκάδα, η σταθερότητα, η υφή, το χρώμα, το άρωμα και η θρεπτική αξία, κάτω από ένα αποδεκτό επίπεδο για τον καταναλωτή.

Η τελική δυναμική της ποιότητας μετά τη συγκομιδή και η διάρκεια ζωής των φρέσκων λαχανικών, καθορίζονται πριν από τη συγκομιδή. Πρακτικές επεξεργασίας όπως, συσκευασία και αποθήκευση σε καθορισμένη θερμοκρασία δεν βελτιώνουν την ποιότητα, επιβραδύνουν μόνο το ρυθμό με τον οποίο λαμβάνει χώρα η αλλοίωση. Πρακτικές όπως, το πλύσιμο, η διαλογή και η ταξινόμηση κατά μέγεθος είναι διεργασίες που εκτελούνται με γνώμονα τον καταναλωτή, και γενικά τη βελτίωση της εγγενούς ποιότητας (Brecht et al., 2003). Η πρώτη και πιο σημαντική πτυχή που επηρεάζει τις μετέπειτα επεξεργασίες μετά τη συγκομιδή και τη διάρκεια ζωής των λαχανικών είναι η ποιότητα της πρώτης ύλης κατά τη συγκομιδή.

Τα περισσότερα λαχανικά είναι τρόφιμα χαμηλού κόστους, που περιέχουν χαμηλά επίπεδα λίπους και υψηλά επίπεδα θρεπτικών σημαντικών ενώσεων, όπως βιταμίνες, μέταλλα, φυτικές ίνες, βιοδραστικών ενώσεων, κλπ., πολλά από τα οποία δεν μπορούν να συντεθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό. Η αλλαγή των διατροφικών συνθηκών, όπως σνακ, όλο το χρόνο διαθεσιμότητα του προϊόντος και μιας αυξανόμενης τάσης προς τη χορτοφαγία και την υγιεινή διατροφή έχουν οδηγήσει σε αύξηση της ζήτησης για υγιεινά προϊόντα που ταιριάζουν στο σύγχρονο τρόπο ζωής των καταναλωτών.

2.4.ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΕΤΟΙΜΩΝ ΠΡΟΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΣΑΛΑΤΩΝ

Η τεχνολογία των έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών ξεκινά από την παραγωγή και συγκομιδή τους από τους παραγωγούς και ακολουθούν, η διαλογή, το προ – πλύσιμο, ο τεμαχισμός, πλύσιμο και απολύμανση, αντιοξειδωτική μεταχείριση, στέγνωμα, συσκευασία σε διαπερατά πλαστικά και συντήρηση, μεταφορά και πώληση με διατήρηση της ψυκτικής αλυσίδας στους 2-4°C (Silavana,2009).



Εικόνα 2.3. : Διάγραμμα ροής έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών

Η ποιότητα του προϊόντος επηρεάζεται από τις ποικιλίες, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, τις πρακτικές άρδευσης, τα λιπάσματα και τα προγράμματα ελέγχου των παρασίτων. Πρακτικές όπως το πλύσιμο, η διαλογή, η ταξινόμηση κατά μέγεθος, η κοπή, η ανάμειξη και η συσκευασία δεν αλλάζουν την εγγενή ποιότητα, αλλά προσθέτουν αξία για τον καταναλωτή, ο οποίος ψάχνει εύκολο, υγιεινό και νόστιμο φαγητό. Όπως κάθε ευπαθές προϊόν, τα φρεσκοκομμένα λαχανικά χαρακτηρίζονται από μη αναστρέψιμη επιδείνωση της ποιότητας τους. Ως εκ τούτου, η οργανοληπτική ποιότητα αυτών των τύπων προϊόντων, δεν μπορεί να βελτιωθεί κατά τη διάρκεια της περαιτέρω αποθήκευσης, μπορεί όμως να καθυστερήσει η επιδείνωση εφαρμόζοντας βέλτιστες τεχνικές επεξεργασίας και συσκευασίας, σωστή θερμοκρασία αποθήκευσης, εφαρμογή αναστολέων ενζυμικής αμαύρωσης (Watada και Qi, 1999) καθώς και απορροφητές αιθυλενίου ή οξυγόνου (Markarian, 2004).

Τα φρέσκα προϊόντα είναι επιρρεπή στην πτώση της ποιότητας τους, μεταξύ της συγκομιδής και της κατανάλωσης. Η πτώση αυτή της ποιότητας, εξαρτάται από τις μεθόδους χειρισμού κατά τη συγκομιδή και την επεξεργασία, τη διάρκεια και τη θερμοκρασία της αποθήκευσης και διανομής καθώς και τις συνθήκες της αγοράς. Ως

εκ τούτου, η ποιότητα, εξαρτάται από το συνδυασμό της σωστής θερμοκρασίας κατά την αποθήκευση σε ολόκληρη την ψυκτική αλυσίδα, τις τροποποιημένες συνθήκες συσκευασίας και τις ορθές βιομηχανικές πρακτικές (HACCP) (Kader, 2002α). Οι κύριοι στόχοι της τεχνολογίας μετά τη συγκομιδή, αφορούν την ποιότητα, την εγγύηση της ασφάλειας και τη μείωση των απωλειών σε ολόκληρη την αλυσίδα.

2.5.ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ (Modified Atmosphere Packaging- MAP)

Η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την παράταση της διάρκειας ζωής των νοπών ή ελάχιστα επεξεργασμένων τροφίμων. Σε αυτήν την τεχνική συντήρησης, ο αέρας που περιβάλλει το φαγητό στο πακέτο τροποποιείται σε μια άλλη σύνθεση. Με αυτό τον τρόπο η αρχική νωπή κατάσταση του προϊόντος μπορεί να παραταθεί. Η διάρκεια ζωής των ευπαθών προϊόντων όπως το κρέας, τα ψάρια, τα φρούτα και τα λαχανικά παρατείνεται με τη χρήση αυτής της τεχνικής επιβραδύνοντας τη φυσική φθορά του προϊόντος. Η τεχνική χρησιμοποιείται σε διάφορους τύπους προϊόντων, όπου το μίγμα των αερίων στη συσκευασία εξαρτάται από τον τύπο του προϊόντος, τα υλικά συσκευασίας και τη θερμοκρασία αποθήκευσης. Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι προϊόντα που αναπνέουν, με αποτέλεσμα την έντονη αλληλεπίδραση του υλικού συσκευασίας με το προϊόν. Εάν η διαπερατότητα (για O₂ και CO₂) της μεμβράνης συσκευασίας είναι προσαρμοσμένη στην αναπνοή των προϊόντων, μία ισορροπημένη τροποποιημένη ατμόσφαιρα θα δημιουργηθεί στο πακέτο και ο χρόνος ζωής του προϊόντος στο ράφι θα αυξηθεί.

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνολογία συσκευασίας για φρεσκοκομμένα φρούτα και λαχανικά είναι η τροποποιημένες ατμόσφαιρες. Στις συσκευασίες λαχανικών και φρούτων, η ατμόσφαιρα αερίων που χρησιμοποιείται, δεν είναι αέρας (O₂ - 21% CO₂ 0.01% N₂ - 78%), αλλά συνήθως αποτελείται από ένα μειωμένο επίπεδο O₂ και ένα αυξημένο επίπεδο CO₂. Αυτό το είδος της συσκευασίας επιβραδύνει την κανονική αναπνοή του προϊόντος και έτσι παρατείνει τη διάρκεια ζωής του προϊόντος στο ράφι.

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επιδρούν στην συσκευασία φρέσκων προϊόντων σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Ένας από αυτούς είναι η κίνηση των αερίων μέσα στη συσκευασία. Η κίνηση O_2 , CO_2 και αιθυλενίου στους ιστούς του προϊόντος πραγματοποιείται με διάχυση των μορίων του αερίου, όταν τα αέρια βρίσκονται σε πάνω από ένα όριο συγκέντρωσης. Ωστόσο, χαμηλή ποσότητα αέρα στη συσκευασία, οδηγεί στην αύξηση της αντίστασης και στη διάχυση του αερίου στη συσκευασία. Μια από τις κύριες επιδράσεις της τροποποιημένης ατμόσφαιρας, είναι η μείωση του ρυθμού αναπνοής, η οποία επιβραδύνει την αλλοίωση του προϊόντος. Στη ρόκα, λόγω της διαδικασίας συγκομιδής της, όπου κόβονται τα φύλλα 2-3 εκατοστά πάνω από το έδαφος, ώστε τα φυτά να αναπτυχθούν ξανά, φύλλα διαφόρων ηλικιών περιλαμβάνονται στη συγκομιδή. Τα φύλλα νεαρής ηλικίας έχουν υψηλότερο ρυθμό αναπνοής σε σχέση με τα γηραιότερα. Η ηλικία λοιπόν του φύλλου, επιδρά σημαντικά στη ποιότητα και στη διάρκεια ζωής της συσκευασμένης ρόκας (Siomos et al., 2002).

Πολλοί είναι οι παράγοντες που επιδρούν στην συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας φρέσκων προϊόντων. Μεταβολικές διεργασίες όπως, η αναπνοή και η ωρίμανση, επηρεάζονται αρκετά από τη θερμοκρασία, στην οποία συντηρείται το προϊόν. Οι βιολογικές αντιδράσεις αυξάνουν, δύο έως τρεις φορές, για αύξηση $10^\circ C$ της θερμοκρασίας. Ως εκ τούτου, ο έλεγχος της θερμοκρασίας, είναι ζωτικής σημασίας για την αποτελεσματική λειτουργία του συστήματος της τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Η θερμοκρασία επηρεάζει επίσης, και τη διαπερατότητα της μεμβράνης της συσκευασίας. Με αύξηση της θερμοκρασίας, παρατηρείται αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης, κυρίως στο CO_2 , και λιγότερο στο O_2 . Παράλληλα, καθοριστικό ρόλο παίζει και η σχετική υγρασία, όπου σε χαμηλές τιμές, οδηγεί σε αποξήρανση του προϊόντος, λόγω επίδρασης στη διαπνοή, και σε ψηλές τιμές, παρατηρείται συμπύκνωση στο φιλμ, κατά τις εναλλαγές θερμοκρασίας (Sandhya, 2010).

Οι Lee, Kang και Renault(2000) ανέπτυξαν ένα μαθηματικό μοντέλο για την εκτίμηση των αλλαγών στην ατμόσφαιρα και στην υγρασία μέσα σε συσκευασίες φρέσκων προϊόντων. Το μοντέλο βασιζόταν στα ισοζύγια μάζας των O_2 , CO_2 , N_2 και ατμών H_2O στη συσκευασία. Ακόμη, σχεδιάστηκε και εξετάστηκε μια διαδικασία για να διατηρηθούν τα επιθυμητά επίπεδα O_2 και CO_2 μέσα σε συσκευασίες που εκτίθενται σε διαφορετικές θερμοκρασίες (Silva, Chau, Brecht, & Sargent, 1999). Για

τα περισσότερα προϊόντα το φως δεν είναι σημαντική επιρροή για το χειρισμό τους μετά τη συγκομιδή. Όμως τα πράσινα λαχανικά, με την παρουσία επαρκούς φωτός, μπορούν να καταναλώσουν σημαντικά ποσά CO₂ και να παράγουν O₂ μέσω φωτοσύνθεσης. Σοκ και δονήσεις οδηγούν σε βλάβη στην παραγωγή κυττάρων, γεγονός που προκαλεί αύξηση στην αναπνοή και πιθανή ελευθέρωση ενζύμων που ξεκινούν αντιδράσεις αμαύρωσης.

2.6. ΑΕΡΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΙΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΕΣ

Τα τρία κύρια αέρια που χρησιμοποιούνται σε συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας, είναι το οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα και το άζωτο. Η επιλογή των αερίων, εξαρτάται από τον τύπο του τροφίμου που συσκευάζεται. Τα αέρια, χρησιμοποιούνται μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, με στόχο τις βέλτιστες οργανοληπτικές ιδιότητες του τροφίμου και την ασφαλή παράταση της διάρκειας ζωής του.

Το διοξείδιο του άνθρακα CO₂ είναι άχρωμο και σε μικρές συγκεντρώσεις και άοσμο. Είναι ασφυξιογόνο και ελαφρώς διαβρωτικό παρουσία υγρασίας. Διαλύεται εύκολα στο νερό (1.57 g/kg σε 20°C και 100kPa) και παράγει ανθρακικό οξύ που αυξάνει την οξύτητα του διαλύματος και μειώνει το pH. Αυτό έχει σημαντικές επιπτώσεις στις MAP των τροφίμων. Η υψηλή διαλυτότητα του CO₂ μπορεί να οδηγήσει σε κατάρρευση της συσκευασίας λόγω της μείωσης του όγκου του ελεύθερου χώρου.

Το οξυγόνο O₂ είναι άχρωμο, άοσμο, υψηλής δραστηριότητας και υποστηρίζει την καύση. Έχει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό (0.040 g/kg σε 20°C και 100kPa). Το οξυγόνο προκαλεί διάφορα είδη αντιδράσεων στα τρόφιμα, όπως οξείδωση των λιπών, αντιδράσεις αμαύρωσης και οξειδώσεις χρωστικών. Τα περισσότερα από τα πιο κοινά αλλοιογόνα βακτήρια και μύκητες απαιτούν οξυγόνο για την ανάπτυξη τους. Επομένως, για να αυξήσουμε τη διάρκεια ζωής τροφίμων, η ατμόσφαιρα της συσκευασίας θα πρέπει να έχει χαμηλή συγκέντρωση σε υπολειμματικό οξυγόνο.

Το άζωτο είναι ένα σχετικά αδρανές αέριο, χωρίς οσμή, γεύση, και χρώμα. Έχει χαμηλότερη πυκνότητα από τον αέρα, μη εύφλεκτο και έχει χαμηλή διαλυτότητα σε νερό (0,018 g / kg στα 100 kPa, 20 ° C) και σε άλλα συστατικά των τροφίμων. Το άζωτο, δεν υποστηρίζει την ανάπτυξη των αερόβιων μικροβίων και ως εκ τούτου αναστέλλει την ανάπτυξη αερόβιων μικροοργανισμών αλλοίωσης, αλλά δεν εμποδίζει την ανάπτυξη των αναερόβιων βακτηριδίων. Λόγω της χαμηλής διαλυτότητας του στα τρόφιμα, χρησιμοποιείται για τη διατήρηση του όγκου των συσκευασιών, ώστε να εξισορροπεί τη μείωση του όγκου λόγω διαλυτοποίησης του CO₂ και πιθανής απορρόφησης του O₂.

2.7.ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΣΤΑ ΦΡΕΣΚΟΚΟΜΜΕΝΑ ΛΑΧΑΝΙΚΑ

Η θετική επίδραση της τροποποιημένης ατμόσφαιρας στη διάρκεια ζωής φρεσκοκομμένων λαχανικών οφείλεται στη μείωση του ρυθμού αναπνοής και γενικότερα στη μείωση του ρυθμού των μεταβολικών και βιοχημικών δραστηριοτήτων (παραγωγή αιθυλενίου, καταβολισμός οξέων, αλλαγές πηκτικών ουσιών κλπ). Η αποθήκευση φρεσκοκομμένων λαχανικών σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ και χαμηλές θερμοκρασίες οδηγεί στην παρεμπόδιση Gram αρνητικών βακτηρίων όπως *Pseudomonas* spp. ή Enterobacteriaceae, που θεωρούνται τα πιο κοινά αλλοιογόνα βακτήρια στα φρεσκοκομμένα φυλλώδη λαχανικά. Παρουσιάζουν μέγιστο ρυθμό αύξησης, σε χαμηλές θερμοκρασίες, καθώς και πηκτινολυτικά ένζυμα (Jacxsens, Devlieghere, & Debevere, 2002, Jacxsens et al., 1999, Nguyen-the & Carlin, 1994). Ωστόσο, η τροποποιημένη ατμόσφαιρα, παύει να είναι ευεργετική σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις O₂ ή σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ (Gorny, 1997). Συγκεντρώσεις O₂ κάτω από 1.5% και CO₂ πάνω από 20% ξεπερνούν τα όρια ανεκτικότητας για τα περισσότερα ελάχιστα επεξεργασμένα λαχανικά, προκαλώντας φυσιολογικές βλάβες με επακόλουθες επιπτώσεις στην οργανοληπτική ποιότητα τους (Zagory, 1999). Τα όρια ανεκτικότητας σε χαμηλά επίπεδα O₂ και υψηλά επίπεδα CO₂ εξαρτώνται από διάφορες μεταβλητές, όπως το είδος του λαχανικού, οι ποικιλίες, η θερμοκρασία, η φυσιολογική κατάσταση, η ωριμότητα και οι προηγούμενοι χειρισμοί (Day, 1993, Toivonen 1997).

Τα φρεσκοκομμένα προϊόντα συχνά έχουν διαφορετικές απαιτήσεις όσον αφορά τη συσκευασία τους σε σχέση με τα ολόκληρα προϊόντα. Για τα ολόκληρα προϊόντα, η συσκευασία σχεδιάζεται κυρίως με σκοπό να αποφευχθεί ο καφέ χρωματισμός κατά τη διάρκεια των χειρισμών, μετά την αποθήκευση. Στη ρόκα παρατηρούνται σημαντικές μεταβολές στην περιεκτικότητα της σε χλωροφύλλη και σε χρωματικές παραμέτρους με αποτέλεσμα το κιτρίνισμα των φύλλων (Koukounaras et al., 2006). Η τεχνική της τροποποιημένης ατμόσφαιρας περιλαμβάνει το κλείσιμο του αναπνέοντος προϊόντος σε πολυμερή μεμβράνες, στις οποίες το περιβάλλον των αερίων μεταβάλλεται ενεργητικά ή παθητικά έτσι ώστε να επιβραδύνει την αναπνοή, να μειώσει την απώλεια υγρασίας και τη σήψη με αποτέλεσμα να επεκτείνει τη διάρκεια ζωής των προϊόντων.

Οι συγκεντρώσεις του O_2 και του CO_2 σε μια συσκευασία μπορούν να μοντελοποιηθούν. Έχουν αναπτυχθεί μοντέλα που επιτρέπουν την επιλογή του πιο κατάλληλου υλικού συσκευασίας ανάλογα με το προϊόν. Ένα κοινό μαθηματικό μοντέλο περιλαμβάνει την χρήση του αναπνευστικού μοντέλου Michaelis-Menten για να περιγράψει την επίδραση της θερμοκρασίας, του O_2 (και ενδεχομένως του CO_2) στην αναπνοή. Τα αναπνευστικά μοντέλα συνδυάζονται μετά με την εξίσωση Arrhenius για να προβλέψουν τη μερική πίεση του O_2 στη συσκευασία ως συνάρτηση της θερμοκρασίας, της μάζας του προϊόντος, της επιφάνειας και του πάχους του υλικού (Cameron et al., 1994, Lakakul et al., 1999).

Οι Exama, Arul, Lencki, Lee και Tourin (1993) υπολόγισαν το απαιτούμενο O_2 και τη διαπερατότητα CO_2 για διάφορα λαχανικά για να δημιουργήσουν τις βέλτιστες συγκεντρώσεις των αερίων στις συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Οι υπολογισμοί βασίστηκαν στη σταθερή κατάσταση ρυθμού αναπνοής, ενώ στη συσκευασία MA, στις αλλαγές του ρυθμού αναπνοής, καθώς η ατμόσφαιρα έχει τροποποιηθεί. Ως εκ τούτου, ο σχεδιασμός λαμβάνει υπόψη όχι μόνο τις συνθήκες σταθερής κατάστασης (ρυθμός αναπνοής προϊόντος και διαπερατότητα συσκευασίας), αλλά και τη δυναμική διαδικασία, γιατί αν το προϊόν έχει εκτεθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα σε ακατάλληλη σύνθεση αερίου, πριν συσκευαστεί στην κατάλληλη ατμόσφαιρα, η συσκευασία μπορεί να μην έχει κανένα όφελος. Η θερμοκρασία αποθήκευσης δεν είναι ποτέ σταθερή στην αλυσίδα διανομής των φρέσκων προϊόντων. Λόγω της εξάρτησης θερμοκρασίας, του ρυθμού αναπνοής και της διαπερατότητας του φιλμ της συσκευασίας, οι κυμαινόμενες θερμοκρασίες

οδηγούν σε αλλαγή στις συγκεντρώσεις O₂ και CO₂ (Jacxsens et al.,2000). Λόγω της διαφοράς στα ποσοστά μεταβολής της διαπερατότητας και του ρυθμού αναπνοής με τη θερμοκρασία, το φιλμ που δημιουργεί ευνοϊκές συνθήκες στη βέλτιστη θερμοκρασία αποθήκευσης, μπορεί να προκαλέσει υπερβολική συσσώρευση του CO₂ ή και η εξάντληση του O₂ σε υψηλότερες θερμοκρασίες, μια κατάσταση που μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολικές διαταραχές (Beaudry et al.,1992, Cameron et al.,1994, Cameron et al.,1993, Exama et al.,1993 και Joles et al.,1994). Μια κακοσχεδιασμένη συσκευασία λοιπόν, μπορεί στην πραγματικότητα να μειώσει τη διάρκεια ζωής του προϊόντος, προκαλώντας ακόμα και αναερόβωση, με πιθανή ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών και συνακόλουθα αποτελέσματα για την ασφάλεια των προϊόντων.

Η χρήση υψηλών συγκεντρώσεων O₂ (80-90%) σε συνδυασμό με μέτριες συγκεντρώσεις CO₂ (10-20%)έχει διερευνηθεί ως εναλλακτική για να αναστείλει την ανάπτυξη μικροοργανισμών χρησιμοποιώντας τροποποιημένες ατμόσφαιρες χωρίς αρνητικές επιπτώσεις σε διεργασίες φυσιολογίας (τραυματισμός από CO₂)(Amanatidou et al.,1999, Jacxsens et al.,2001, Allende et al., 2004). Μελέτη με τέτοιες ατμόσφαιρες έχει δείξει ένα μεταβλητό αποτέλεσμα στους μικροοργανισμούς. Η οργανοληπτική αλλά και η συνολική τους ποιότητα βελτιώνεται, λόγω απουσίας ενζυματικής αμάυρωσης, σε προϊόντα που είναι ευαίσθητα σε αυτή (Jacxsens et al.,2001, Allende et al., 2004).

Συμπερασματικά, ο Sandhya (2010) σε ανασκόπηση για τις συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας φρέσκων προϊόντων καταλήγει στα εξής :

- Η μεγαλύτερη επέκταση στη διάρκεια ζωής πραγματοποιείται στη χαμηλότερη δυνατή συγκέντρωση O₂ ,πριν αρχίσει η αναερόβια αναπνοή.
- Το προτεινόμενο ποσοστό οξυγόνου σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα για φρούτα και λαχανικά τόσο για ασφάλεια όσο και για ποιότητα κυμαίνεται μεταξύ 1-5%, αν και το οξυγόνο στην πραγματικότητα θα φτάσει σε επίπεδα κάτω από 1% στις MAP.
- Γενικά πιστεύεται ότι με χρήση διαπερατών μεμβρανών, η αλλοίωση θα εμφανιστεί πριν η παραγωγή τοξινών αποτελέσει πρόβλημα. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται όμως υλικά συσκευασίας τα οποία δεν δημιουργούν

ανοξικό περιβάλλον, όταν το προϊόν αποθηκεύεται στην προβλεπόμενη θερμοκρασία.

- Επιτυχής έλεγχος της αναπνοής του προϊόντος και της παραγωγής αιθυλενίου από κατάλληλη MAP μπορεί να δώσει ένα φρούτο ή λαχανικό υψηλής οργανοληπτικής ποιότητας. Όμως, ο έλεγχος των διαδικασιών αυτών βασίζεται στον έλεγχο της θερμοκρασίας. Θα πρέπει να διατηρούνται οι σωστές θερμοκρασίες σε όλο το διάγραμμα ροής, με πιο δύσκολο το στάδιο της λιανικής πώλησης.
- Το O_2 , CO_2 και N_2 χρησιμοποιούνται πιο συχνά στις συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Από αυτά, το CO_2 είναι το μόνο με άμεση αντιμικροβιακή δράση, το οποίο προκαλεί επιμήκυνση της φάσης προσαρμογής των μικροοργανισμών και του χρόνου πολλαπλασιασμού κατά τη διάρκεια της λογαριθμικής φάσης ανάπτυξης τους. Αν και έχουν εξεταστεί κι άλλα αέρια όπως διοξείδιο του θείου, αιθυλένιο, όζον κλπ, δεν έχουν εφαρμοστεί εμπορικά για οικονομικούς, κανονιστικούς και λόγους ασφαλείας.

2.8. ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΣΑΛΑΤΩΝ

Η αλλοίωση των τροφίμων μπορεί να προσδιοριστεί με πολλούς τρόπους. Γενικά, ένα φρεσκοκομμένο προϊόν θεωρείται αλλοιωμένο όταν δεν είναι πλέον αποδεκτό από τον καταναλωτή (Singh & Anderson, 2004). Αλλαγές στην ποιότητα όπως, καφέτιασμα, δυσάρεστες οσμές και απώλεια της υφής, μπορούν να θεωρηθούν αλλοίωση, όταν υπάρχουν σε τέτοιο βαθμό ώστε το τρόφιμο να μην είναι αποδεκτό (Rico et al, 2007).

Σε αντίθεση με τα περισσότερα επεξεργασμένα τρόφιμα των οποίων η διάρκεια ζωής σε σχέση με την πρώτη ύλη εξαρτάται από την τεχνολογική επεξεργασία, οι εμπορικές έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες χαρακτηρίζονται από διάρκεια ζωής μικρότερη από αυτή της αρχικής ακατέργαστης πρώτης ύλης. Η μεγάλη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών στα κομμένα λαχανικά, η παρουσία διαφορετικών μικροβιακών πληθυσμών, καθώς και η επακόλουθη βλάβη στους φυτικούς ιστούς που προκαλείται από τη γρήγορη συσσώρευση CO_2 στον ελεύθερο

χώρο της συσκευασίας, προωθούν τη βιοχημική και μικροβιακή αστάθεια του προϊόντος (Guerzoni et al., 1996).

Με υψηλή αναλογία επιφάνεια/βάρος και σχετικά υψηλό pH, οι σαλάτες λαχανικών φιλοξενούν ένα μεγάλο μικροβιακό πληθυσμό, κυρίως βακτήρια, ο οποίος συμβάλλει στην φυσική φθορά των βλαστικών οργάνων που έχουν απομονωθεί από το φυτό (Nguyen-The and Carlin, 1994, Ragaert et al., 2007).

Οι μικροβιακοί πληθυσμοί που αποικίζουν τις έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες περιλαμβάνουν *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Chromobacterium* spp., ζύμες, οξυγαλακτικά βακτήρια, λιγότερο συχνά *Aeromonas hydrophila* και περιστασιακά *Listeria monocytogenes* (Membre et al., 1995). Έχουν αναφερθεί πηκτινολυτικά στελέχη ψευδομονάδων που προκαλούν αλλοίωση κατά την αποθήκευση (Brocklehurst et al., 1987), ενώ το *Pseudomonas fluorescens* έχει προσδιοριστεί ως δείκτης αλλοίωσης στις έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες (Willox et al., 1993). Σύμφωνα με τον Tournas (2005), οι πιο κοινοί νηματοειδείς μύκητες που απομονώθηκαν από έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες είναι *Alternaria*, *Cladosporium* και *Penicillium*.

Οι **ψευδομονάδες** είναι αρνητικά κατά Gram βακτήρια, ασποριογόνα και κινούνται με μία ή περισσότερες βλεφαρίδες. Ο μεταβολισμός τους είναι οξειδωτικός και ποτέ ζυμωτικός, και για το λόγο αυτό είναι αυστηρά αερόβια και ποτέ δεν σχηματίζουν CO₂ ή άλλα αέρια. Είναι θετικά στην καταλάση και συνήθως θετικά και στην οξειδάση. Είναι μεσόφιλα ως ψυχρόφιλα και αναπτύσσονται σε θερμοκρασία 4°C ή κατώτερη και μέχρι 28-30°C. Γενικά, είναι βακτήρια με τις μικρότερες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά. Επιφέρουν αλλοιώσεις με την έκκριση λιπολυτικών και πρωτεολυτικών ενζύμων, με χαρακτηριστική υδαρή και γλοιώδη όψη στην επιφάνεια των τροφίμων. Διασπών πρωτεΐνες προς δύσσομα παράγωγα όπως H₂S, NH₃, ινδόλιο κλπ. Πολλά είδη ψευδομονάδων εκκρίνουν χρωστικές οι οποίες είναι ανεπιθύμητες για τα τρόφιμα.

Τα **εντεροβακτήρια** είναι αρνητικά κατά Gram, ασποριογόνα και κινούνται με τη βοήθεια περιτρίχων βλεφαρίδων ή είναι ανάκανα για κίνηση. Ο μεταβολισμός τους είναι οξειδωτικός και ζυμωτικός, αναπτύσσονται υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες και είναι όλα χημειοετερότροφα. Σχηματίζουν οξέα και συχνά μετρήσιμες ποσότητες αερίων σε βάρος της γλυκόζης, άλλων υδατανθράκων αλλά και

πολυδρικών αλκοολών. Τα κύτταρα είναι θετικά ως προς την καταλάση και αρνητικά ως προς την οξειδάση. Οι απαιτήσεις τους σε θρεπτικά συστατικά δεν είναι αυξημένες. Τα εντεροβακτήρια πραγματοποιούν τη μυρμηγκική ζύμωση κατά την οποία σχηματίζεται μυρμηγκικό οξύ από την αποικοδόμηση του πυροσταφυλικού, με παρέμβαση του συνενζύμου A. Το μυρμηγκικό οξύ έχει δυσάρεστη οσμή και γεύση και είναι τελείως ανεπιθύμητο, καθώς υποβαθμίζει κατακόρυφα την ποιότητα του τροφίμου. Η περισσότερο τυπική διάσπαση σακχάρων από εντεροβακτήρια είναι η μεικτή ζύμωση με την οποία σχηματίζονται γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, ηλεκτρικό, μυρμηγκικό(ή CO_2+H_2) και αιθανάλη.

Χαρακτηριστικό των **οξυγαλακτικών βακτηρίων** είναι ο σχηματισμός γαλακτικού οξέος, ως κύριο προϊόν μεταβολισμού των υδατανθράκων. Είναι ασποριογόνα, θετικά κατά Gram βακτήρια και ανεξαρτήτως σχήματος απαντούν σε ζεύγη ή σε αλυσίδες βραχείες ή επιμήκεις. Στερούνται βλεφαρίδων και δεν κινούνται, εκτός από μεμονωμένες περιπτώσεις. Ο μεταβολισμός τους είναι ζυμωτικός, μπορούν όμως να χαρακτηριστούν ως προαιρετικά αναερόβια ή μικροαερόφιλα. Σχεδόν όλα μπορούν να αναπτυχθούν από αερόβιες συνθήκες (μέσα σε τρυβλία) ενώ υποχρεωτικά αναερόβια είναι ελάχιστα στελέχη, αν όχι κανένα. Έχουν μικρές συνθετικές ικανότητες και για το λόγο αυτό αναπτύσσονται μόνο σε πλούσια θρεπτικά υλικά. Χαρακτηρίζονται από την ικανότητα τους να αντέχουν σε χαμηλές τιμές pH.

Οι **μύκητες** είναι ευκαρυωτικοί, πολυκύτταροι συνήθως μικροοργανισμοί, με εξαίρεση τις **ζύμες** που είναι μονοκύτταροι. Δεν διαθέτουν αυτόνομη κίνηση. Οι περισσότεροι είναι αερόβιοι ή προαιρετικά αναερόβιοι. Όταν αναπτύσσονται και αλλοιώνουν τα τρόφιμα, σχηματίζουν μυκήλιο που είναι και μακροσκοπικά ορατό, έτσι ώστε να ζημιώνουν την εμφάνιση τους, σε σημείο που να μην είναι αποδεκτά από το καταναλωτικό κοινό. Κυρίως λόγω της γρήγορης ανάπτυξης των βακτηρίων, οι μύκητες αποτελούν δευτερεύοντες παράγοντες αλλοίωσης. Η ανάπτυξη τους ευνοείται από υψηλή υγρασία και υψηλές θερμοκρασίες.

Τα διάφορα είδη μικροοργανισμών που μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση διαφέρουν μεταξύ των προϊόντων. Για παράδειγμα, λαχανικά πλούσια σε σάκχαρα υφίστανται μικροβιακή ζύμωση από την ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων ή ζυμών, ενώ άλλα εμφανίζουν ήπια συμπτώματα σήψης από αρνητικούς κατά Gram πηκτινολυτικούς μικροοργανισμούς (Jacxsens et al, 2001).

Η αύξηση του αριθμού των αλλοιογόνων μικροοργανισμών συνοδεύεται από συσσώρευση μεταβολιτών όπως αιθανόλη, γαλακτικό οξύ, οξικό αιθυλεστέρα κλπ. Η μεταβολική αυτή δραστηριότητα καθώς και η ενζυματική οξείδωση των πολυφαινολών στους τραυματισμένους ιστούς, οδηγούν σε αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των λαχανικών. Η αλλοίωση είναι ανιχνεύσιμη αισθητικά όταν ο μικροβιακός πληθυσμός φτάνει περίπου 10^7 - 10^8 cfu/g (Guerzoni et al., 1996). Οι Jacxsens et al (2001) καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η διάρκεια ζωής φρεσκοκομμένων λαχανικών περιορίζεται από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους και όχι από την μικροβιακή ανάπτυξη, αφού με βάση αυτά δίνονται λιγότερες μέρες διάρκειας ζωής.

Η οσμή, το χρώμα, η υφή, η εμφάνιση και η φρεσκότητα των λαχανικών είναι από τα πιο βασικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους. Ο σχηματισμός συγκεκριμένων δυσάρεστων οσμών όπως ακεταλδεϋδή και αιθανόλη σε συσκευασμένα φρούτα και λαχανικά είναι ένας δείκτης αναερόβιας αναπνοής (Jacxsens et al., 2003), που τελικά καταλήγει σε ποιοτική υποβάθμιση και απώλεια φρεσκότητας (Jacxsens et al., 2003). Το χρώμα των πράσινων λαχανικών μπορεί να μετατραπεί σε κίτρινο, λόγω οξείδωσης των πράσινων χρωστικών (χλωροφύλλη), αποκαλύπτοντας τα υποκείμενα κίτρινα καροτενοειδή ή μπορεί να δημιουργηθούν καφέ χρωματισμοί στα σημεία κοπής των φύλλων λόγω ενζυματικής οξείδωσης των φαινολικών συστατικών (Toivonen and Brummell, 2008). Η υφή είναι μια άλλη σημαντική παράμετρος για τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά. Το γήρας των λαχανικών είναι μια διαδικασία αποδόμησης, όπου τα κυτταρικά τοιχώματα σπάνε οδηγώντας στον θάνατο του κυττάρου, και το νερό και τα στερεά απελευθερώνονται στο μεσοκυττάριο χώρο (Toivonen and Brummell, 2008). Η κατάρρευση του κυττάρου μπορεί να προκληθεί και από πολύ χαμηλό O_2 στον ενδοκυττάριο χώρο των ζωντανών ιστών (Saltveit, 2003), καταλήγοντας σε απώλεια υφής. Η λέξη “freshness” (φρεσκότητα) προέρχεται από την λατινική λέξη “priscus”, που σημαίνει “κοντά στην προέλευση” (Peneau et al., 2009). Η φρεσκότητα επομένως, σχετίζεται με το πόσο πολύ ένα προϊόν αλλάζει ποιότητα μετά την συγκομιδή του. Αρνητικές ιδιότητες, όπως οι οσμές, είναι συχνά πιο σημαντικές στην αντίληψη της φρεσκότητας από ιδιότητες που προστίθενται θετικά (Peneau et al., 2007). Οι Peneau et al. (2009, 2007, 2006) έδειξαν η φρεσκότητα φρούτων και λαχανικών σχετίζεται με

την εμφάνιση του προϊόντος (χρώμα), την υφή (τραγανότητα) και τη φυσιολογική ηλικία του προϊόντος κατά την κατανάλωση.

Ελαττώματα στην εμφάνιση τους όμως, παρουσιάζονται και αμέσως μετά τη συσκευασία, με αιτίες κατά τη διάρκεια ή μετά τη συγκομιδή των λαχανικών, όπως ζημιές από έντομα, ασθένειες των φυτών, καιρικές συνθήκες, φυσιολογικές διαταραχές λόγω ανεπαρκούς θρέψης των φυτών ή από ακατάλληλους χειρισμούς και μηχανικές βλάβες (Shewfelt, 1990).

Οι τεχνικές συντήρησης ελάχιστα επεξεργασμένων λαχανικών είναι συχνά αποτελεσματικές μόνο στις περιπτώσεις που χρησιμοποιούνται πρώτες ύλες με άριστη αρχική ποιότητα. Οι δύο πιο συχνές τεχνολογίες συντήρησης είναι η χαμηλή θερμοκρασία και οι τροποποιημένες ατμόσφαιρες. Και οι δύο μειώνουν την αναπνευστική δραστηριότητα και το ρυθμό διαπνοής, καταλήγοντας σε επιμήκυνση του χρόνου ζωής (Watada et al, 1996). Έχουν άμεση επίδραση στις μετασυλλεκτικές ασθένειες μειώνοντας τον αριθμό και την ένταση των προσβολών, αλλά και σε φυσιολογικές ασθένειες, όπως ζημιές από χαμηλές θερμοκρασίες (Βασιλακάκης, 2006). Όσον αφορά την μικροβιολογική δραστηριότητα, η επίδραση της τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε αυτή, δεν είναι σταθερή. Η μικροβιακή ανάπτυξη, ελέγχεται περισσότερο από τη θερμοκρασία παρά από τη σύσταση των αερίων (Zagory, 1999). Παράλληλα με αυτά, η διατήρηση της βέλτιστης σχετικής υγρασίας κατά τη συντήρηση είναι πολύ σημαντική.

2.9. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΠΡΟΡΡΗΣΗΣ

2.9.1. Η ΕΝΝΟΙΑ ΚΑΙ Η ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΡΡΗΣΗΣ

Η μικροβιολογία πρόρρησης, βασίζεται στη λεπτομερή γνώση των μικροβιακών αντιδράσεων σε περιβαλλοντικές συνθήκες, δίνοντας τη δυνατότητα έτσι, στην αντικειμενική αξιολόγηση της επίδρασης των δραστηριοτήτων μεταποίησης, διανομής και αποθήκευσης στη μικροβιολογική ασφάλεια και ποιότητα των τροφίμων. Ομαδοποιούνται πλήθος γνώσεων της μικροβιακής συμπεριφοράς στα τρόφιμα και παρουσιάζονται μέσω μαθηματικών μοντέλων. Η ομαδοποίηση αυτών των γνώσεων, γίνεται μέσω συσκευών, οι οποίες αποθηκεύουν και αντιστοιχούν τις

πληροφορίες, με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που βιώνουν οι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα. Τα μοντέλα αυτά, λειτουργούν ως οικονομικά αποδοτικά υποκατάστατα, έναντι των παραδοσιακών μικροβιολογικών δοκιμών, για την εκτίμηση της διάρκειας ζωής και της ασφάλειας των τροφίμων. Αν έχουν κατασκευαστεί και λειτουργούν σωστά τα μοντέλα αυτά, αποτελούν την απόλυτη ταχεία μέθοδο.

Πολλές μέθοδοι έχουν ανακαλυφθεί για τη διατήρηση των τροφίμων στο πέρασμα των αιώνων, για μερικές από τις οποίες έχει προσδιοριστεί και η επιστημονική τους βάση. Ένα παράδειγμα ενός μοντέλου πρόβλεψης, αφορά την θερμική επεξεργασία των τροφίμων, όπου μια μέθοδος επαρκεί, για την καταστροφή 10¹² σπορίων του *Clostridium botulinum* τύπου A. Η διαδικασία χαρακτηρίζεται από ένα προγνωστικό μοντέλο που αναπτύχθηκε από Esty και Meyer (1922) και παρά τα μικρά προβλημάτια που έχουν παρουσιαστεί, η αποτελεσματικότητα της μεθόδου είναι ευρέως αποδεκτή από την κονσερβοποιία. Λίγα χρόνια αργότερα, τη δεκαετία του 1930, έγινε αναφορά από τον Scott για τη χρήση μιας «έξυπνης» μικροβιολογίας τροφίμων, η οποία θα μπορούσε να περιγράψει τους ρυθμούς ανάπτυξης ορισμένων μικροοργανισμών σε διαφορετικές θερμοκρασίες, ώστε να προβλέψει την αλλοίωση του κατεψυγμένου μοσχαρίσιου κρέατος καθώς και την ασφάλεια του, στο ράφι. Ωστόσο, δεν κατάφερε να αξιοποιήσει το δυναμικό της σκέψης του, λόγω της έλλειψης της υπολογιστικής δύναμης (Meekin et al., 2002)

Η βιβλιογραφία παρέμεινε σχετικά σιωπηρή για την έξυπνη μικροβιολογία, μέχρι τη δεκαετία του 1960 και του 1970, όταν εμφανίστηκαν χειρόγραφα σχετικά με την αντιμετώπιση της αλλοίωσης των τροφίμων και των προβλημάτων τροφικής δηλητηρίασης. Τα ζητήματα αυτά, διευθετήθηκαν με τη χρήση κινητικών μοντέλων Spencer και Baines , 1964 , Nixon , 1971 , Olley και Ratkowsky , 1973a και Olley και Ratkowsky , 1973b. Κατά τη διερεύνηση της μικροβιακής αλλοίωσης των ψαριών , Olley και Ratkowsky , 1973a και Olley και Ratkowsky , 1973b βρήκαν ότι η θερμοκρασία επηρεάζει τη διαδικασία της αλλοίωσης και πρότειναν μια «καθολική» καμπύλη αλλοίωσης. Από την καμπύλη αυτή, οι συγγραφείς συνειδητοποίησαν τη σημαντικότητα της σχετικής ταχύτητας, η οποία έγινε ο ακρογωνιαίος λίθος για την εφαρμογή των μοντέλων πρόβλεψης και προπομπός σε παραλλαγές , όπως η έννοια γάμμα (Zwietering et al., 1996) . Ο δεύτερος τομέας της έρευνας στην μικροβιολογία προώρισης στη δεκαετία του 1970, ασχολήθηκε με την πρόληψη της αλλαντίασης και

άλλων μικροβιακών δηλητηριάσεων και βασίστηκε σε μοντέλα πιθανοτήτων (Genigeorgis, 1981).

Το 1980 υπήρξε μια σημαντική αύξηση του ενδιαφέροντος για τη μικροβιολογία προώρισης, ως αποτέλεσμα των μεγάλων επιδημιών τροφικής δηλητηρίασης και την επακόλουθη δημόσια και πολιτική απαίτηση για ασφαλή και υγιεινά τρόφιμα. Τα δύο «παραδοσιακά» παθογόνα των τροφίμων (σαλμονέλα στα αυγά) και αναδυόμενα παθογόνα (*Listeria monocytogenes*) με ασυνήθιστα χαρακτηριστικά (ψυχρότροφα) συνέβαλαν στην ιεράρχηση της έρευνας για την ασφάλεια των τροφίμων από τις κυβερνήσεις των ΗΠΑ, του Ηνωμένου Βασιλείου, άλλες χώρες της ΕΕ και την Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία.

Κατά τη δεκαετία του 1980 και ένα μεγάλο μέρος της δεκαετίας του 1990, η κινητική προσέγγιση της μοντελοποίησης κυριάρχησε στην προγνωστική σκηνή της μικροβιολογίας τροφίμων, αλλά και πιο πρόσφατα, η επιστροφή στην μοντελοποίηση ήταν εμφανής. Η τάση αυτή οφείλεται, στην αναγνώριση ότι η μεταβλητότητα στην εκτίμηση του χρόνου απόκρισης (χρόνος γενεάς και φάση προσαρμογής) δεν κατανέμεται κανονικά, αλλά συνήθως περιγράφεται από ένα γάμμα ή ακόμη και από αντίστροφη κατανομή του Gausse, όπου η διακύμανση του χρόνου απόκρισης είναι ανάλογη προς το τετράγωνο ή τον κύβο της μέσης απόκρισης του χρόνου (Ratkowsky et al., 1996). Παράλληλα, έχουμε την εμφάνιση επικίνδυνων παθογόνων (κυρίως *Escherichia coli* 0157: H7) με πολύ χαμηλή μολυσματική δόση, όπου απαιτείται βασική γνώση για την πρόληψη της διάδοσης του. Τέλος, έχουμε αυξημένη ευαισθητοποίηση των στοχαστικών προσεγγίσεων, ως αποτέλεσμα της ποσοτικής μικροβιακής μελέτης της αξιολόγησης του κινδύνου.

2.9.2. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΑ ΕΙΔΗ ΤΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ

Οι Ross et al. (2000) στην εξέταση της θεωρίας και της φιλοσοφίας των μαθηματικών μοντέλων επέστησαν την προσοχή στις ανταγωνιστικές απαιτήσεις των εμπειρικών και μηχανιστικών μοντέλων. Τα εμπειρικά μοντέλα διατηρούν το ρεαλιστικό τους χαρακτήρα και περιγράφουν τα δεδομένα με μια μαθηματική σχέση. Από την άλλη πλευρά, τα μηχανιστικά μοντέλα, προέρχονται από μια θεωρητική

βάση, παρέχοντας την ερμηνεία της απόκρισης που παρατηρήθηκε από τους υποκείμενους μηχανισμούς και επιδέχονται τελειοποίηση. Ανάμεσα στα μοντέλα που χρησιμοποιούνται συνήθως στη μικροβιολογία πρόρρησης, κανένα δεν είναι αμιγώς μηχανιστικό, κάποια έχουν μία υποκείμενη βάση και μερικά έχουν μια απλή καμπύλη, όπου τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία του μοντέλου είναι μοναδικά.

Η ταξινόμηση των μοντέλων πρόβλεψης βασίζεται στη συμπεριφορά του πληθυσμού που περιγράφουν και περιλαμβάνει τα μοντέλα ανάπτυξης, τα όρια της ανάπτυξης (interface) και μοντέλα αδρανοποίησης. Κατά τη διάρκεια της «έκρηξης» της κινητικής μοντελοποίησης την δεκαετία του 1980, χρησιμοποιήθηκαν δύο βασικές προσεγγίσεις μοντελοποίησης και αργότερα προτάθηκαν 3, από τους Whiting and Buchanan (1993), πρωτογενή, δευτερογενή και τριτογενή. Χρησιμοποιήθηκαν τα πρωτογενή μοντέλα, τα οποία περιγράφουν τις μεταβολές της πυκνότητας του πληθυσμού με το χρόνο σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον και απεικονίζονται ως καμπύλες μικροβιακής ανάπτυξης ή καμπύλες θανάτου. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης και πολυωνυμικά (δευτερογενή) μοντέλα, που δείχνουν πως οι παράμετροι του πρωτογενούς μοντέλου αλλάζουν συναρτήσει περιβαλλοντικών παραγόντων και περιλαμβάνει ένα μετασχηματισμό των δεδομένων χρόνου απόκρισης, για παράδειγμα, τα μοντέλα τύπου Arrhenius στην οποία ο φυσικός λογάριθμος του συντελεστή ή μοντέλα τύπου Béléhrádek στα οποία η τετραγωνική ρίζα του ρυθμού είναι συναφείς με τη θερμοκρασία. Τα τριτογενή μοντέλα, είναι τα εργαλεία εφαρμογής, όπως νομογράμματα, πακέτα λογισμικού και συστήματα εμπειρογνωμόνων. Η επιλογή των μεταβλητών επί της επιφάνειας απόκρισης καθορίζεται συχνά από ένα κεντρικό σύνθετο πειραματικό σχεδιασμό (McMeekin et al., 2002).

Αν και τα δύο μοντέλα είναι εμπειρικά, οι υποστηρικτές του πρώτων μοντέλων, ισχυρίζονται ότι περιέχουν τις παραμέτρους με βιολογικό ενδιαφέρον, ενώ τα πολυώνυμικά μοντέλα αντιπροσωπεύουν ένα «μαύρο κουτί». Σε αυτά, η βιολογική σημασία είναι κρυμμένη, με αποτέλεσμα, να απαιτείται το γινόμενο των παραγόντων ώστε να δώσει μια ολοκληρωμένη περιγραφή, του συνόλου των δεδομένων, που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή του. Οι πρόσφατες τάσεις, δείχνουν αύξηση της χρήσης των υπολογιστικών νευρωνικών δικτύων, τα οποία προωθούν την προσέγγιση

«μαύρο κουτί» και πιθανόν αναστέλλουν τα μηχανιστικά και βιολογικά σχετικά μοντέλα (McMeekin et al., 2002).

Οι Ross et al. (2000) σχολίασαν επίσης πτυχές της πρακτικής της κατασκευής του μοντέλου, συμπεριλαμβανομένου του εύρους των χαρακτηριστικών που εξετάστηκαν (ανάπτυξη, θάνατος, επιβίωση, σχηματισμός τοξινών) και τις μεταβλητές που μοντελοποιούνται και συχνά περιλαμβάνουν τη θερμοκρασία, την ενεργότητα του νερού, το pH, τη συγκέντρωση νιτρικών αέριων στην ατμόσφαιρα, και σε ορισμένες περιπτώσεις, οργανικά οξέα ή άλλα συντηρητικά. Η διαδοχική διαδικασία που υιοθετήθηκε στη μοντελοποίηση, αποτελείται συνήθως από την ανάπτυξη ενός πρωτογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του μεγέθους των ενδιαφώνων απαντήσεων, όπως τον μέγιστο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, τη διάρκεια της φάσης προσαρμογής, το χρόνο για να φτάσει σε ένα συγκεκριμένο επίπεδο (οι αριθμοί των κυττάρων ή των μεταβολιτών) ή το ποσοστό θανάτου. Ένα δευτερεύον μοντέλο κατασκευάζεται στη συνέχεια, για να δείξει την εξάρτηση αυτών των παραγόντων, με τις περιβαλλοντικές συνθήκες, και σε ορισμένες περιπτώσεις, ο αλγόριθμος ενσωματώνεται σε πακέτα λογισμικού υπολογιστή, για να δημιουργήσει ένα τριτεύον μοντέλο.

2.9.3. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΡΡΗΣΗΣ

Η μικροβιολογία πρόρρησης χρησιμοποιήθηκε στη βιβλιογραφία για τον σχεδιασμό της συσκευασίας φρεσκοκομμένων προϊόντων μελετώντας την επίδραση των συνθηκών αποθήκευσης και τη διαπερατότητα των φιλμ συσκευασίας, παράγοντες οι οποίοι ευθύνονται για την αλλοίωση των προϊόντων (Jacxsens et al., 1999, Jacxsens et al., 2000 and Jacxsens et al., 2002). Επίσης έχει χρησιμοποιηθεί για να καθορίσει τη διάρκεια ζωής των προϊόντων διατροφής. Αρκετές προσπάθειες έχουν γίνει προς την προγνωστική μοντελοποίηση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών στο εσωτερικό ή στην επιφάνεια των τροφίμων ως συνάρτηση του χρόνου της αποθήκευσης υπό ψύξη. Αυτά τα μοντέλα είναι αναλυτικές εκφράσεις, όπως το Gompertz ή η λογιστική καμπύλη (π.χ. Zwietering et al., 1991) τα οποία παρουσιάζουν την τυπική σιγμοειδή εμφάνιση της καμπύλης βακτηριακής ανάπτυξης, ή είναι σύνολα των συνήθων διαφορικών εξισώσεων (Baranyi and Roberts, 1995).

Οι εμπειρικές σιγμοειδής αναλυτικές εκφράσεις που χρησιμοποιούνται στη μικροβιολογία πρόρρησης των τροφίμων είναι ελκυστικές λόγω της απλότητάς τους.

Για παράδειγμα, οι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει το μοντέλο Gompertz για τον υπολογισμό των παραμέτρων του μοντέλου ως συνάρτηση των αποτελεσμάτων της σύνθεσης υποστρώματος (συγκέντρωση άλατος, pH, θερμοκρασία) για την ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes* (Buchanan et al., 1989). Η ακρίβεια στην πρόβλεψη της ανάπτυξης εξαρτάται από τον αριθμό των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται.

2.10. ΣΤΟΧΟΙ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Η παρούσα μελέτη είχε ως στόχους: α) να μελετηθεί την επίδραση της θερμοκρασίας συντήρησης και του ποσοστού CO₂ στην μικροβιολογική αλλοίωση φρεσκοκομμένης σαλάτας ρόκας καθώς και πολτού αυτής και β) αναπτυχθούν και να επικυρωθούν μοντέλα πρόβλεψης της ανάπτυξης των κυρίαρχων μικροοργανισμών συναρτήσει των παραπάνω παραγόντων.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΩΝ

Παραλήφθηκαν συσκευασμένες σαλάτες ρόκας 100gr. με εμπορική ονομασία «Η κουζίνα μου» (Εικ. 3.1.). Η εμπορική συσκευασία, λόγω της έντονης αναπνοής της ρόκας είναι διάτρητη (micro-perforated) με σκοπό την γρήγορη αναπλήρωση του οξυγόνου εντός της συσκευασίας. Οι συσκευασίες συντηρήθηκαν στους 0°C έως ότου να ξεκινήσει η πειραματική διαδικασία.

Μελετήθηκε ολόκληρο το λαχανικό της ρόκας αλλά και ο πολτός αυτού. Η υδαρής υφή του πολτού, αποτέλεσε το ιδανικό ρεαλιστικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών αλλοίωσης της ρόκας. Παράλληλα, καταστράφηκε εντελώς η κυτταρική δομή των φύλλων, με αποτέλεσμα την ολοκληρωτική σχεδόν διακοπή της αναπνευστικής του δραστηριότητας του λαχανικού. Οι εμπορικές συσκευασίες ανοίχτηκαν και ποσότητες 10 γραμμαρίων ρόκας ή 10 γραμμαρίων πολτού ρόκας επανασυσκευάστηκαν σε πλαστικές σακούλες μεγέθους 22.5 x 25.5 cm με τη χρήση σφραγιστικής μηχανής συσκευασίας εμφύσησης αερίων (Henko Vac 1900 Machine, Howden Food Equipment B.V., The Netherlands). Ο πολτός ρόκας παρασκευάστηκε με τη βοήθεια μίξερ χειρός. Οι σακούλες που χρησιμοποιήθηκαν είχαν όγκο 1060 mL η κάθε μια και χαρακτηρίζονται από διαπερατότητα αερίου περίπου 25, 90, και 6 cm³/m² ανά ημέρα/ 105 Pa για το CO₂, O₂ και N₂, στους 20°C και 50% σχετική υγρασία (Flexopack A.E., Αθήνα, Ελλάδα) (Εικ. 3.2.). Τόσο ο πολτός όσο και ολόκληρο το λαχανικό της ρόκας συσκευάστηκαν στις παρακάτω τροποποιημένες ατμόσφαιρες:

- 0% O₂ – 20% CO₂
- 5% O₂ – 15% CO₂
- 10% O₂ – 10% CO₂
- 15% O₂ – 5% CO₂
- 21% O₂ – 0% CO₂



Εικόνα 3.1.: Εμπορική συσκευασία ρόκας



Εικόνα 3.4.: Συσκευαστική μηχανή με εμφύσηση αερίου

Στη συνέχεια, συσκευασίες από όλες τις παραπάνω κατηγορίες διατηρήθηκαν σε ψυκτικούς θαλάμους σε υψηλής ακρίβειας ($\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$) (MIR-153, Sanyo Electric Co., Osaka, Japan) στους 0, 5, 10 και 15°C και σε ψυκτικό θάλαμο μεταβαλλόμενων θερμοκρασιών, με θερμοκρασιακό πρόγραμμα 8 ώρες/ 4°C , 8 ώρες/ 12°C και 8 ώρες/ 8°C).

3.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΕΡΙΩΝ

Πριν από κάθε δειγματοληψία πραγματοποιούταν μέτρηση των αερίων εντός της συσκευασίας που επρόκειτο να χρησιμοποιηθεί με χρήση οργάνου (Εικ. 3.3.). (Gas meter Check Mate 9900 O₂/CO₂/PBI-Dansensor /S, Denmark).

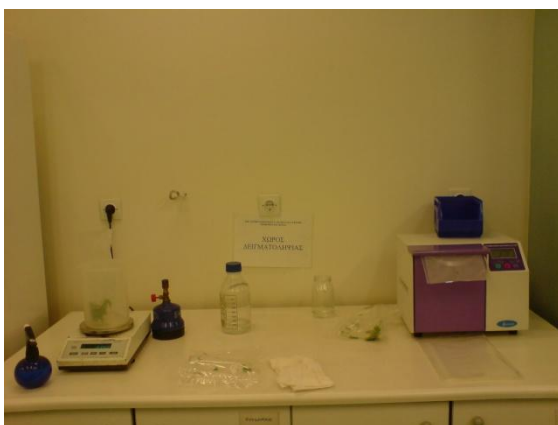


Εικόνα 3.3. : Μετρητής αερίων

3.3.ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες, σε 2 δείγματα ανά περίπτωση, την ημέρα παραλαβής και έπειτα στους 0°C κάθε 4-6 μέρες, στους 5 °C κάθε 3-4 μέρες, στους 10°C κάθε 2 μέρες και στους 15°C κάθε μέρα. Η πορεία δειγματοληψίας για όλες τις θερμοκρασίες ήταν η ίδια.

Ζυγίστηκαν 10 g λαχανικού σε αποστειρωμένη σακούλα stomacher και προστέθηκαν 90 ml στείρο διάλυμα Ringer (Lab M, Lancashire, UK) υπό ασηπτικές συνθήκες ώστε να επιτευχθεί αραιώση 1:10. Ακολούθησε ομογενοποίηση σε συσκευή Stomacher για 60 δευτερόλεπτα (Interscience, France) και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Εικ. 3.4.).



Εικόνα 3.4.: Πάγκος δειγματοληψίας

Στη συνέχεια, 1 mL από την σακούλα, που αποτελεί την πρώτη δεκαδική αραιώση, μεταφέρθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 9 mL διαλύματος MRD, σχηματίζοντας έτσι την δεύτερη δεκαδική αραιώση. Με τον ίδιο τρόπο δημιουργήθηκαν οι απαιτούμενες κατά περίπτωση διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις. Από τις αραιώσεις αυτές επιλέχθηκαν οι κατάλληλες για τον εμβολιασμό των τρυβλίων (Εικ. 3.5.).



Εικόνα 3.5.:Πάγκος εργασίας

Συγκεκριμένα, 1 mL από την κατάλληλη δεκαδική αραίωση τοποθετήθηκε σε τρυβλίο, όπου με τη διαδικασία της ενσωμάτωσης χρησιμοποιήθηκαν τα εξής υποστρώματα:

- **PCA** (Plate Count Agar, LAB M) για τον προσδιορισμό της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας. Ακολούθησε επώαση σε θάλαμο 30°C για 48-72 ώρες.
- **VRBG** (Violet Red Bile Glucose Agar, LAB M) για τον προσδιορισμό των εντροβακτηρίων. Επώσα στους 37°C για 24 ώρες.
- **MRS Agar** (de Man Rogosa and Sharpe Agar , LAB M) για τον προσδιορισμό των γαλακτικών βακτηρίων, ρυθμισμένο σε pH 5.8 με χρήση HCl. Επώση στους 30°C για 48-72 ώρες.

Με τη διαδικασία της επίστρωσης 0.1 ml από την κατάλληλη δεκαδική αραίωση τοποθετήθηκε σε τρυβλία που περιείχαν τα εξής υποστρώματα:

- **Pseudomonas Agar +modified Cephalothin Fucidin Ceftrimide** (CFC LAB M) για τον προσδιορισμό των ψευδομονάδων. Επώαση στους 25°C για 48 ώρες.
- **RBC** (Rose Bengal Chloramphenicol, RBC LAB M) για τον προσδιορισμό των ζυμών και μυκήτων. Επώαση στους 25°C για 72-120 ώρες.

3.4. ΜΕΤΡΗΣΗ pH

Μετά το τέλος των μικροβιολογικών αναλύσεων, πραγματοποιήθηκε μέτρηση της τιμής pH σε κάθε δείγμα(σακούλα stomacher) με πεχάμετρο (pH526 WTW, Multical) (Εικ. 3.6.).



Εικόνα 3.6.: Μέτρηση pH

3.5. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ

Ο μικροβιακός πληθυσμός του πολτού καθώς και ολόκληρης της ρόκας, κατόπιν λογαριθμικής μετατροπής, εισήχθηκε σε υπολογιστικό φύλλο Microsoft office excel 2007. Με χρήση του DMFit, ενός πρόσθετου προγράμματος στο Microsoft office excel 2007 το οποίο αναπτύχθηκε από το Ινστιτούτο Έρευνας Τροφίμων, Νόργουιτς, UK, εκτιμήθηκε η κινητική παράμετρος του ρυθμού αύξησης του μικροβιακού πληθυσμού συναρτήσει του CO₂ και της θερμοκρασίας. Ακολούθησε η χρήση του πρωτογενούς μοντέλου των Baranyi and Roberts (1994) για την προσαρμογή των λογαριθμικών πληθυσμών των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων, το οποίο υπολόγισε εκτιμήσεις τριών κινητικών παραμέτρων, του μέγιστου ρυθμού αύξησης (v_{max}), της φάσης προσαρμογής (lagphase) και τον μέγιστο αριθμό κυττάρων του μικροοργανισμού (N_{max}).

Οι εκτιμήσεις του μέγιστου ρυθμού αύξησης (v_{max}) των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων που προέκυψαν από το πρωτογενές μοντέλο Baranyi and Roberts (1994), τοποθετήθηκαν σε πολυωνυμικά μοντέλα γραμμικής συσχέτισης. Για το λαχανικό ρόκας επιλέχθηκε λογαριθμικός μετασχηματισμός του μέγιστου ρυθμού αύξησης (v_{max}) για τις ψευδομονάδες και τα οξυγαλακτικά βακτήρια, ενώ για το πολτό, κανένας μετασχηματισμός για τα οξυγαλακτικά βακτήρια και λογαριθμικός για τις ψευδομονάδες. Οι μετασχηματισμοί αυτοί έγιναν με σκοπό, τη μείωση της διακύμανσης της μεταβλητής απόκρισης παρέχοντας έτσι την καλύτερη δυνατή εφαρμογή των πολυωνυμικών μοντέλων. Η καλύτερη αυτή δυνατή εφαρμογή, έγινε βάση του συντελεστή προσδιορισμού (R^2) και τη τετραγωνική ρίζα του τυπικού σφάλματος (RMSE). Η γενική έκφραση του πολυωνυμικού μοντέλου είναι :

$$Y = b_0 + b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + b_4 * x_1 * x_2 + b_7 * x_1 * x_1 + b_8 * x_2 * x_2$$

b_0, b_1, \dots, b_8 είναι οι σταθερές που πρέπει να εκτιμηθούν, X_1, X_2 είναι οι ανεξάρτητες μεταβλητές εισόδου (CO_2 και θερμοκρασία) και το Y είναι η μεταβλητή απόκρισης (μέγιστος ρυθμός αύξησης, $\ln v_{max}$).

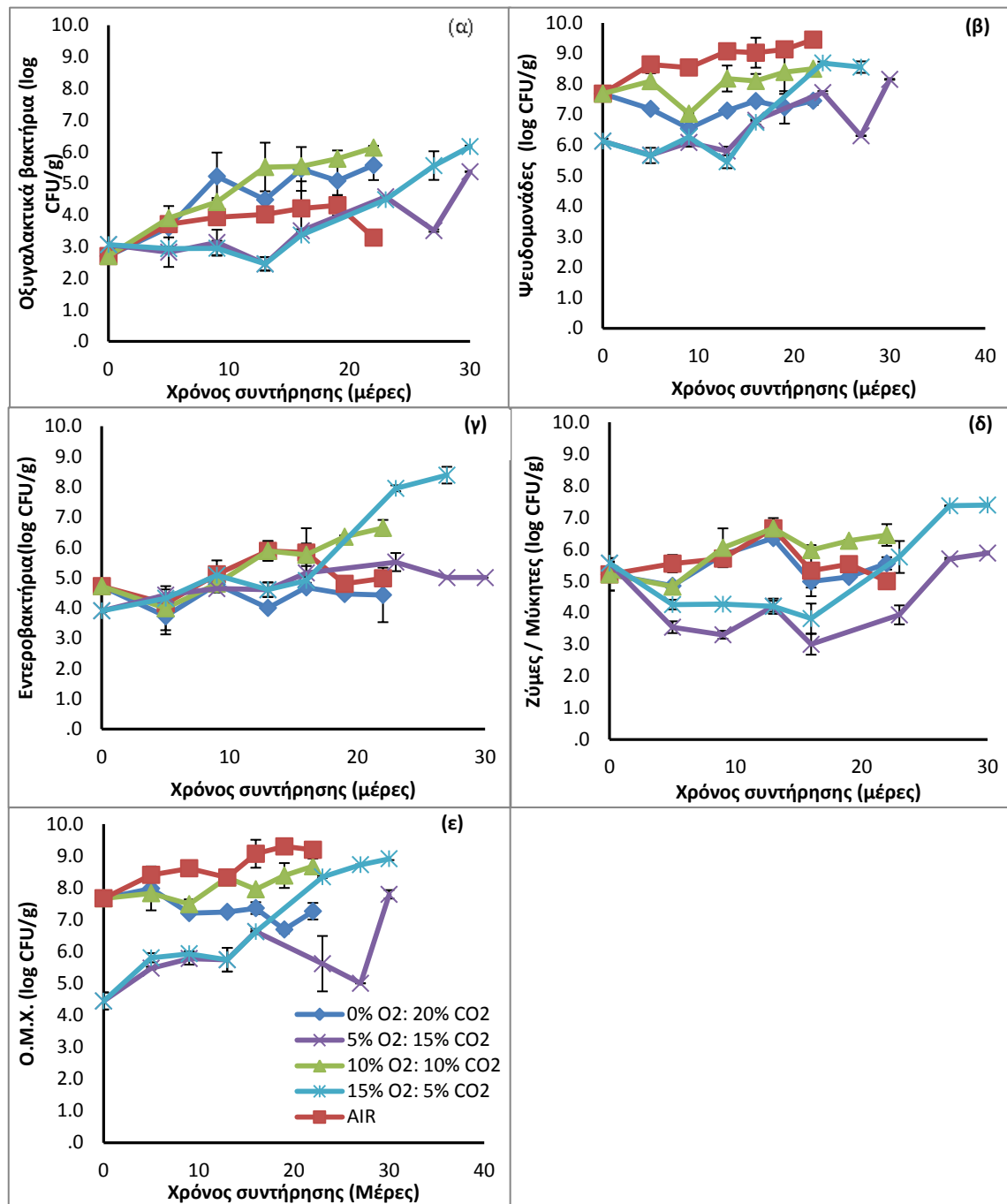
3.6.ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΟΝΤΕΛΩΝ

Τα πολυωνυμικά μοντέλα που αναπτύχθηκαν, επικυρώθηκαν εσωτερικά, χρησιμοποιώντας τα δεδομένα που συλλέχτηκαν από την συντήρηση πολτού και λαχανικού ρόκας σε δυναμικές θερμοκρασιακές συνθήκες σε TA 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε και εξωτερική επικύρωση, όπου τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν χρησιμοποιώντας τα δεδομένα του πολτού της ρόκας, επικυρώθηκαν με τις παρατηρήσεις από τις δυναμικές θερμοκρασιακές συνθήκες σε TA 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ του λαχανικού της ρόκας.

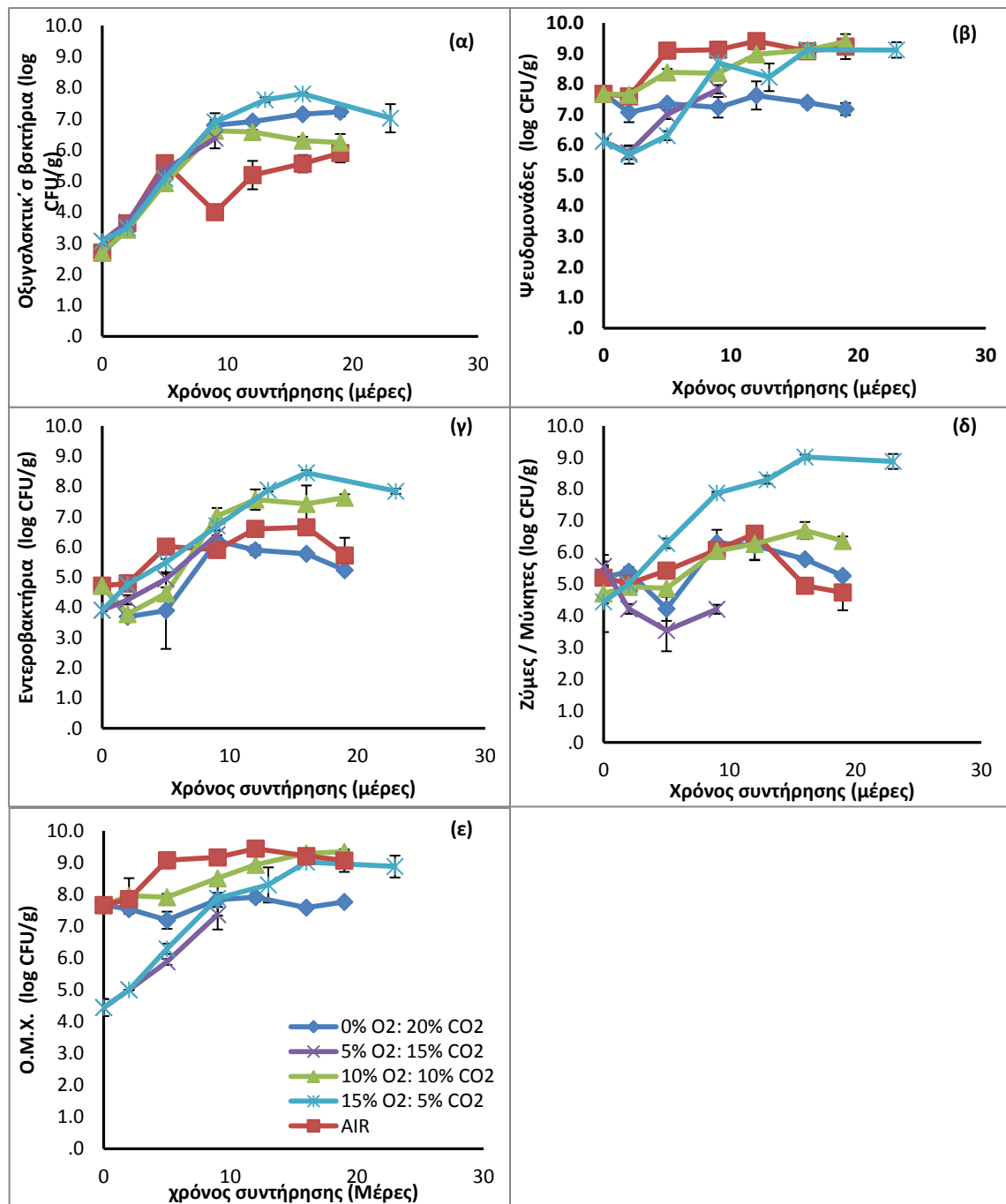
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ

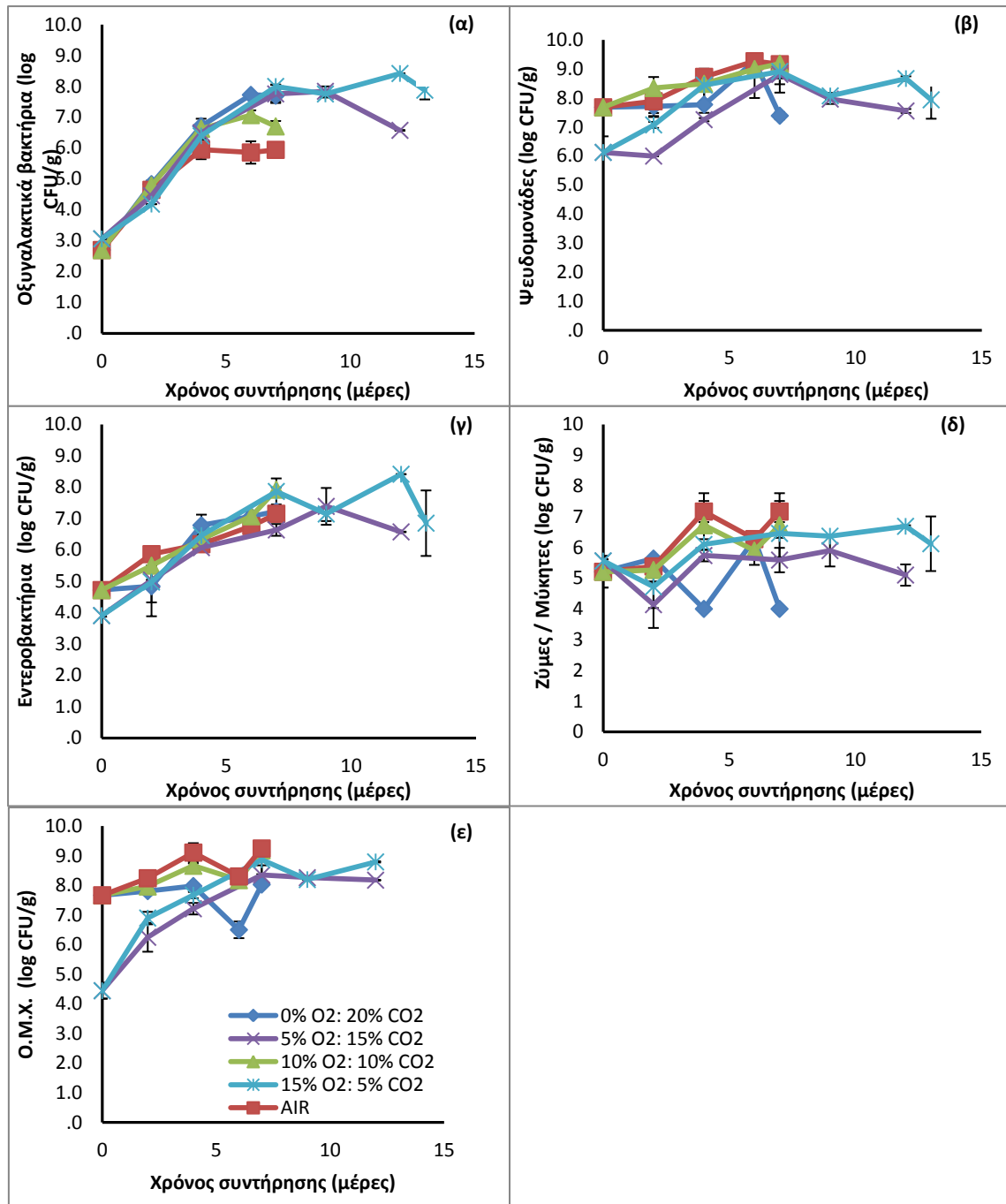
Τα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζουν την πορεία των 5 ομάδων μικροοργανισμών που εξετάστηκαν, κατά τη συντήρηση πολτού ρόκας στις διαφορετικές θερμοκρασίες (0,5,10,15°C) και για κάθε συσκευασία ΤΑ (0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂).



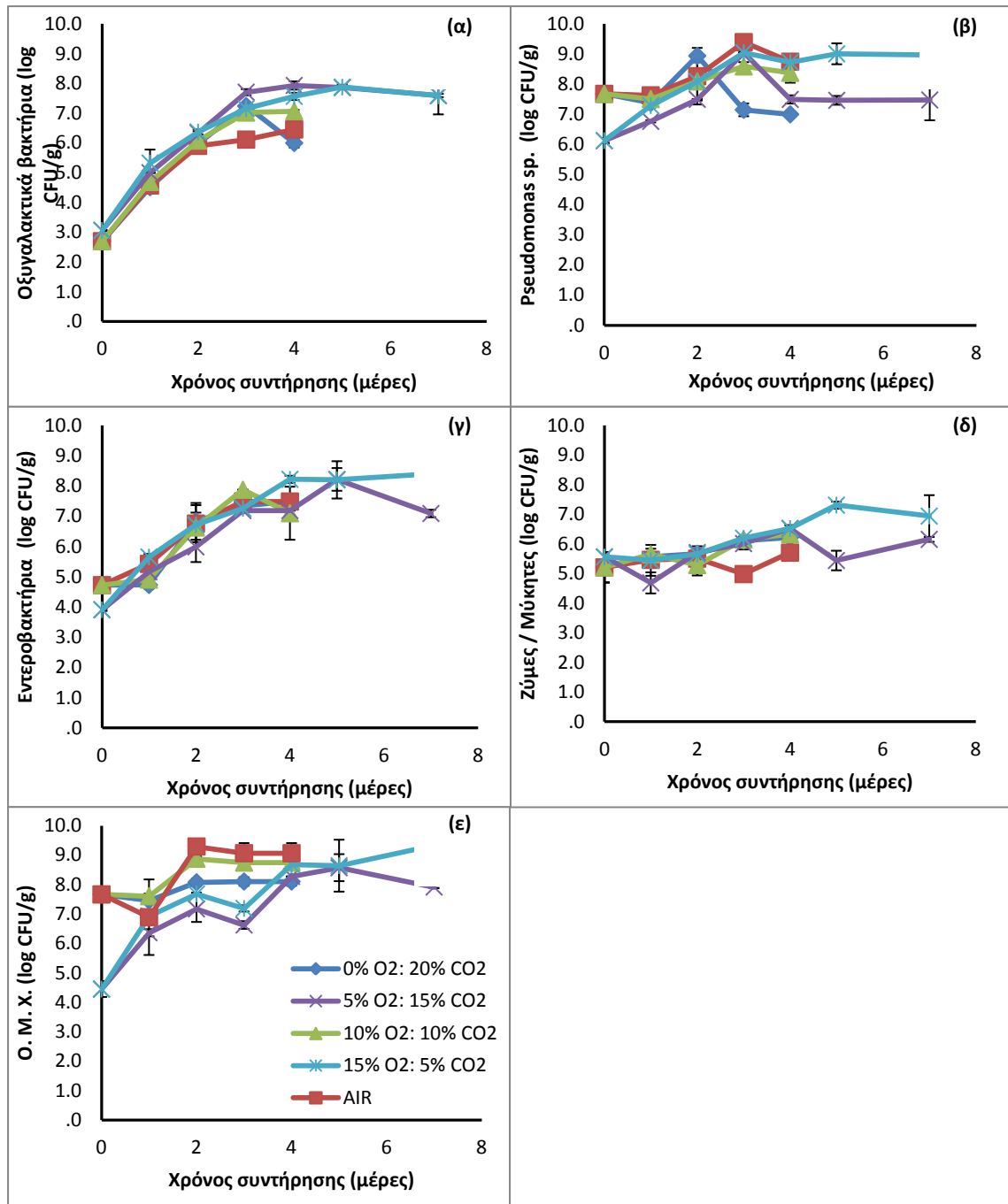
Διάγραμμα 4.1.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε πολτό ρόκας που συντηρήθηκε στους 0 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.



Διάγραμμα 4.2.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε πολύ ρόκα που συντηρήθηκε στους 5 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.



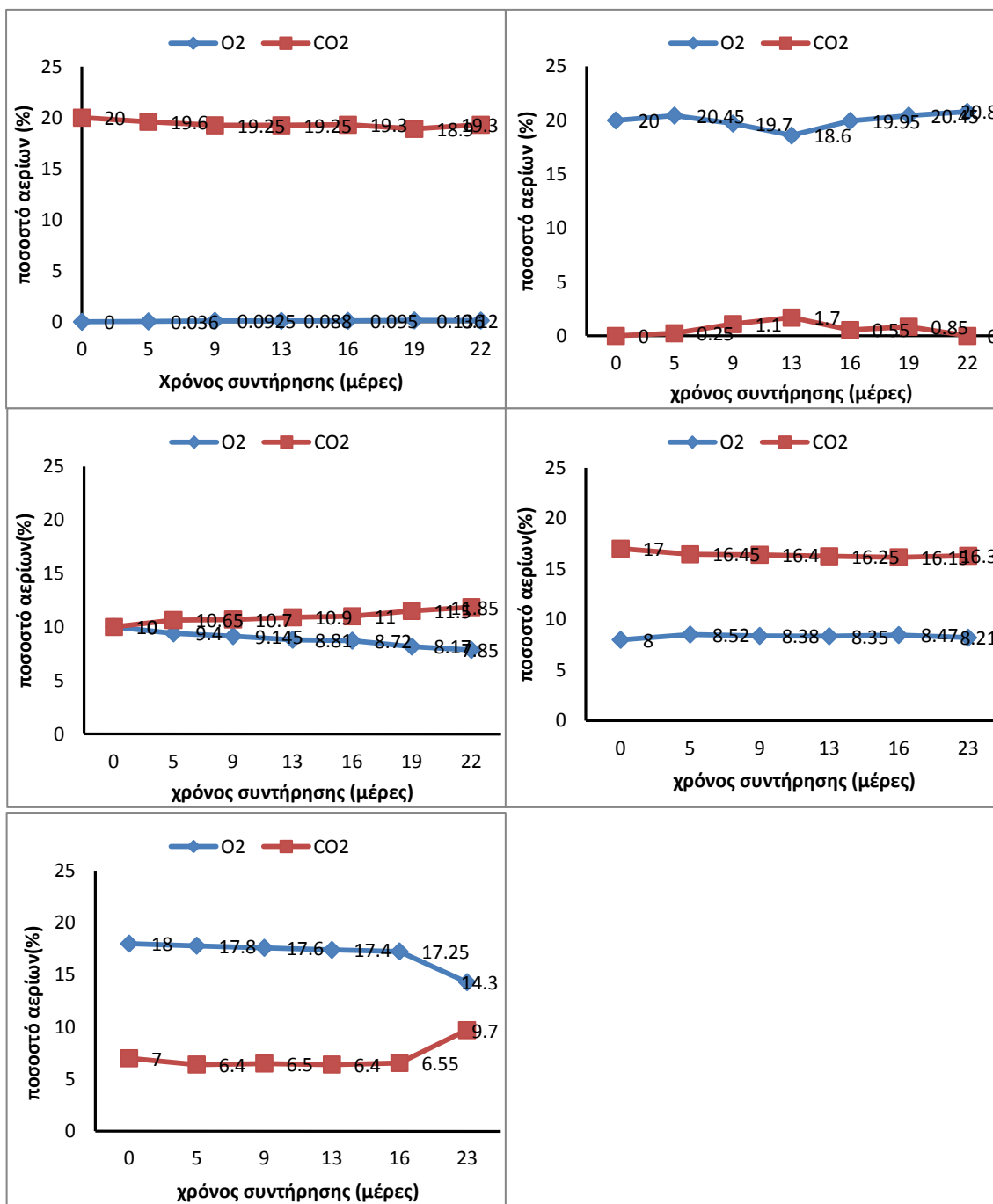
Διάγραμμα 4.3.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε πολτό ρόκας που συντηρήθηκε στους 10 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂: 10%CO₂, 15%O₂: 5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.



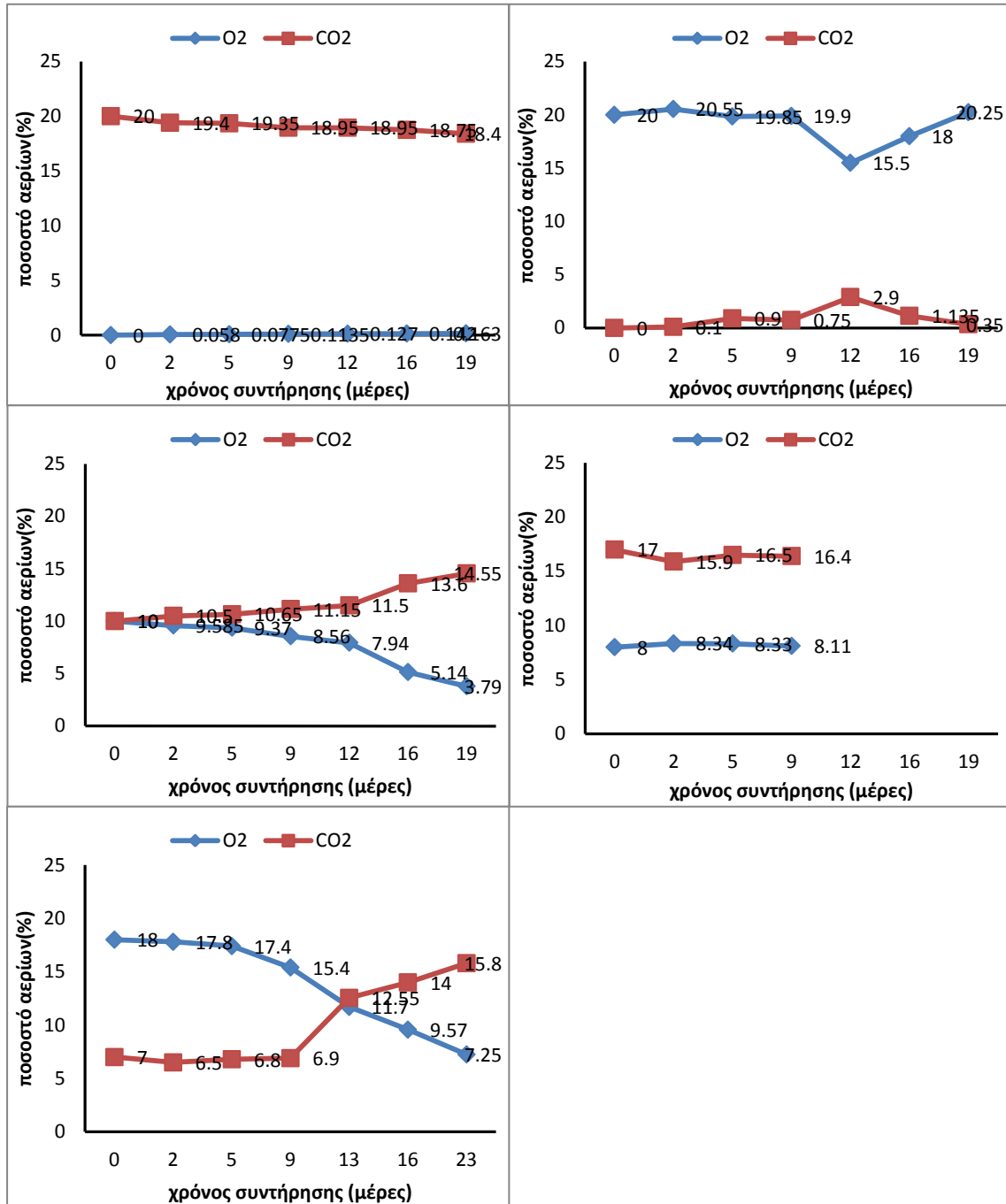
Διάγραμμα 4.4.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε πολύ ρόκα που συντηρήθηκε στους 15 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.

4.2.ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΑΕΡΙΩΝ ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ

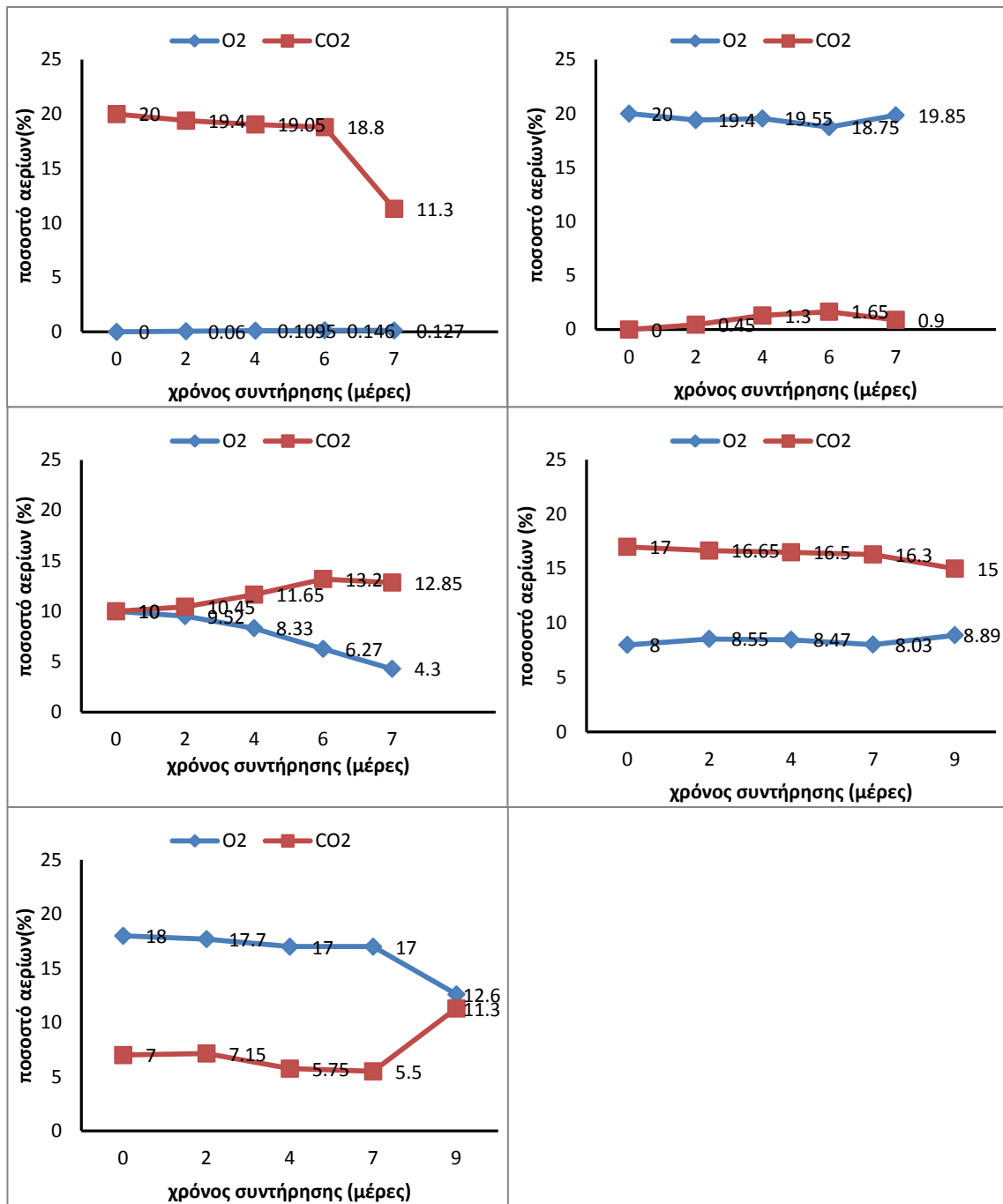
Ακολουθούν διαγράμματα με τα ποσοστά των αερίων στις συσκευασίες πολτού ρόκας, όπως αυτά μετρήθηκαν πριν από κάθε δειγματοληψία για κάθε μια από τις διαφορετικές ΤΑ και για κάθε θερμοκρασία.



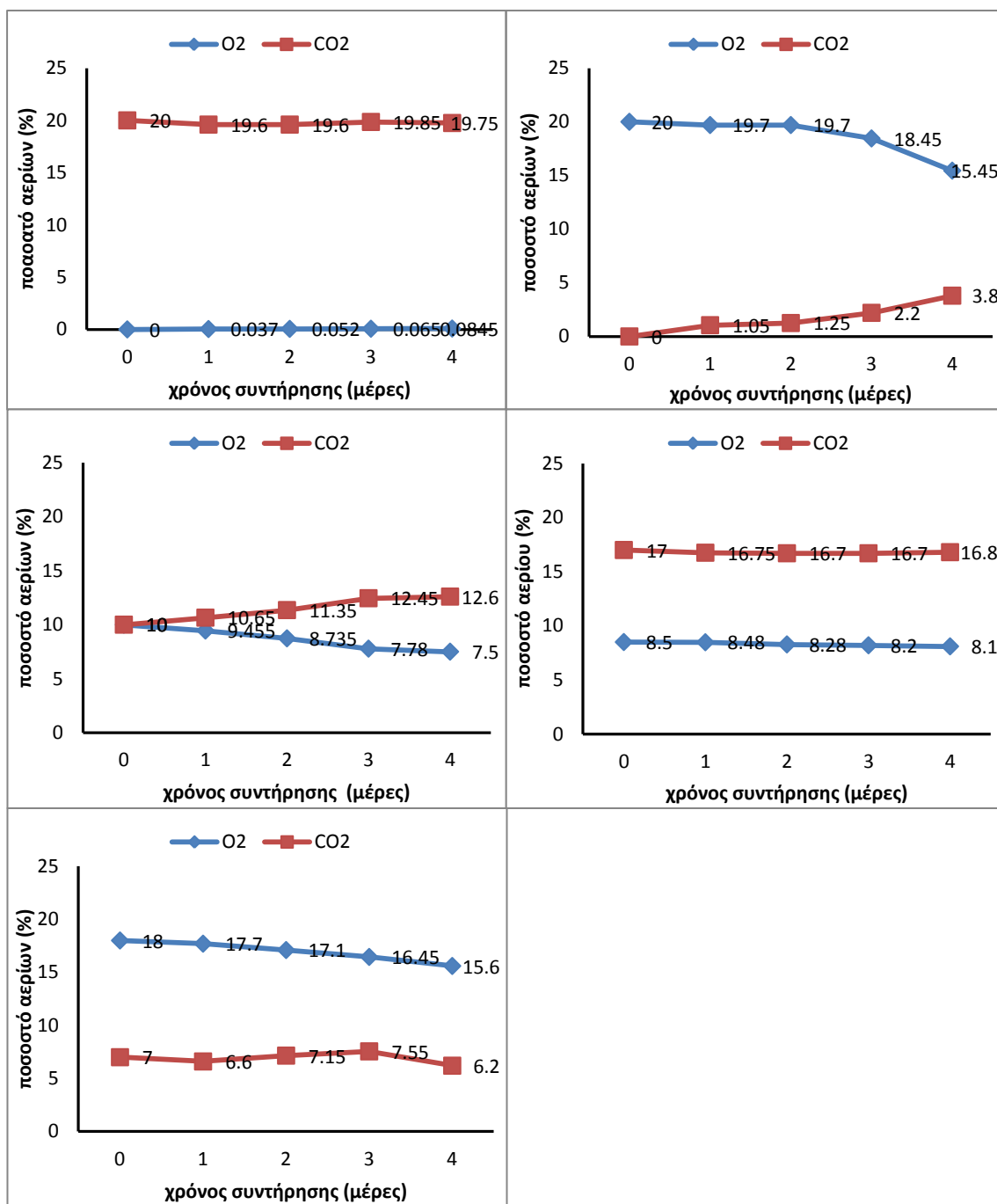
Διάγραμμα 4.5.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 0°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.



Διάγραμμα 4.6.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκα σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂: 10%CO₂, 15%O₂: 5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 5°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.



Διάγραμμα 4.7.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 10°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.



Διάγραμμα 4.8.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 15°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.

Όπως φαίνεται πιο πάνω, στους 0,5,10 °C στις τροποποιημένες ατμόσφαιρες **10%O₂:10%CO₂**, **15%O₂:5%CO₂** παρατηρείται με την πάροδο των ημερών, σημαντική μείωση στη συγκέντρωση του **O₂** και αύξηση στη συγκέντρωση του **CO₂** (Διάγραμμα 4.5.,4.6.,4.7.). Η μεταβολή αυτή, πιθανότατα οφείλετε στη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Στους 15 °C παρατηρείται, σε μικρότερο βαθμό, παρόμοια μεταβολή αερίων στις ίδιες τροποποιημένες ατμόσφαιρες καθώς και στην **21%O₂: 0%CO₂** (Διάγραμμα 4.8.). Η μεταβολές αυτές, πιθανότατα οφείλονται στη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Η διαφορά στο ποσοστό της μεταβολής των αερίων ανάμεσα στους 15°C και στις υπόλοιπες θερμοκρασίες, πιθανότατα οφείλονται στην αύξηση της διαπερατότητας του υλικού συσκευασίας σε υψηλές θερμοκρασίες, σύμφωνα με τις προδιαγραφές του. Μείωση της συγκέντρωσης **O₂** και αύξηση της συγκέντρωσης **CO₂** παρατήρησαν επίσης και οι Char et al (2012) σε σαλάτες ρόκας αποθηκευμένες σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα **10%O₂:5%CO₂** στους 5 °C.

4.3.ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ Ph ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ

Ακολουθούν πίνακες με τις μετρήσεις pH από τα δείγματα, (σακούλες δειγματοληψίας), όπως αυτές μετρήθηκαν μετά από κάθε δειγματοληψία για κάθε μια από τις διαφορετικές ΤΑ και για κάθε θερμοκρασία.

Πίνακας 4.6.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 0 °C

MAP				MAP			
		0% O ₂ : 20% CO ₂	20% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂			
HΜΕΡΕΣ					5% O ₂ : 15% CO ₂	15% O ₂ : 5% CO ₂	
					HΜΕΡΕΣ		
0		6.4±0.0	6.4±0.0	6.4±0.0	0	6.4±0.0	6.4±0.0
5		6.2±0.1	6.5±0.0	6.3±0.0	5	5.8±0.0	5.7±0.0
9		6.2±0.1	7.1±0.0	6.4±0.0	9	5.6±0.1	5.6±0.1
13		6.2±0.0	7.1±0.1	6.4±0.0	13	5.6±0.1	5.4±0.1
16		6.1±0.0	7.6±0.4	6.4±0.0	16	5.5±0.0	5.4±0.1
19		6.2±0.1	7.7±0.1	6.6±0.2	23	5.0±0.0	5.5 ±0.1
22		6.1±0.0	8.0±0.1	6.8±0.1	27	5.0±0.0	7.1±0.0

Πίνακας 4.7.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 5 °C

MAP HΜΕΡΕΣ	0% O ₂ : 20% CO ₂	20% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂	MAP HΜΕΡΕΣ	5% O ₂ : 15% CO ₂	15% O ₂ : 5% CO ₂
	0	6.4±0.0	6.4±0.0		6.4±0.0	0
2	6.2±0.0	6.3±0.0	6.3±0.0	2	5.9±0.0	5.9±0.0
5	6.5±0.7	6.7±0.3	6.1±0.0	5	5.8±0.1	5.6±0.0
9	5.7±0.1	7.5±0.1	6.6±0.0	9	5.2±0.0	6.4±0.1
12	6.0±0.0	7.6±0.1	7.1±0.1	12		6.2±0.8
16	5.9±0.0	7.4±0.1	7.3±0.0	16		7.2±0.1

Πίνακας 4.8.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 10 °C

MAP HΜΕΡΕΣ	0% O ₂ : 20% CO ₂	20% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂	MAP HΜΕΡΕΣ	5% O ₂ : 15% CO ₂	15% O ₂ : 5% CO ₂
	0	6.4±0.0	6.4±0.0		6.4±0.0	0
2	6.3±0.1	6.6±0.0	6.3±0.0	2	5.9±0.1	6.0±0.0
4	5.8±0.0	7.2±0.4	6.6±0.0	4	5.5±0.0	5.9±0.3
6	5.9±0.2	7.6±0.4	7.2±0.0	7	5.3±0.0	6.5±0.8
7	5.7±0.2	7.5±0.0	7.1±0.1	9	5.5±0.0	6.6±0.0
				12	5.2±0.0	7.4±0.0

Πίνακας 9.4.: Τιμές pH σε πολτό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 15 °C

MAP /	MAP			MAP /	MAP	
	0% O ₂ : 20% CO ₂	20% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂		5% O ₂ : 15% CO ₂	15% O ₂ : 5% CO ₂
ΗΜΕΡΕΣ				ΗΜΕΡΕΣ		
0	6.4±0.0	6.4±0.0	6.4±0.0	0	6.4±0.0	6.4±0.0
1	6.3±0.0	6.4±0.0	6.3±0.0	1	5.9±0.0	5.9±0.1
2	6.7±0.4	6.4±0.8	6.3±0.4	2	5.5±0.0	5.4±0.1
3	5.8±0.0	7.7±0.3	7.0±0.0	3	5.4±0.0	5.6±0.0
4	5.9±0.0	7.4±0.3	7.0±0.1	4	5.2±0.0	6.2±0.1
				5	5.2±0.0	6.9±0.6

4.4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΠΟΛΤΟΥ ΡΟΚΑΣ

Το πείραμα με τον πολτό ρόκας, δεν έγινε ταυτόχρονα για όλες τις ΤΑ, με αποτέλεσμα να υπάρχει διαφορετικός αρχικός μικροβιακός πληθυσμός. Αρχικά πραγματοποιήθηκε το πείραμα με τις τροποποιημένες ατμόσφαιρες **0% O₂: 20% CO₂**, **10% O₂: 10% CO₂**, **21% O₂: 0% CO₂** και αργότερα με τις **5% O₂: 15% CO₂** και **15% O₂: 5% CO₂**. Η αρχική ολική μικροβιακή χλωρίδα για το πρώτο πείραμα ήταν 7.7 log cfu/g και για το δεύτερο 4.4 log cfu/g.

Σε χαμηλές θερμοκρασίες, ο μικροβιακός πληθυσμός σε λαχανικά αναμένεται να κυριαρχείται από ψυχρότροφους μικροοργανισμούς (Zagory, 1999). Στους 0 °C, κυριάρχησαν οι ψευδομονάδες σε όλες τις τροποποιημένες ατμόσφαιρες σημειώνοντας μέγιστη αύξηση σε 22 ημέρες συντήρησης στην ΤΑ **21% O₂: 0% CO₂**, όπου ο μικροβιακός πληθυσμός ξεκίνησε από 7,7 log cfu/g και έφτασε τους 9.4 log cfu/g κατά τη διάρκεια της συντήρησης (Διάγραμμα 1). Οι ψευδομονάδες, είναι ο κυρίαρχος δείκτης αλλοίωσης των φρεσκοκομμένων σαλατών (Debever 1996). Χαρακτηρίζονται ως αυστηρά αερόβιοι μικροοργανισμοί και ευνοείται η αύξηση τους σε τέτοιες συνθήκες, περίσσειας O₂. Σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης O₂ (**5% O₂: 10% CO₂**), σε παλιότερη έρευνα σε άγρια ρόκα συντηρημένη στους 4 °C, ο πληθυσμός τους δεν ξεπερνούσε τους 5 log cfu/g (Martinez-Sanchez et. al., 2005). Η

διαφορά αυτή στο μικροβιακό πληθυσμό οφείλετε πιθανότατα στη χαμηλή συγκέντρωση O_2 , αλλά και στη διαφορετική ποικιλία ρόκας. Στις ΤΑ **5% O_2 : 15% CO_2** και **0% O_2 : 20% CO_2** όπου η συγκέντρωση του CO_2 ήταν υψηλή παρατηρήθηκε αναστολή της αύξησης των ψευδομονάδων, η οποία σε 22 ημέρες συντήρησης έμεινε σταθερή στους 8 log cfu/g (Διάγραμμα 4.1.). Παρόμοια αποτελέσματα αναστολής των ψευδομονάδων έχουν βρεθεί στο παρελθόν, σε φύλλα ρόκας σε συνθήκες μικρότερης περιόσεως CO_2 (**5% O_2 -10% CO_2**) σε ενεργό ατμόσφαιρα συσκευασίας συντηρημένη στους 5 °C (Arvanitoyannis et. al., 2011). Η αναστολή αυτή, οφείλεται στη συνεργιστική δράση χαμηλής θερμοκρασίας αλλά και υψηλού CO_2 (Clark and Burki, 1972, Gill and Tan, 1979, Enfors and Molin, 1980, Hendricks and Hotchkiss, 1997, Jacxens et al., 1999). Στους 10 °C, όπως και στους 0°C σε 7 ημέρες οι ψευδομονάδες κυριάρχησαν στις ΤΑ **21% O_2 : 0% CO_2** αλλά και **10% O_2 : 10% CO_2** σημειώνοντας μέγιστη αύξηση που ξεκίνησε από 7.7 log cfu/g και έφτασε τους 9.4 log cfu/g (Διάγραμμα 4.3.). Συνεπώς, η αύξηση της θερμοκρασίας αύξησε τον ρυθμό αύξησης των ψευδομονάδων, φτάνοντας τους 9.4 log cfu/g σε 7 ημέρες.

Όσον αφορά στα οξυγαλακτικά βακτήρια, στους 0 °C παρατηρούμε βραδύτερη ανάπτυξη στην ΤΑ **21% O_2 -0% CO_2** η οποία ξεκινά από 2.7 log cfu/g και φτάνει τους 3.3 log cfu/g όπως είναι αναμενόμενο, καθώς τα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν ζυμωτικό μεταβολισμό και χαρακτηρίζονται προαιρετικά αναερόβια. Ταχύτερη ανάπτυξη παρατηρείται στην ΤΑ **10% O_2 : 10% CO_2** όπου φτάνει σε 22 ημέρες τους 6.1 log cfu/g και η συγκέντρωση CO_2 με την πάροδο του χρόνου συντήρησης, υπερτερεί κατά του O_2 (Διάγραμμα 4.1,4.5). Παρόμοιος πληθυσμός οξυγαλακτικών βακτηρίων έχει βρεθεί στο παρελθόν σε πείραμα συντήρησης μίγματος σαλάτας (μαρούλι, καρότο και κόκκινο λάχανο) στους 4 °C για 8,5 μέρες σε ίδια ΤΑ. Ο αρχικός πληθυσμός ήταν 2.8 log cfu/g και έφτασε τους 5.9 log cfu/g (García-Gimeno and Zurera-Cosano, 1996). Στους 10 °C, ταχύτερη ανάπτυξη παρατηρείται στις ΤΑ **0% O_2 : 20% CO_2** , **15% O_2 : 5% CO_2** και **5% O_2 : 15% CO_2** , όπου ο αρχικός πληθυσμός 3 log cfu/g σε 7 ημέρες φτάνει τους 7.8 log cfu/g (Διάγραμμα 4.3.). Η ανάπτυξη αυτή των οξυγαλακτικών βακτηρίων επαληθεύεται και από τη μείωση του pH, όπου από 6.35 έπεσε στο 5.74 για την ΤΑ **0% O_2 : 20% CO_2** και στο 5,08 και 5,14 για τις άλλες ΤΑ αντίστοιχα (Πίνακας 4.3.). Όπως και στις ψευδομονάδες καθοριστικό ρόλο φαίνεται πως παίζει η θερμοκρασία σε συνδιασμό με το υψηλό

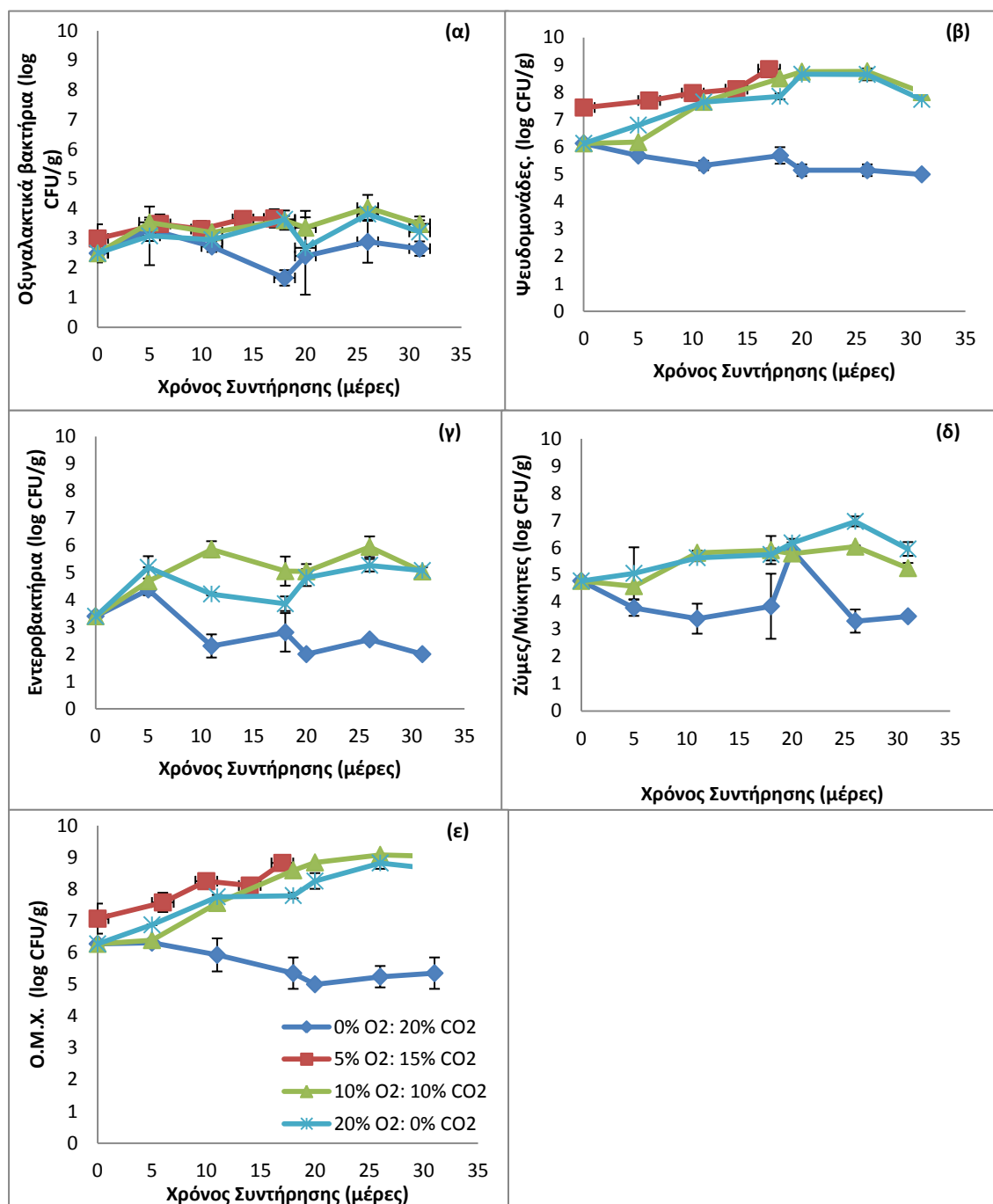
CO₂ όπου στις 2 από τις 3 ΤΑ παρατηρείται στους 10 °C μεγαλύτερη αύξηση του πληθυσμού σε λιγότερο χρόνο σε σχέση με τους 5 °C.

Τα εντεροβακτήρια, παρουσίασαν στους 0 °C μέγιστη αύξηση στην ΤΑ **15% O₂: 5% CO₂**, αύξηση που ξεκίνησε από 3.9 log cfu/g και έφτασε σε 30 ημέρες τους 8.5 log cfu/g. Τα εντεροβακτήρια όπως φαίνεται, συγκυριάρχησαν με τις ψευδομονάδες σε αυτή την ΤΑ οι οποίες έφτασαν τους 8.9 log cfu/g (Διάγραμμα 4.1.). Στους 10 °C, μέγιστη αύξηση παρατηρήθηκε στην ίδια ΤΑ, όπου σε 12 ημέρες ο πληθυσμός έφτασε τους 8.4 log cfu/g (Διάγραμμα 4.3.). Καθοριστικό ρόλο φαίνεται να παίζει τόσο η θερμοκρασία, η οποία προάγει την ανάπτυξη των μεσόφιλων εντεροβακτηρίων, όσο και η ΤΑ. Η μεγάλη αυτή αύξηση των εντεροβακτηρίων, ταυτίζεται με προηγούμενη έρευνα όπου στους 10 °C, παρατήρησαν αύξηση 5 log cfu/g σε εμπορικές συσκευασίες ρόκας ανεξαρτήτου της αρχικής ΤΑ συσκευασίας (Lalexou et al., 2013).

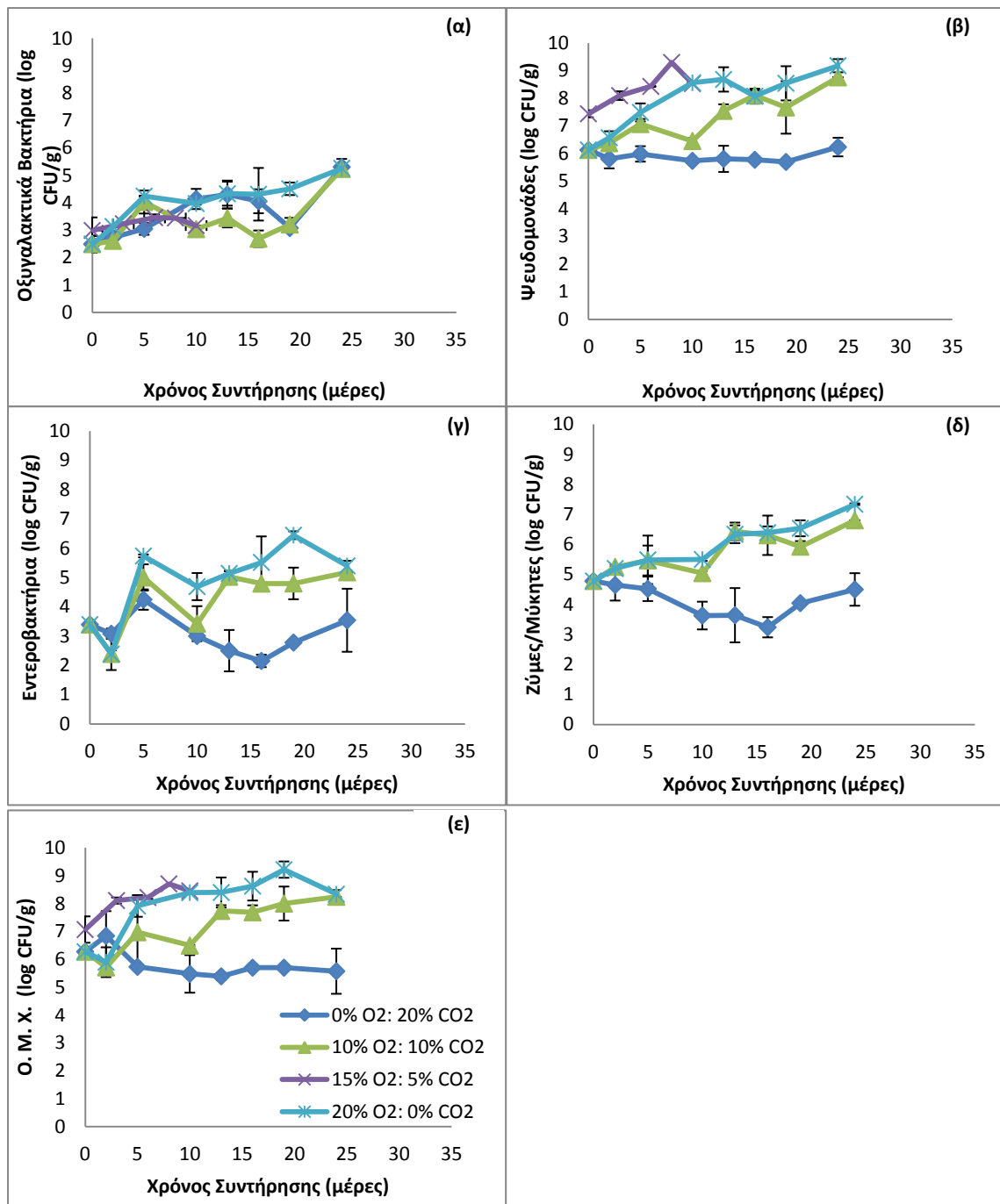
Ο πληθυσμός των ζυμών και μυκήτων στους 0 °C παρουσίασε μέγιστη αύξηση στην ΤΑ **15% O₂: 5% CO₂** όπου ο πληθυσμός ξεκίνησε από 5.6 log cfu/g και έφτασε σε 30 ημέρες στους 7.4 log cfu/g (Διάγραμμα 4.1.). Στους 10 °C παρουσίασε μέγιστη αύξηση στην ΤΑ **21% O₂: 0% CO₂** όπου έφτασε σε 7 ημέρες στους 7.2 log cfu/g (Διάγραμμα 4.3.). Μικρότερος πληθυσμός (3 log cfu/g) έχει βρεθεί στο παρελθόν σε πείραμα συντήρησης μίγματος σαλάτας (μαρούλι, καρότο και κόκκινο λάχανο) στους 4 °C για 6,5 μέρες σε ΤΑ **10% O₂: 10% CO₂** (García-Gimeno and Zurera-Cosano, 1996). Ο υψηλός αυτός πληθυσμός των ζυμών και μυκήτων καθώς και των ψευδομονάδων, επαληθεύεται και με το υψηλό pH που μετρήθηκε, όπου από 6,35 αυξήθηκε σε 7.64 για τους 0 °C και 7.48 για τους 10 °C (Πίνακας 4.1.,4.3.). Καθοριστικό ρόλο στη μεγάλη αυτή αύξηση του πληθυσμού, φαίνεται να παίζει ο συνδυασμός της θερμοκρασίας με την ΤΑ. Στους 10 °C παρατηρείται σχεδόν ίδια αύξηση του πληθυσμού με τους 0 °C αλλά σε πολύ πιο μικρό χρονικό διάστημα συντήρησης. Παράλληλα, και στους 0 αλλά και στους 10 °C στην ΤΑ υπάρχει περίσσεια **O₂** η οποία προάγει την ανάπτυξη των ζυμών και των μυκήτων.

4.5.ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ

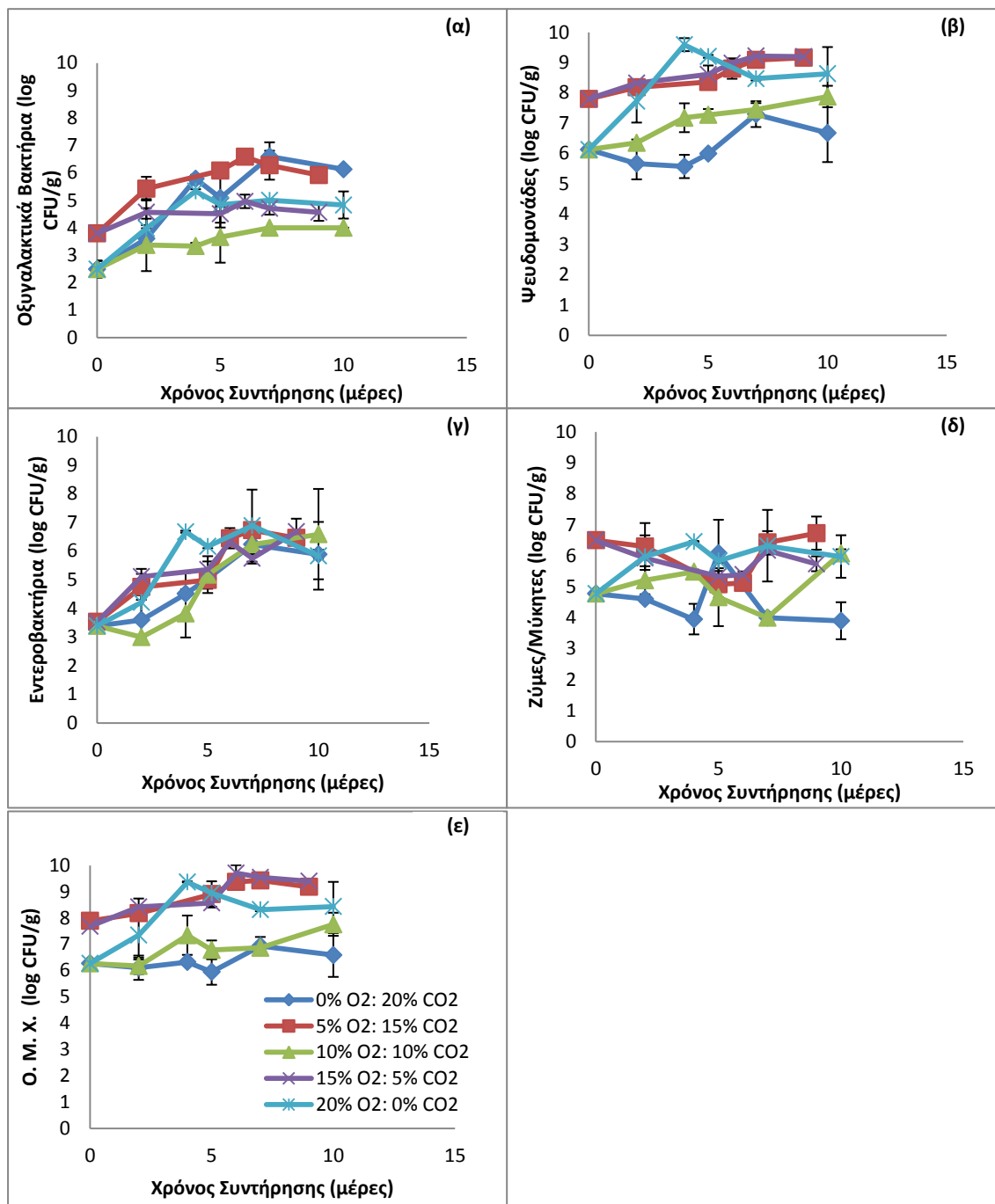
Τα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζουν την πορεία των 5 ομάδων μικροοργανισμών που εξετάστηκαν, κατά τη συντήρηση λαχανικού ρόκας στις διαφορετικές θερμοκρασίες (0,5,10,15°C) και για κάθε συσκευασία ΤΑ (0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂).



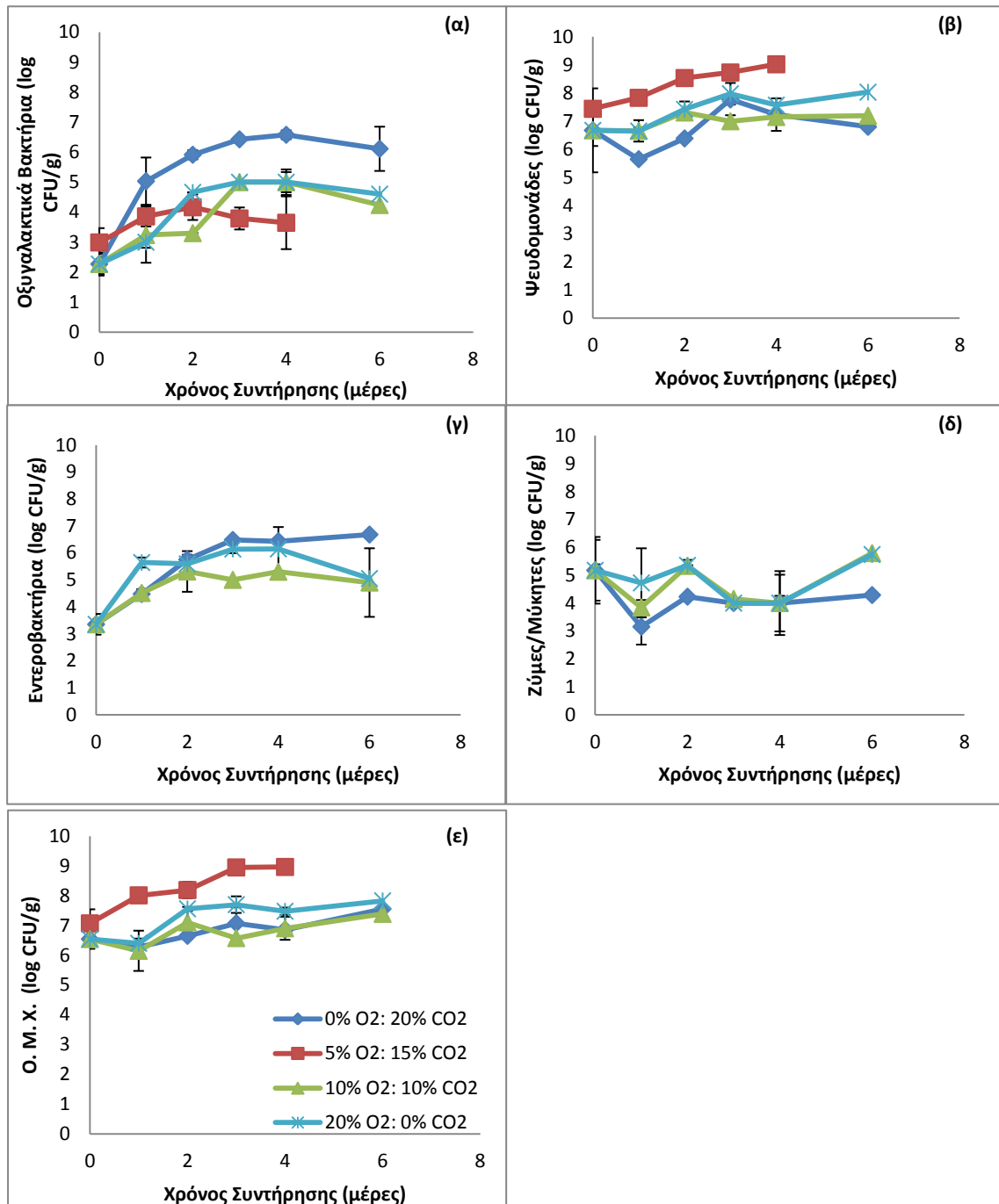
Διάγραμμα 4.9.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 0 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.



Διάγραμμα 4.10.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 5 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.



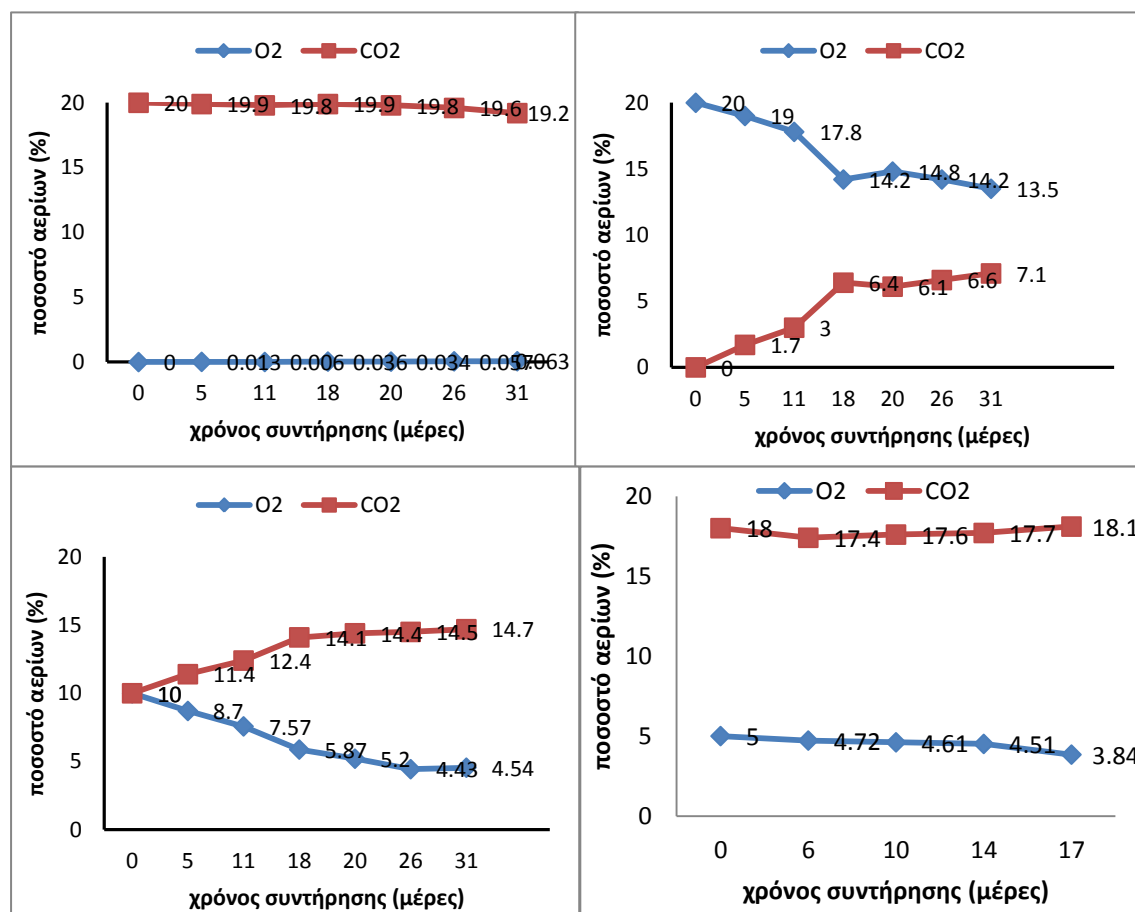
Διάγραμμα 4.11.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 10 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.



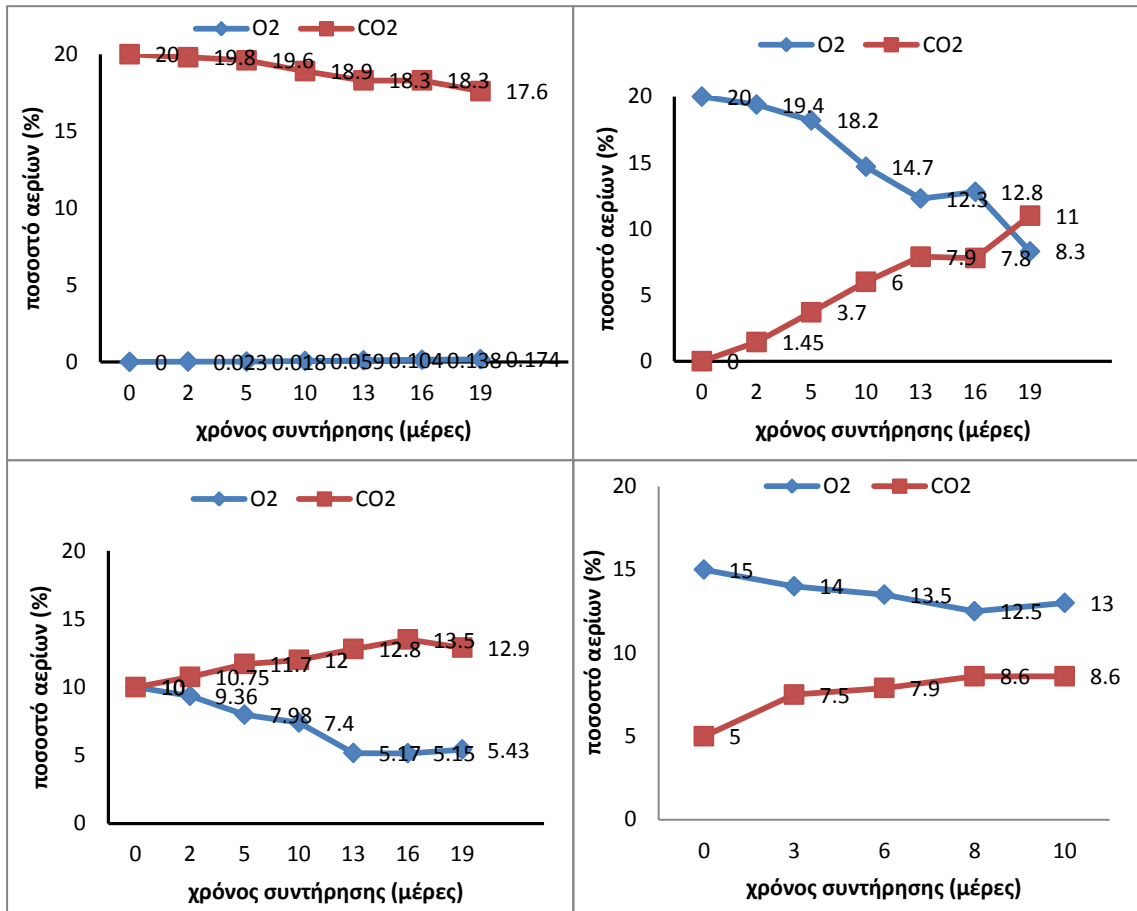
Διάγραμμα 4.12.: Οι πληθυσμοί των (α) οξυγαλακτικών βακτηρίων, (β) των ψευδομονάδων, (γ) των εντεροβακτηρίων, (δ) των ζυμών και μυκήτων και (ε) της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου συντήρησης σε λαχανικό ρόκας που συντηρήθηκε στους 15 °C. Παρουσιάζεται η επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂: 10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων. Οι γραμμές σφάλματος εκφράζουν την τυπική απόκλιση του πληθυσμού σε κάθε σημείο.

4.6. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΑΕΡΙΩΝ ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ

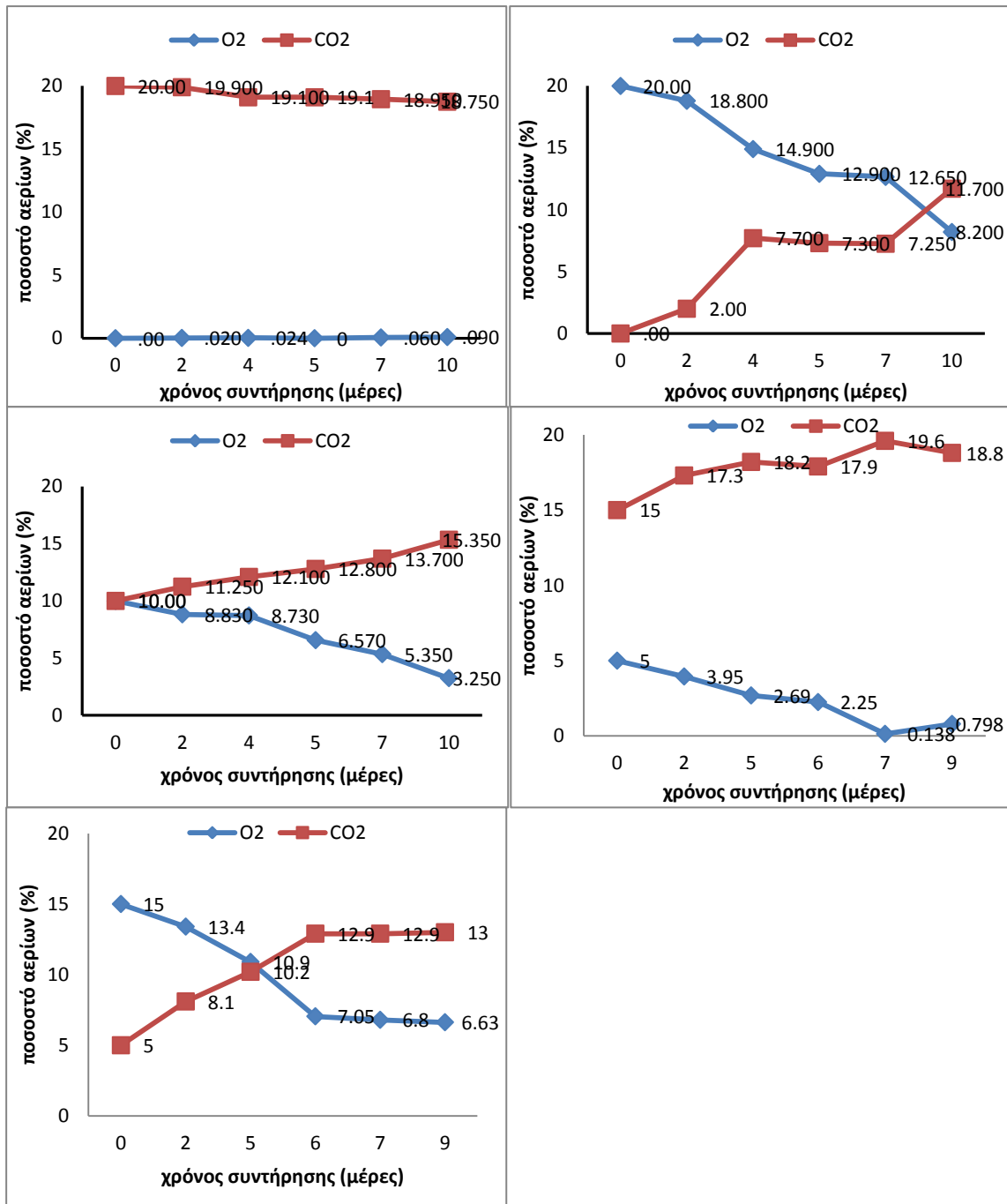
Ακολουθούν διαγράμματα με τα ποσοστά των αερίων στις συσκευασίες λαχανικού ρόκας, όπως αυτά μετρήθηκαν πριν από κάθε δειγματοληψία για κάθε μια από τις διαφορετικές ΤΑ και για κάθε θερμοκρασία.



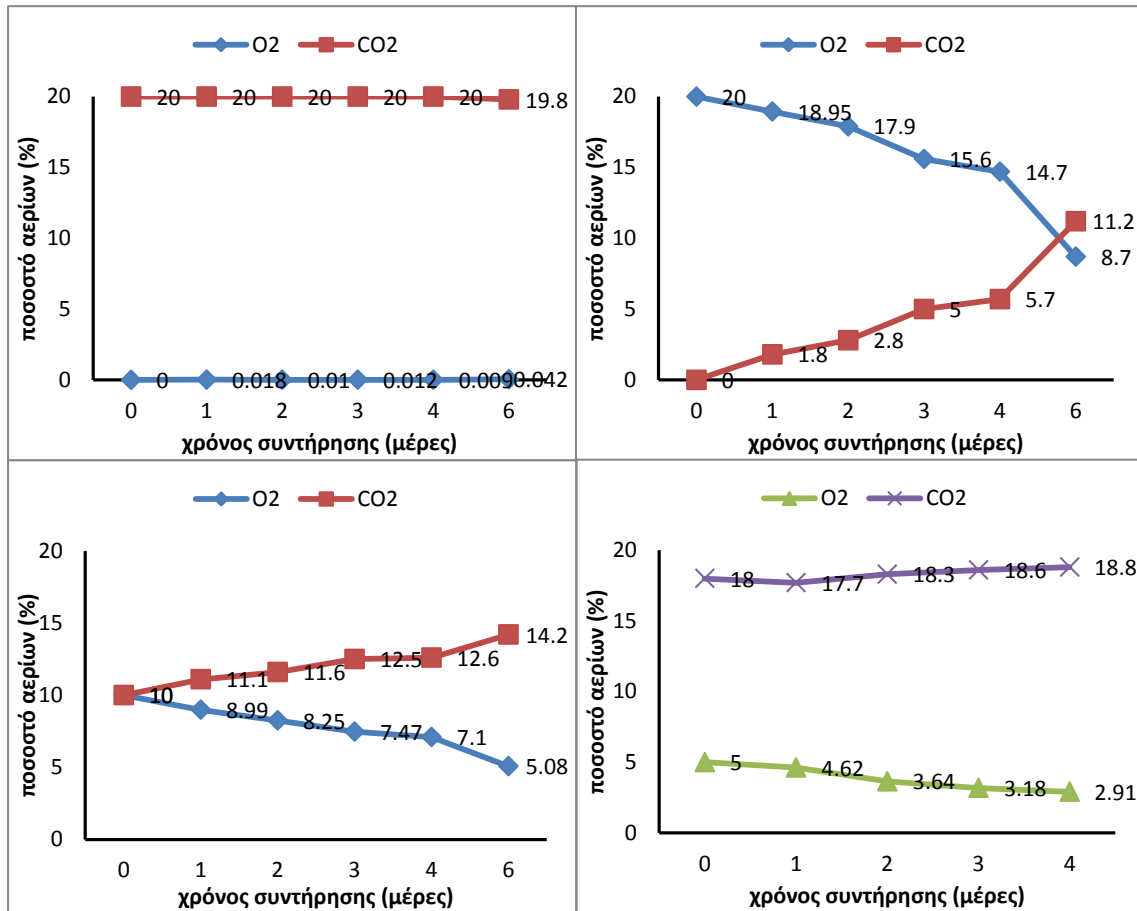
Διάγραμμα 4.13.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 0°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.



Διάγραμμα 4.14.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 5°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.



Διάγραμμα 4.15.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂: 10%CO₂, 15%O₂: 5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 10°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.



Διάγραμμα 4.16.: Μεταβολή ποσοστών O₂ και CO₂ κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ και σε θερμοκρασία 15°C. Κάθε σημείο αποτελεί το μέσο όρο 2 δειγμάτων.

Όπως φαίνεται πιο πάνω, στις θερμοκρασίες 5,10 και 15 °C σε όλες τις τροποποιημένες ατμόσφαιρες παρατηρείται με την πάροδο των ημερών, σημαντική μείωση στη συγκέντρωση του O₂ και αύξηση στη συγκέντρωση του CO₂, εκτός από την TA 0%O₂: 20%CO₂ όπου δεν παρατηρείται σχεδόν καμία μεταβολή (Διάγραμμα 4.14.,4.15.,4.16.). Οι μεταβολές αυτές των αερίων είναι μεγαλύτερες σε σχέση με εκείνες που συνέβησαν στο πολτό ρόκας, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται κατά μεγαλύτερο ποσοστό στον υψηλό ρυθμό αναπνοής της ρόκας, ο οποίος ξεπερνά 360 nmol CO₂ kg⁻¹ s⁻¹(Kader and Saltveit, 2003), και λιγότερο στη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Στους 0 °C, σε αντίθεση με τις άλλες θερμοκρασίες, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στη συγκέντρωση του O₂ και αύξηση στη συγκέντρωση του CO₂ μόνο στις TA 20%O₂: 0%CO₂ και 10%O₂:

10%CO₂ ενώ μικρή μείωση μόνο του O₂, παρατηρήθηκε στην ΤΑ 5%O₂: 15%CO₂ (Διάγραμμα 4.13.). Η διαφορά αυτή στους 0 °C, πιθανότατα οφείλεται στη συνολική επίδραση τόσο της χαμηλής θερμοκρασίας όσο και της περίσσειας CO₂ στην αναπνοή της ρόκας. Παρόμοια αποτελέσματα, μικρότερων όμως μεταβολών των αερίων παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της συντήρησης σαλατών ρόκας αποθηκευμένες σε ΤΑ 10%O₂:5%CO₂ στους 5 °C (Char et al., 2012).

4.7. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ pH ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ

Ακολουθούν πίνακες με τις μετρήσεις pH από τα δείγματα, (σακούλες δειγματοληψίας), όπως αυτές μετρήθηκαν μετά από κάθε δειγματοληψία για κάθε μια από τις διαφορετικές ΤΑ και για κάθε θερμοκρασία.

Πίνακας 4.5.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 0 °C

MAP \ ΗΜΕΡΕΣ	MAP			MAP \ ΗΜΕΡΕΣ	MAP
	0% O ₂ : 20% CO ₂	21% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂		5% O ₂ : 15% CO ₂
0	6.3±0.1	6.27±0.1	6.27±0.1	0	6.58±0.0
5	6.3±0.0	6.25±0.1	6.32±0.0	6	6.82±0.0
11	6.3±0.0	6.15±0.0	6.51±0.1	10	6.80±0.2
18	6.1±0.0	6.35±0.0	6.58±0.1	14	6.94±0.2
20	6.0±0.1	6.44±0.3	6.92±0.0	17	7.12±0.0
26	6.1±0.0	6.09±0.0	7.09±0.2		
31	6.0±0.0	6.56±0.1	6.77±0.0		

Πίνακας 4.6.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂: 5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 5 °C

MAP ΗΜΕΡΕΣ	0% O ₂ : 20% CO ₂	21% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂	MAP ΗΜΕΡΕΣ	15% O ₂ : 5% CO ₂
0	6.3±0.0	6.3±0.0	6.3±0.0	0	6.58±0.0
2	6.4±0.0	6.1±0.0	6.3±0.0	3	6.78±0.0
5	6.3±0.2	6.2±0.2	6.4±0.0	6	6.86±0.0
10	6.2±0.0	6.4±0.2	6.4±0.1	8	6.88±0.1
13	6.1±0.0	6.4±0.3	6.5±0.1	10	6.97±0.1
16	6.0±0.0	6.7±0.3	6.6±0.0		
19	6.0±0.0	6.6±0.0	6.6±0.0		

Πίνακας 4.7.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂: 5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 10 °C

MAP ΗΜΕΡΕΣ	0% O ₂ : 20% CO ₂	21% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂	MAP ΗΜΕΡΕΣ	5% O ₂ : 15% CO ₂	15% O ₂ : 5% CO ₂
0	6.3±0.0	6.3±0.0	6.3±0.0	0	6.4±0.0	6.4±0.0
2	6.3±0.0	6.4±0.2	6.3±0.0	2	6.7±0.0	6.7±0.1
4	6.3±0.0	6.7±0.0	6.5±0.0	5	6.7±0.1	6.8±0.1
5	6.2±0.0	6.4±0.2	6.5±0.0	6	6.6±0.1	6.7±0.0
7	6.1±0.0	6.3±0.1	6.3±0.1	7	7.0±0.0	6.9±0.1
10	6.2±0.2	5.7±1.4	6.5±0.1	9	6.9±0.1	6.9±0.1

Πίνακας 4.8.: Τιμές pH σε λαχανικό ρόκας που έχει συντηρηθεί σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στους 15 °C

MAP ΗΜΕΡΕΣ	0% O ₂ : 20% CO ₂	21% O ₂ : 0% CO ₂	10% O ₂ : 10% CO ₂	MAP ΗΜΕΡΕΣ	5% O ₂ : 15% CO ₂
0	6.3±0.0	6.3±0.0	6.3±0.0	0	6.58±0.0
1	6.3±0.0	6.2±0.0	6.3±0.1	1	6.80±0.0
2	6.5±0.1	6.3±0.1	6.6±0.0	2	6.96±0.0
3	6.1±0.0	5.8±0.1	6.1±0.1	3	6.78±0.0
4	6.1±0.0	5.7±0.2	6.3±0.0	4	7.30±0.0
6	6.2±0.0	5.7±1.0	6.6±0.1		

4.8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΛΑΧΑΝΙΚΟΥ ΡΟΚΑΣ

Το πείραμα με τον λαχανικό ρόκας, δεν έγινε ταυτόχρονα για όλες τις ΤΑ, με αποτέλεσμα να υπάρχει διαφορετικός αρχικός μικροβιακός πληθυσμός. Αρχικά πραγματοποιήθηκε το πείραμα με τις τροποποιημένες ατμόσφαιρες **0% O₂: 20% CO₂, 10% O₂: 10% CO₂, 21% O₂: 0% CO₂** και αργότερα με τις **5% O₂: 15% CO₂** και **15% O₂: 5% CO₂**. Η αρχική ολική μικροβιακή χλωρίδα για το πρώτο πείραμα ήταν 6.3 log cfu/g και για το δεύτερο 7.1 log cfu/g.

Σε χαμηλές θερμοκρασίες, ο μικροβιακός πληθυσμός σε λαχανικά αναμένεται να κυριαρχείται από ψυχρότροφους μικροοργανισμούς (Zagory, 1999). Στους 5 °C, κυριάρχησαν οι ψευδομονάδες σε όλες τις τροποποιημένες ατμόσφαιρες σημειώνοντας μέγιστη αύξηση σε 24 ημέρες συντήρησης στην ΤΑ **21% O₂: 0% CO₂**, όπου ο μικροβιακός πληθυσμός ξεκίνησε από 6.1 log cfu/g και έφτασε τους 9.2 log cfu/g (Διάγραμμα 4.9.). Παρόμοια πληθυσμιακή αύξηση σε 8 ημέρες, είχε και στην ΤΑ **15% O₂: 5% CO₂**, ωστόσο ο αρχικός πληθυσμός ήταν υψηλότερος (7.4 log cfu/g)(Διάγραμμα 9). Οι ψευδομονάδες, είναι ο κυρίαρχος δείκτης αλλοίωσης των φρεσκοκομμένων σαλατών (Debevere 1996). Χαρακτηρίζονται ως αυστηρά αερόβιοι μικροοργανισμοί και ευνοείται η αύξηση τους σε τέτοιες συνθήκες, περίσσειας O₂. Σε

συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης O_2 (**5% O_2 : 10% CO_2**), σε παλιότερη έρευνα σε άγρια ρόκα συντηρημένη στους 4 °C, ο πληθυσμός τους δεν ξεπερνούσε τους 5 log cfu/g (Martinez-Sanchez et. al., 2006). Η διαφορά αυτή στο μικροβιακό πληθυσμό οφείλετε πιθανότατα στη χαμηλή συγκέντρωση O_2 , αλλά και στη διαφορετική ποικιλία ρόκας. Στην ΤΑ **0% O_2 : 20% CO_2** όπου η συγκέντρωση του CO_2 ήταν υψηλή παρατηρήθηκε αναστολή της αύξησης των ψευδομονάδων, η οποία σε 24 ημέρες συντήρησης έμεινε σταθερή στους 6.2 log cfu/g. Παρόμοια αποτελέσματα αναστολής των ψευδομονάδων έχουν βρεθεί στο παρελθόν, σε φύλλα ρόκας σε συνθήκες μικρότερης περισσειας CO_2 (**5% O_2 -10% CO_2**) σε ενεργή ατμόσφαιρα συσκευασίας συντηρημένη στους 5 °C (Arvanitoyannis et. al., 2011). Η αναστολή αυτή, οφείλεται στη συνεργιστική δράση χαμηλής θερμοκρασίας αλλά και υψηλού CO_2 (Clark and Burki, 1972, Gill and Tan, 1979, Enfors and Molin, 1980, Hendricks and Hotchkiss, 1997, Jacxens et al., 1999). Στους 15 °C, όπως και στους 5 °C σε 4 ημέρες οι ψευδομονάδες κυριάρχησαν στην ΤΑ **5% O_2 : 15% CO_2** σημειώνοντας μέγιστη αύξηση, που ξεκίνησε από 7.4 log cfu/g και έφτασε τους 9 log cfu/g (Διάγραμμα 4.12.). Η παρατήρηση αυτή, συμφωνεί με παλιότερη, όπου σε σαλάτες λαχανικών συντηρημένες για 8 ημέρες στους 7 °C σε συνθήκες περιβάλλοντος, παρατηρήθηκε αύξηση των ψευδομονάδων από 5 log cfu/g σε 9 log cfu/g (Manvell and Ackland, 1986). Συνεπώς, η αύξηση της θερμοκρασίας φαίνεται πως αύξησε τον ρυθμό αύξησης των ψευδομονάδων, φτάνοντας τους 9 log cfu/g σε 4 ημέρες, ενώ η χαμηλή συγκέντρωση O_2 , φαίνεται να μην επηρέασε την αύξηση των ψευδομονάδων.

Όσον αφορά τα οξυγαλακτικά βακτήρια, στους 5 °C σε όλες τις ΤΑ, πλην της ΤΑ **5% O_2 -15% CO_2** όπου ο πληθυσμός των μικροοργανισμών έμεινε σταθερός σε διάρκεια συντήρησης 10 ημερών, η ανάπτυξη που σημειώθηκε είχε το ίδιο ρυθμό αύξησης σε όλες τις ΤΑ ξεκινώντας από 2.5 log cfu/g και φτάνοντας μέχρι 5.3 log cfu/g (Διάγραμμα 4.10.). Παρόμοιος πληθυσμός οξυγαλακτικών βακτηρίων έχει βρεθεί στο παρελθόν σε πείραμα συντήρησης μίγματος σαλάτας (μαρούλι, καρότο και κόκκινο λάχανο) στους 4 °C για 8,5 μέρες σε ίδια ΤΑ. Ο αρχικός πληθυσμός ήταν 2.8 log cfu/g και έφτασε τους 5.9 log cfu/g (García-Gimeno and Zurera-Cosano, 1996). Συνεπώς, δεν φαίνεται η συγκέντρωση των αερίων να έπαιξε κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Στους 15 °C, ταχύτερη ανάπτυξη παρατηρείται στην ΤΑ **0% O_2 : 20% CO_2** όπου με αρχικό πληθυσμό 2.3 log cfu/g σε 6 ημέρες έφτασε τους 6.1 log cfu/g (Διάγραμμα 4.12.). Όπως και στις ψευδομονάδες,

καθοριστικό ρόλο φαίνεται πως παίζει η θερμοκρασία σε συνδυασμό με το υψηλό CO_2 καθώς στους $15\text{ }^\circ\text{C}$ παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση του πληθυσμού, σε λιγότερο χρόνο σε σχέση με τους $5\text{ }^\circ\text{C}$.

Τα εντεροβακτήρια, παρουσίασαν στους $5\text{ }^\circ\text{C}$ μέγιστη αύξηση στην **TA 10% O_2 : 10% CO_2** , αύξηση που ξεκίνησε από 3.4 log cfu/g και έφτασε σε 19 ημέρες τους 6.4 log cfu/g (Διάγραμμα 4.10.). Στους $15\text{ }^\circ\text{C}$, μέγιστη αύξηση παρατηρήθηκε στην **TA 0% O_2 : 20% CO_2** , όπου σε 6 ημέρες ο πληθυσμός έφτασε τους 6.7 log cfu/g (Διάγραμμα 4.12.). Καθοριστικό ρόλο φαίνεται να παίζει η θερμοκρασία, η οποία προάγει την ανάπτυξη των μεσόφιλων εντεροβακτηρίων, καθώς σημειώθηκε παρόμοια αύξηση στους $15\text{ }^\circ\text{C}$ αλλά σε μόλις 6 ημέρες. Η μεγάλη αυτή αύξηση αυτή των εντεροβακτηρίων, ταυτίζεται με προηγούμενη έρευνα όπου στους $15\text{ }^\circ\text{C}$, παρατήρησαν αύξηση που ξεκίνησε από 2.5 log cfu/g και έφτασε τους 8 log cfu/g σε εμπορικές συσκευασίες ρόκας ανεξαρτήτου της αρχικής TA συσκευασίας (Lalexou et. al., 2013).

Ο πληθυσμός των ζυμών και μυκήτων στους $5\text{ }^\circ\text{C}$ παρουσίασε μέγιστη αύξηση στην **TA 21% O_2 : 0% CO_2** όπου ο πληθυσμός ξεκίνησε από 4.8 log cfu/g και έφτασε σε 24 ημέρες στους 7.3 log cfu/g (Διάγραμμα 4.10.). Στους $15\text{ }^\circ\text{C}$ παρουσίασε μέγιστη αύξηση στις **TA 21% O_2 : 0% CO_2** και **10% O_2 : 10% CO_2** όπου έφτασε σε 6 ημέρες στους 5.8 log cfu/g (Διάγραμμα 4.12.). Μικρότερος πληθυσμός (3 log cfu/g) έχει βρεθεί στο παρελθόν σε πείραμα συντήρησης μίγματος σαλάτας (μαρούλι, καρότο και κόκκινο λάχανο) στους $4\text{ }^\circ\text{C}$ για 6,5 μέρες σε **TA 10% O_2 : 10% CO_2** (García-Gimeno and Zurera-Cosano, 1996). Η υψηλή θερμοκρασία δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των ζυμών και των μυκήτων καθώς ο πληθυσμός τους, σε 6 ημέρες στους $15\text{ }^\circ\text{C}$ είναι στα ίδια επίπεδα με τους $5\text{ }^\circ\text{C}$ στο ίδιο χρονικό διάστημα. Παράλληλα, στους $5\text{ }^\circ\text{C}$ αλλά και στους $15\text{ }^\circ\text{C}$, η συγκέντρωση O_2 στις τροποποιημένες ατμόσφαιρες ήταν αρκετή, ώστε να προάγει την ανάπτυξη των ζυμών και των μυκήτων.

4.9. ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΜΟΝΤΕΛΑ

4.9.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ CO₂ ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΥΞΗΣΗ ΣΕ ΠΟΛΤΟ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΟ ΡΟΚΑΣ

Πίνακας 4.9.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO₂ και θερμοκρασίας.

CO ₂ (%)	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ(°C)	$\mu_{max}(\log \text{ cfu/g})$
0	0	0.195±0.032668
5	0	0.218 ± 0.032385
10	0	0.188 ± 0.005798
15	0	0.134 ± 0.003323
20	0	0.305 ± 0.032598
0	5	0.215 ± 0
5	5	0.454 ± 0.033093
10	5	0.454 ± 0.049639
15	5	0.384 ± 0.034365
20	5	0.470 ± 0.061943
0	10	1.025 ± 0.077428
5	10	1.059 ± 0.012021
10	10	1.033 ± 0.074953
15	10	0.873 ± 0.021213
20	10	0.842 ± 0.012304
0	15	1.795 ± 0.103238
5	15	1.593 ± 0.098995
10	15	1.729 ± 0.009192
15	15	1.678 ± 0.033234
20	15	1.482 ± 0.304763

Πίνακας 4.10.: παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του ρυθμού αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας

Παράμετρος	Εκτίμηση (log cfu/g)	Τυπικό σφάλμα	t-value
Const	0,11047	0,055006	2,0083
CO2	0,014238	0,008917	1,5968
T	0,035134	0,011288	3,1126
CO2*T	-0,0012109	4,23E-04	-2,8634
CO2^2	-3,88E-04	4,00E-04	-0,97111
T^2	0,0050149	6,69E-04	7,5003
R2		RMSE	
	0,967		0,10572

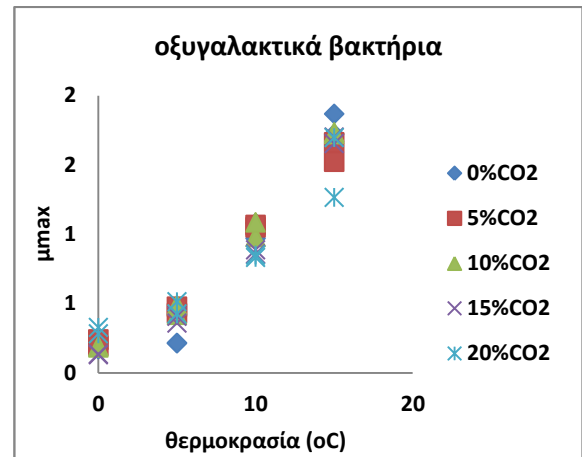
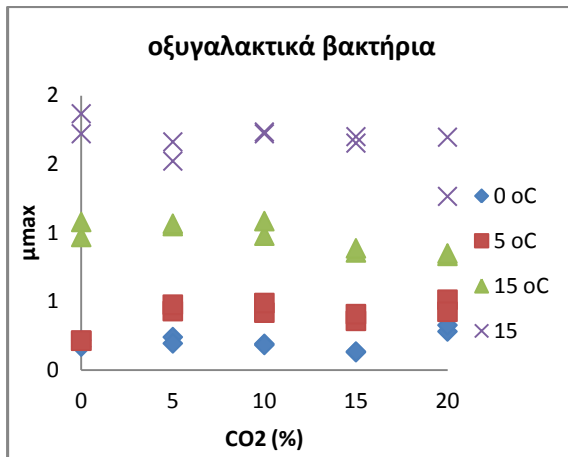
Πίνακας 4.11.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO_2 και θερμοκρασίας.

CO_2 (%)	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ($^{\circ}C$)	$\mu_{max}(\log cfu/g)$
0	0	0.087 ± 0.01684
5	0	0.118 ± 0.0019
10	0	0.032 ± 0.00598
15	0	0.063 ± 0.00172
20	0	0.001 ± 0
0	5	0.090 ± 0.00235
5	5	0.164 ± 0.00252
10	5	0.106 ± 0.01203
15	5	0.221 ± 0.00409
20	5	0.001 ± 0
0	10	0.266 ± 0.00396
5	10	0.131 ± 0.03874
10	10	0.207 ± 0.04257
15	10	0.171 ± 0.01497
20	10	0.001 ± 0
0	15	0.390 ± 0.06976
5	15	0.384 ± 0.00608
10	15	0.248 ± 0.02496
15	15	0.158 ± 0.0843

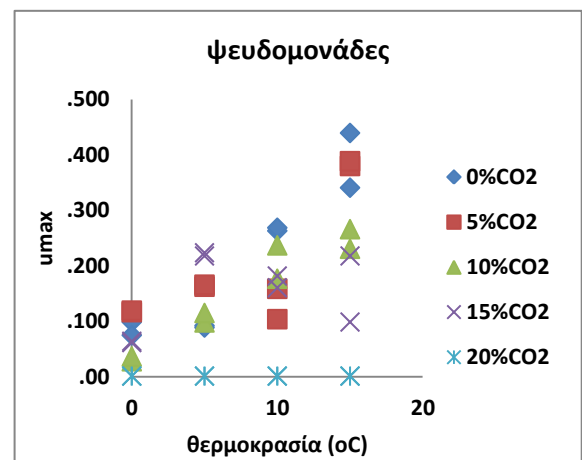
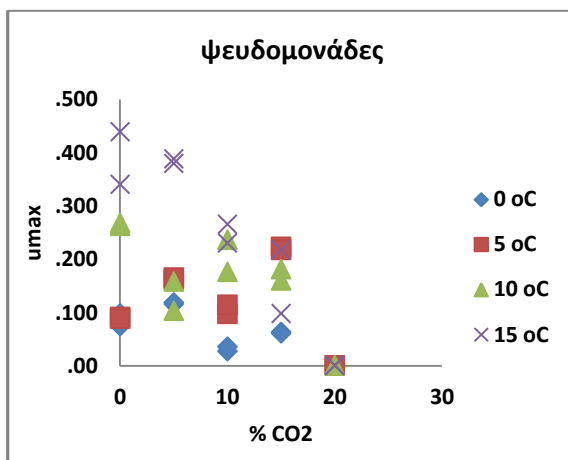
20	15	0.001 ± 0
----	----	-----------

Πίνακας 10.12.: παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του λογαριθμικού ρυθμού αύξησης των ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας

Παράμετρος	Εκτίμηση (log cfu/g)	Τυπικό σφάλμα	t-value
Const	-3,1227	0,46307	-6,7435
CO2	0,35859	0,075069	4,7769
T	0,16106	0,095027	1,6948
CO2*T	-0,0048824	0,00356	-1,3714
CO2^2	-0,0266	0,0033639	-7,9073
T^2	-0,0026757	0,0056289	-0,47534
R2	0,8213	RMSE	0,89001



Διάγραμμα 4.17.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO₂ και θερμοκρασίας.



Διάγραμμα 4.18.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας συναρτήσει CO₂ και θερμοκρασίας.

Πίνακας 4.13.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO_2 και θερμοκρασίας.

CO_2 (%)	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ(°C)	$\mu_{max}(\log cfu/g)$
0	0	0.02537 ± 0.00566
10	0	0.03068 ± 0.00445
15	0	0.03731 ± 0.01295
20	0	0.00248 ± 0.00209
0	5	0.4146 ± 0.09405
10	5	0.1478 ± 0.16109
20	5	0.27292 ± 0.13353
0	10	0.8828 ± 0.36091
10	10	0.16965 ± 0.01435
15	10	0.9504 ± 0
20	10	0.90365 ± 0.14557
0	15	1.411 ± 0.20506
10	15	0.802 ± 0.08881
15	15	0.2666 ± 0
20	15	2.989 ± 1.37179

Πίνακας 4.14. : παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του λογαριθμικού ρυθμού αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας

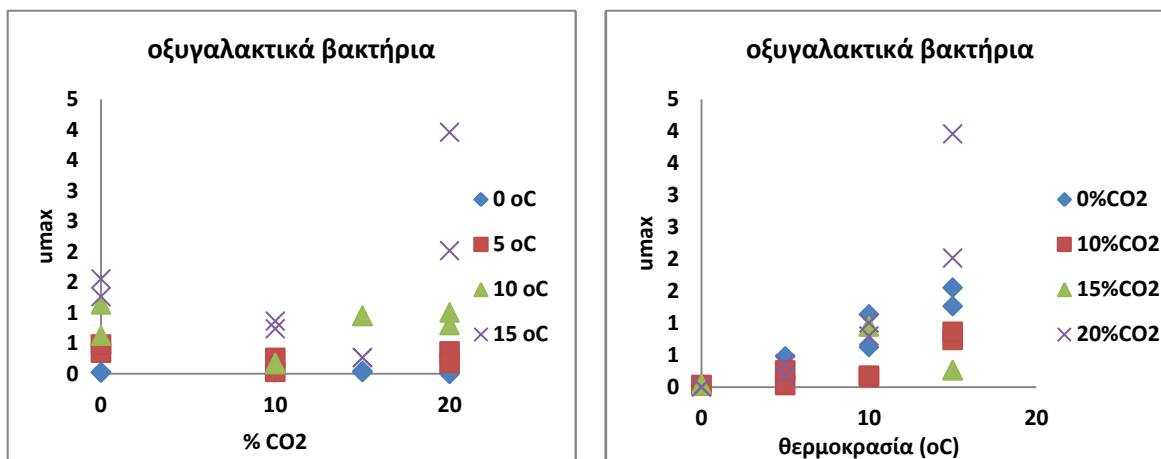
Παράμετρος	Εκτίμηση (log cfu/g)	Τυπικό σφάλμα	t-value
Const	-3,0851	0,57407	-5,374
CO2	-0,17224	0,086801	-1,9844
T	0,4974	0,12123	4,103
CO2*T	0,0068239	0,0041893	1,6289
CO2*CO2	0,0048439	0,0039614	1,2228
T*T	-0,020195	0,0071733	-2,8153
R2	RMSE		
0,7469	0,97775		

Πίνακας 4.15: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO_2 και θερμοκρασίας.

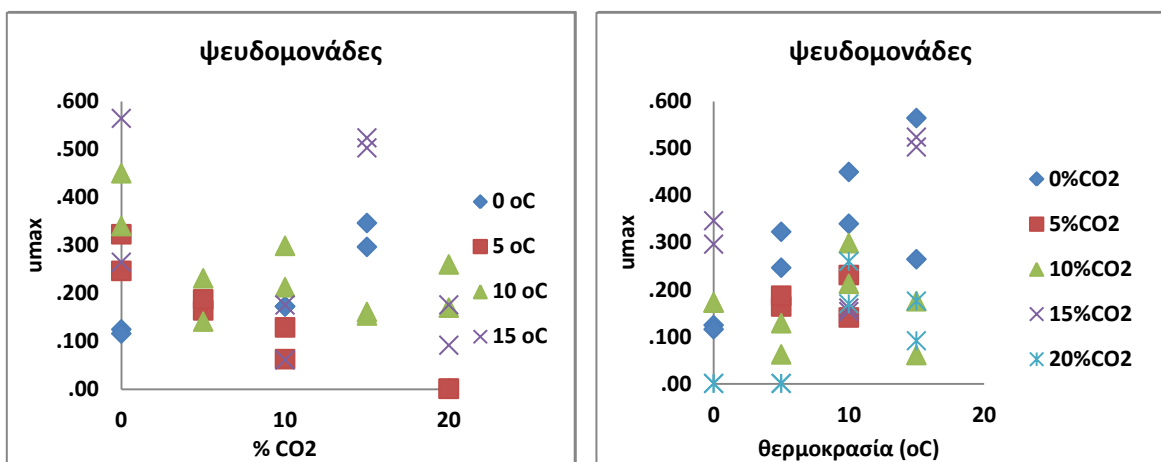
CO_2 (%)	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ(°C)	$\mu_{max}(\log cfu/g)$
0	0	0.120 ± 0.00615
10	0	0.173 ± 0.00021
15	0	0.322 ± 0.03521
20	0	0.001 ± 0
0	5	0.285 ± 0.05395
5	5	0.176 ± 0.01619
10	5	0.096 ± 0.04676
20	5	0.001 ± 0
0	10	0.395 ± 0.07778
5	10	0.186 ± 0.06371
10	10	0.256 ± 0.06102
15	10	0.157 ± 0.00523
20	10	0.215 ± 0.06364
0	15	0.415 ± 0.21192
10	15	0.118 ± 0.0808
15	15	0.513 ± 0.01485
20	15	0.134 ± 0.05959

Πίνακας 4.16.: παράμετροι εκτίμησης δευτερογενούς μοντέλου για τον προσδιορισμό του λογαριθμικού ρυθμού αύξησης των ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας

Παράμετρος	Εκτίμηση (log cfu/g)	Τυπικό σφάλμα	t-value
Const	-1,4361	0,61638	-2,3299
CO2	-0,10044	0,097607	-1,029
T	0,056404	0,13356	0,42231
CO2*T	0,016415	0,0046857	3,5033
CO2*CO2	-0,0084	0,0043077	-1,95
T*T	-0,004364	0,007975	-0,54715
R2		RMSE	
0,6798		1,0569	



Διάγραμμα 4.19.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO_2 και θερμοκρασίας.



Διάγραμμα 4.20.: Μέγιστος ρυθμός αύξησης (μ_{max}) ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας συναρτήσει CO_2 και θερμοκρασίας.

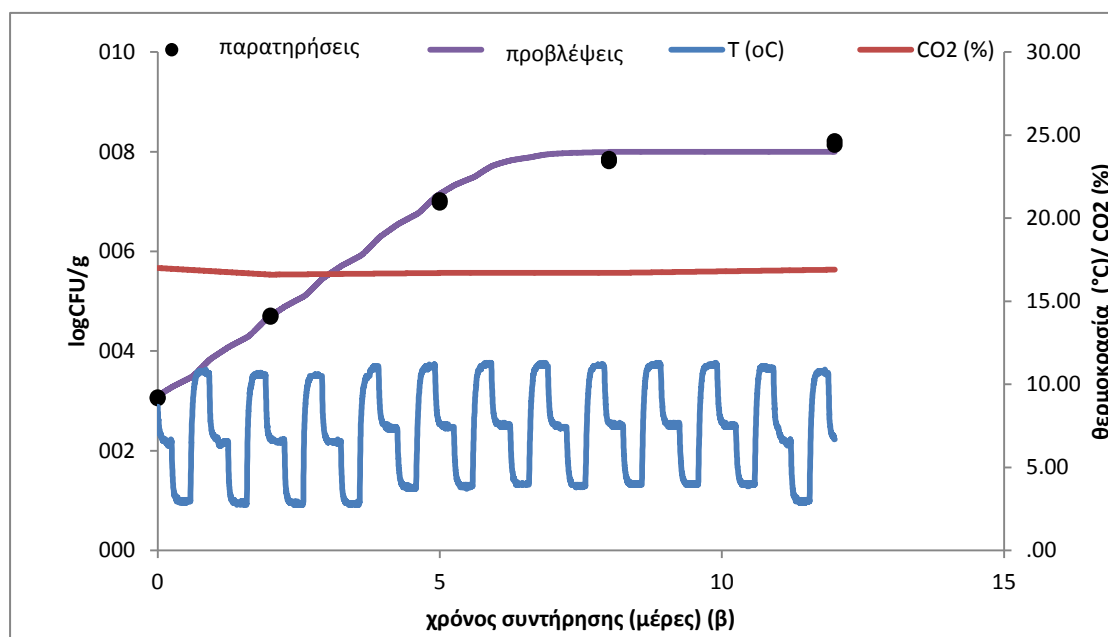
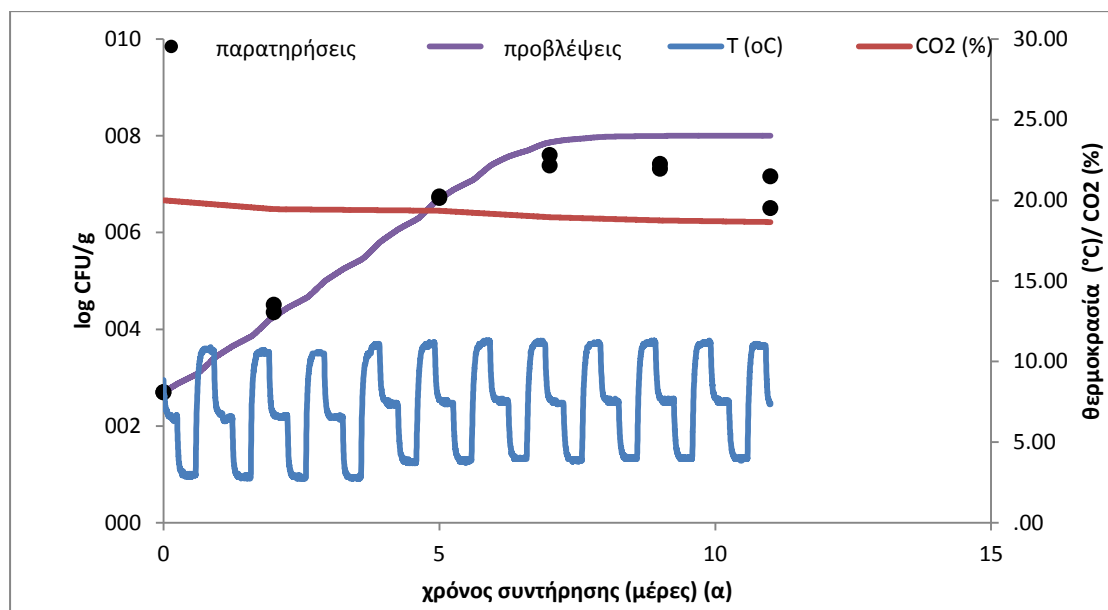
Ο ρυθμός αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων επηρεάστηκε αναλογικά από την αύξηση της θερμοκρασίας, τόσο στον πολτό όσο και στο λαχανικό της ρόκας, όπου σημείωσε και τον υψηλότερο ρυθμό (Διάγραμμα 4.17.,4.19.). Αντίθετα, η συγκέντρωση του CO_2 , δεν φάνηκε να επηρεάζει το ρυθμό αύξησης τους, με εξαίρεση τη συνδυαστική επιρροή της υψηλής συγκέντρωσης του με τη υψηλή θερμοκρασία στο λαχανικό της ρόκας(Διάγραμμα 4.19.).

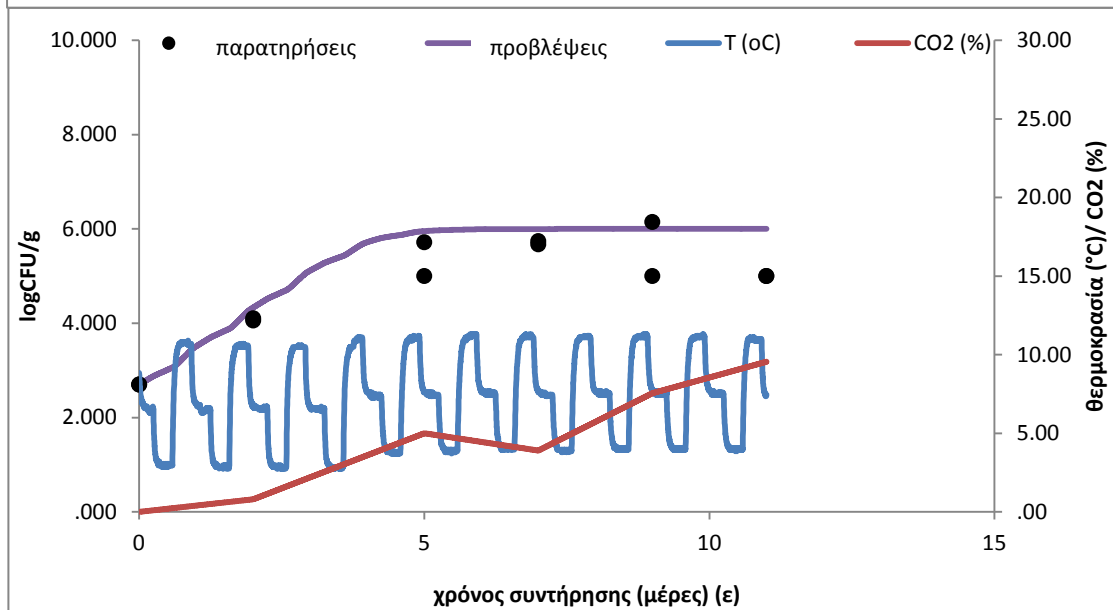
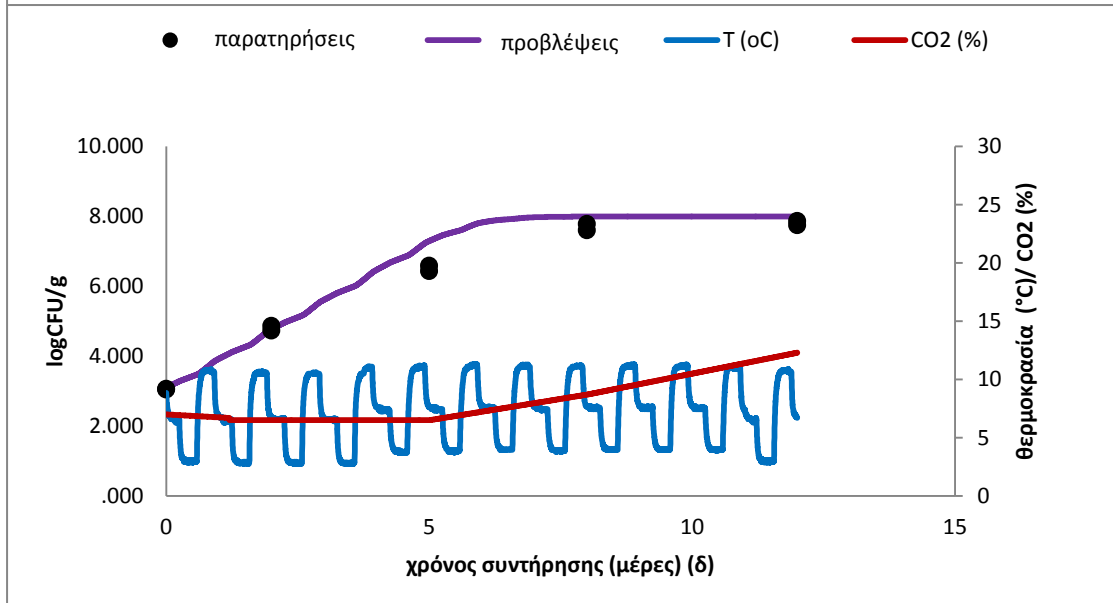
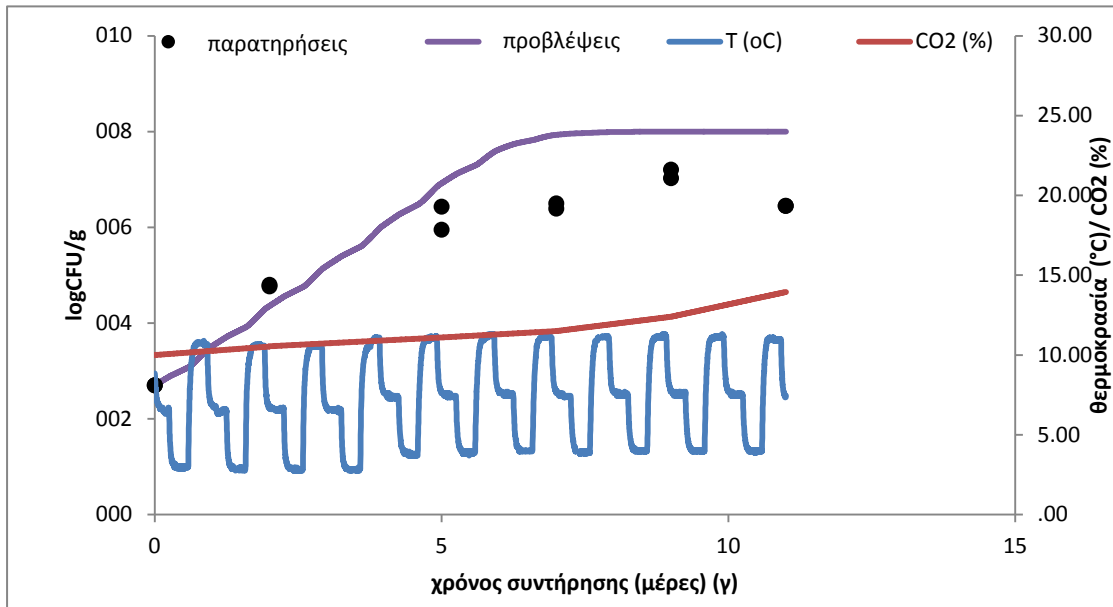
Σε αντίθεση με τα οξυγαλακτικά βακτήρια, ο ρυθμός αύξησης των ψευδομονάδων επηρεάστηκε και από τους δύο παράγοντες, τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση του CO_2 . Στο πολτό της ρόκας, οι ψευδομονάδες παρουσίασαν μικρότερο ρυθμό αύξησης σε σχέση με το λαχανικό(Διάγραμμα 4.18.,4.20.).

4.10. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΠΟΛΥΩΝΙΜΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ

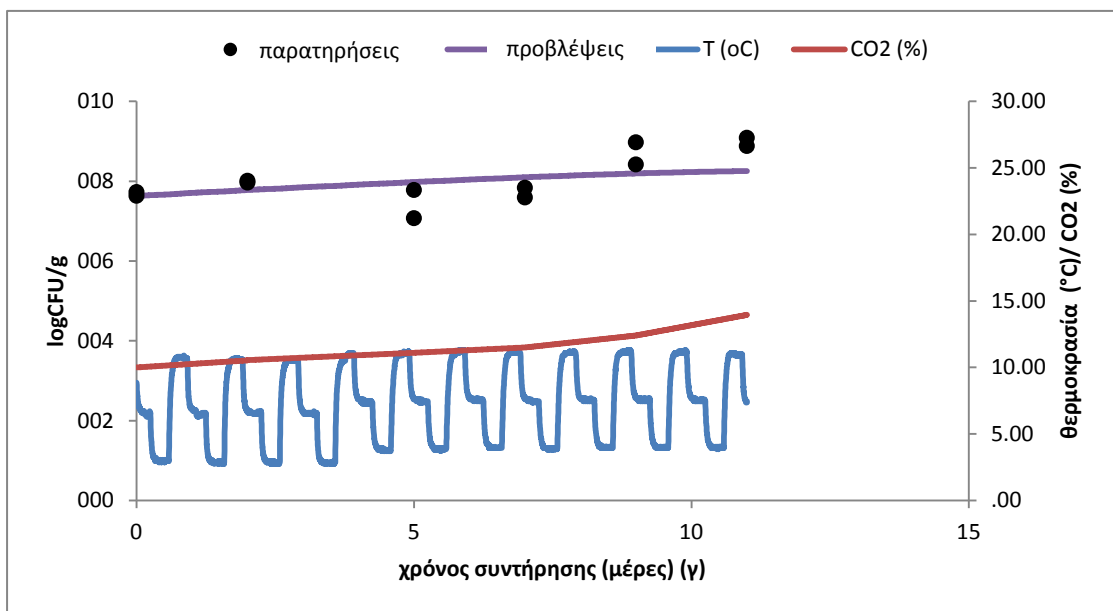
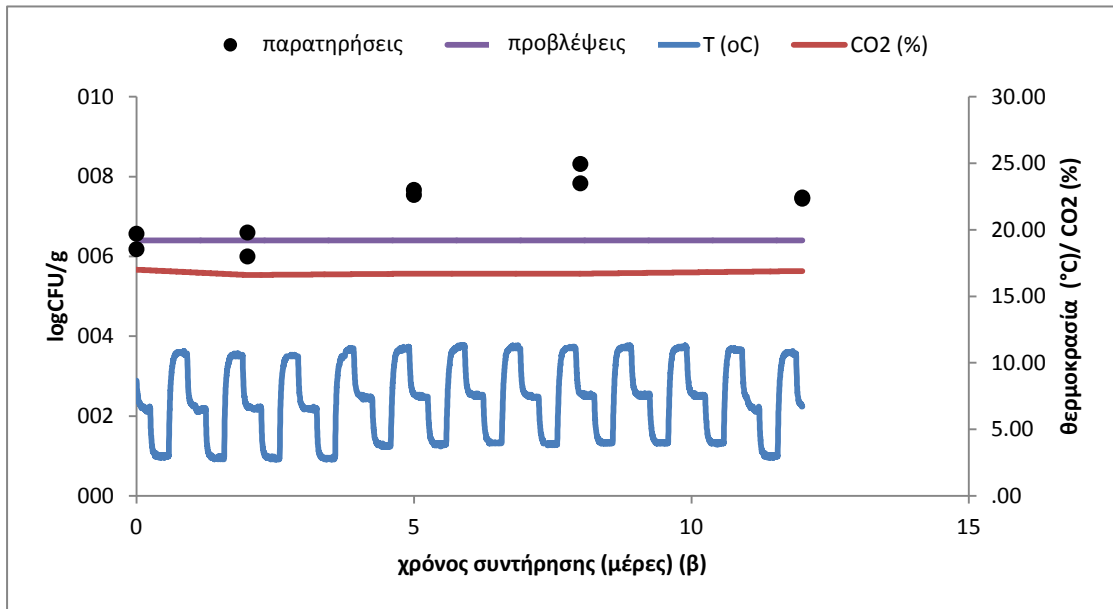
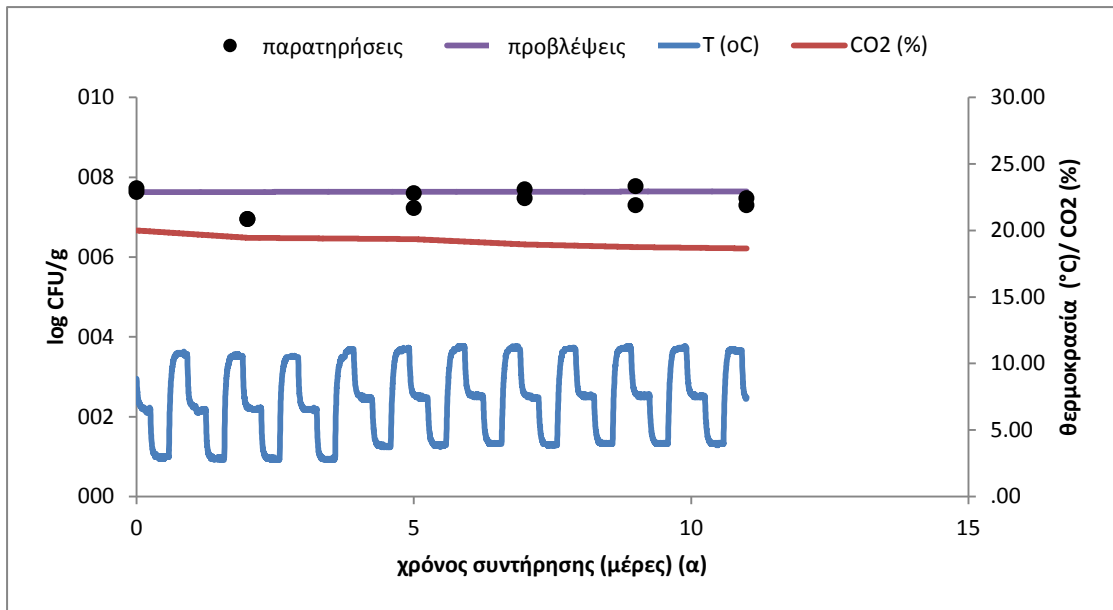
4.10.1. ΠΟΛΤΟΣ ΡΟΚΑΣ

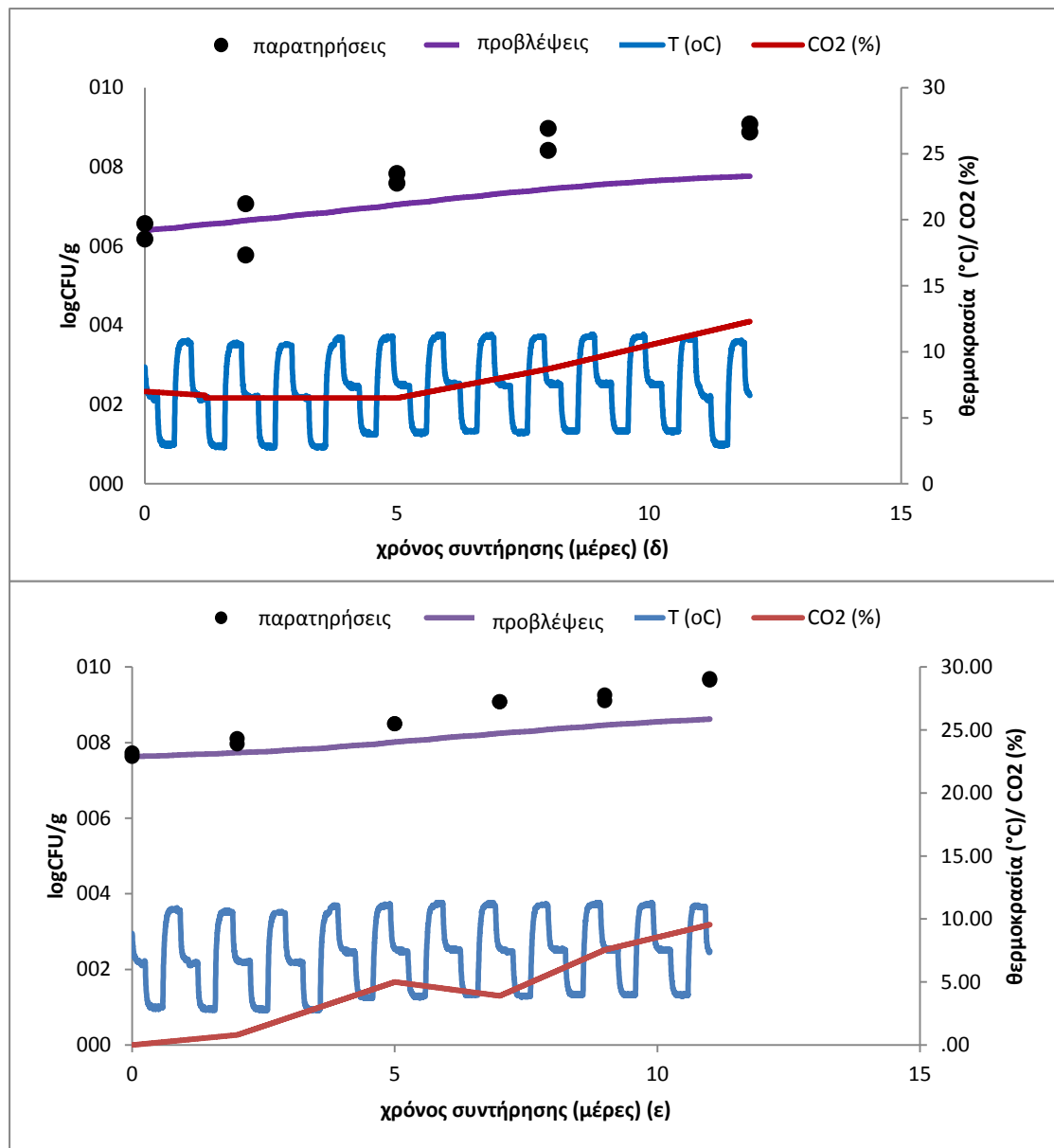
Τα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζουν την καμπύλη αύξησης των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων που παρατηρήθηκε από την πειραματική διαδικασία καθώς και αυτή που προβλέφτηκε από το δευτερογενές μοντέλο συναρτήσεως του CO₂ και της θερμοκρασίας στις ΤΑ 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ σε πολτό ρόκας.





Διάγραμμα 4.21.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πολτό ρόκας σε συσκευασίες TA (α)0%O₂: 20%CO₂, (β) 5%O₂: 15%CO₂, (γ) 10%O₂:10%CO₂, (δ) 15%O₂:5%CO₂, (ε) 21%O₂: 0%CO₂





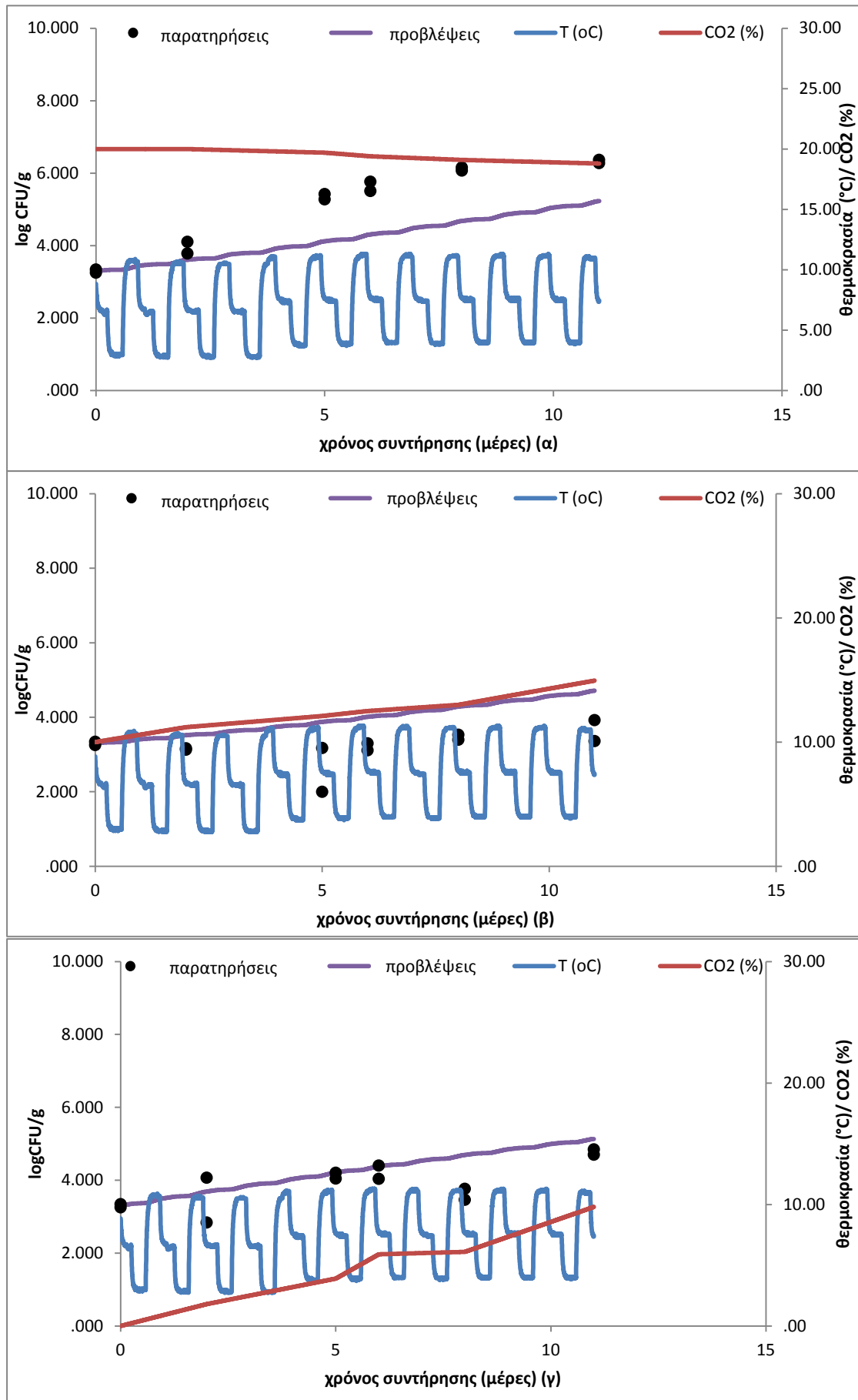
Διάγραμμα 4.22.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού ψευδομονάδων σε πολτό ρόκας σε συσκευασίες TA (α) 0%O₂: 20%CO₂, (β) 5%O₂: 15%CO₂, (γ) 10%O₂:10%CO₂, (δ) 15%O₂:5%CO₂, (ε) 21%O₂: 0%CO₂

Η απόδοση των δευτερογενών πολυωνυμικών μοντέλων στην πρόβλεψη της βακτηριακής αύξησης των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων, αξιολογήθηκε συγκρίνοντας τις προβλέψεις με τις παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια συντήρησης πολτού ρόκας σε θερμοκρασίες 0, 5, 10 και 15 °C και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις CO₂ (0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂). Οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του CO₂ καταγράφηκαν και η συμφωνία μεταξύ των δυναμικών προβλέψεων και των παρατηρήσεων ήταν ικανοποιητική (Διάγραμμα 4.22.). Εξάιρεση αποτελούν, η TA 10%O₂:10%CO₂ όπου το δευτερογενές μοντέλο

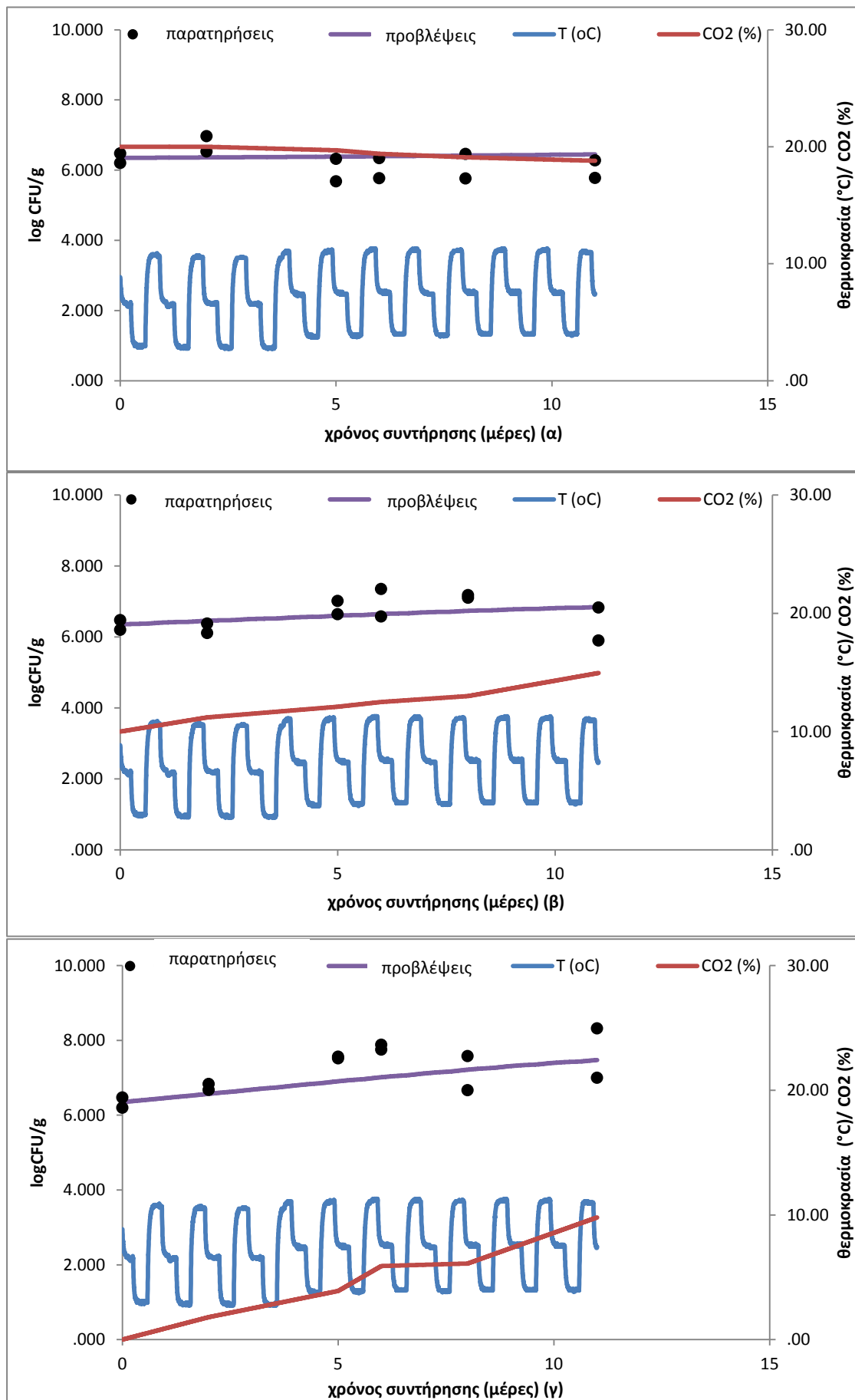
υπερεκτιμά ελαφρώς τη αύξηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων και οι TA 5%O₂: 15%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ στις οποίες το μοντέλο υποεκτιμά ελαφρώς την αύξηση των ψευδομονάδων τις τελευταίες ημέρες της συντήρησης (Διάγραμμα 4.22.).

4.10.2. ΛΑΧΑΝΙΚΟ ΡΟΚΑΣ

Τα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζουν την καμπύλη αύξησης των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων που παρατηρήθηκε από την πειραματική διαδικασία καθώς και αυτή που προβλέφτηκε από το δευτερογενές μοντέλο συναρτήσεως του CO₂ και της θερμοκρασίας στις TA 0%O₂: 20%CO₂, 5%O₂: 15%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 15%O₂:5%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂ σε λαχανικό ρόκας.



Διάγραμμα 4.23.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες TA (α)0%O₂: 20%CO₂, (β) 10%O₂:10%CO₂, (γ) 21%O₂: 0%CO₂

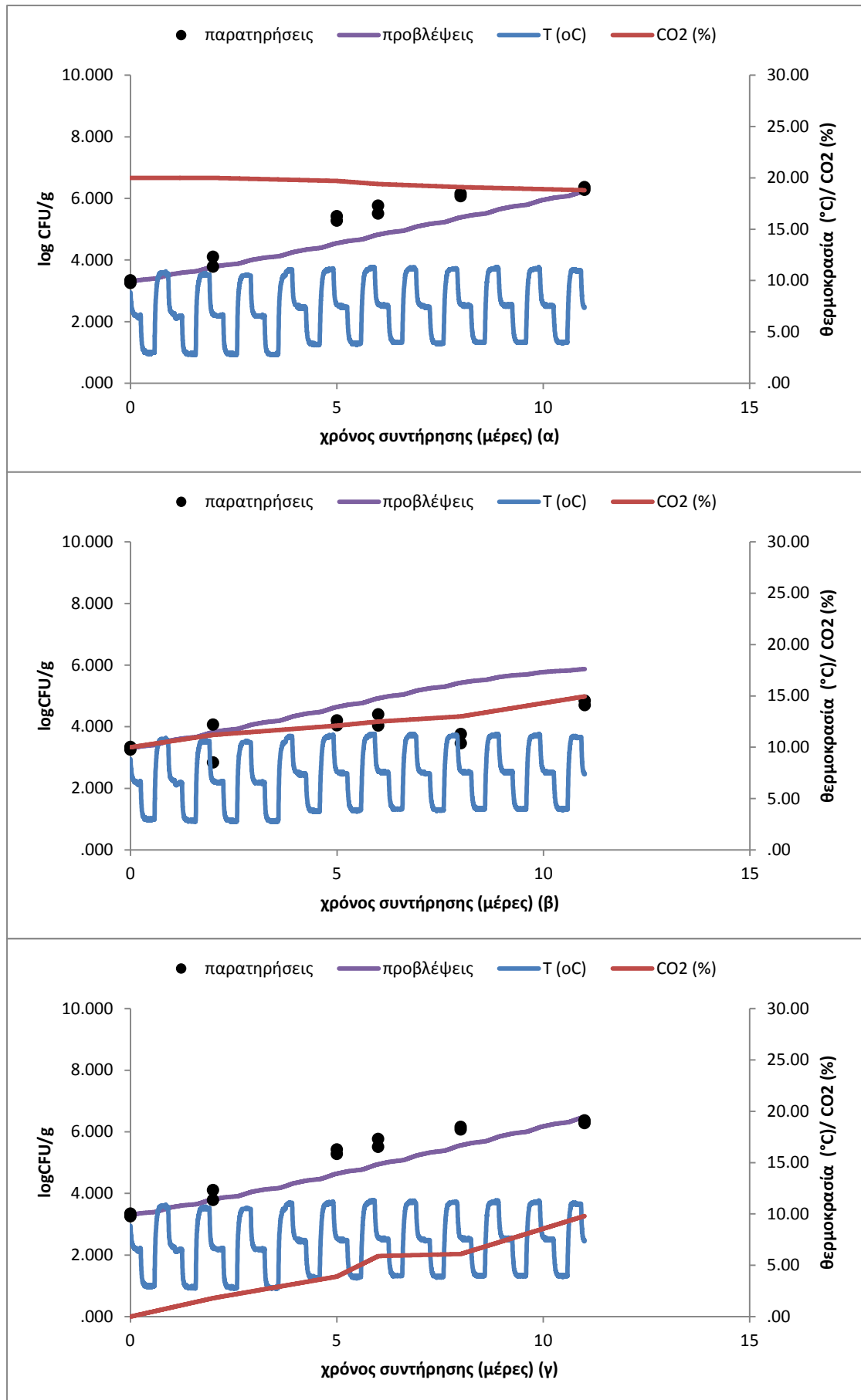


Διάγραμμα 4.24.: Προβλέψεις και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες TA (α) 0%O₂: 20%CO₂, (β) 10%O₂:10%CO₂, (γ) 21%O₂: 0%CO₂

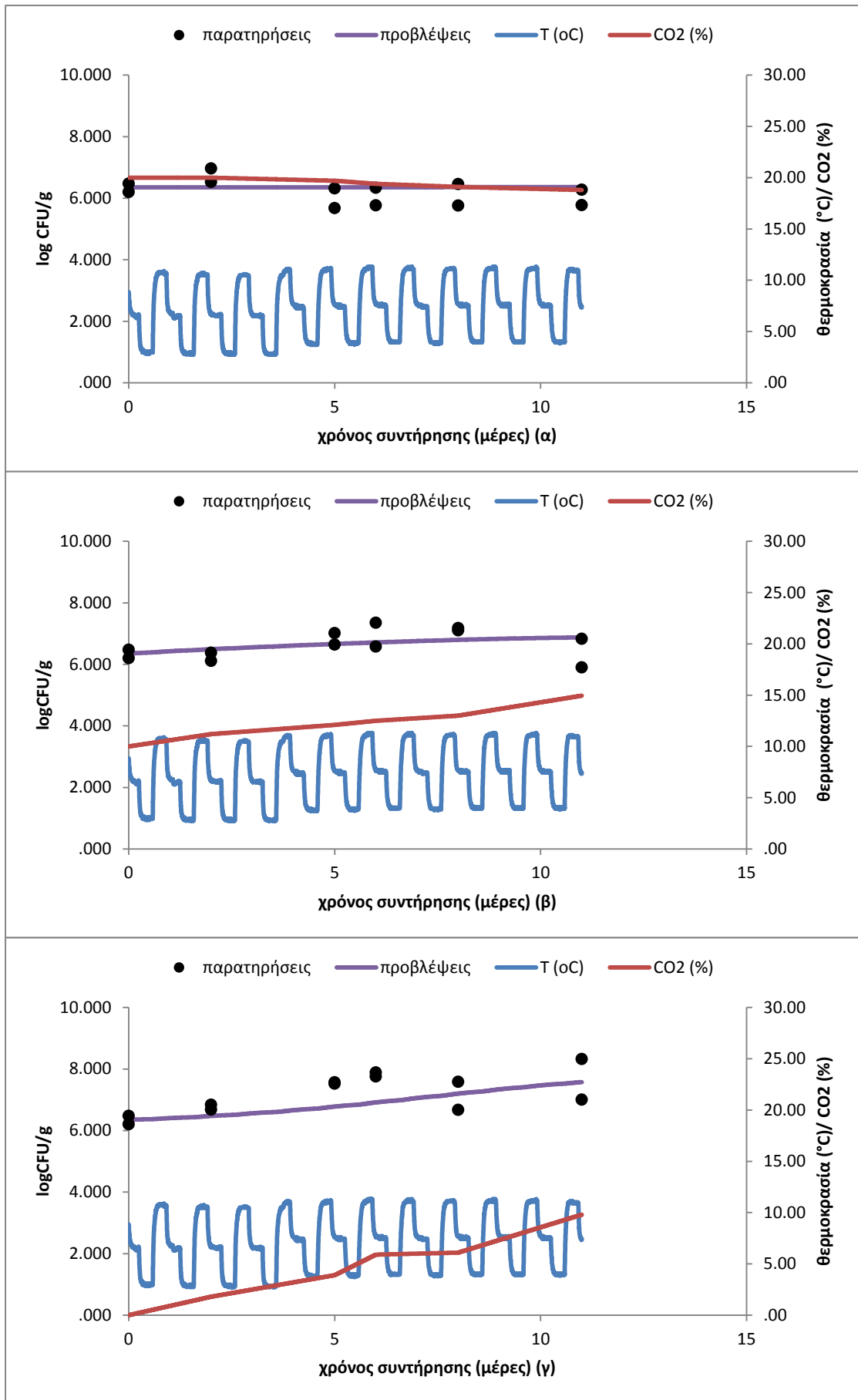
Η απόδοση των δευτερογενών πολυωνυμικών μοντέλων στην πρόβλεψη της βακτηριακής αύξησης των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων αξιολογήθηκε συγκρίνοντας τις προβλέψεις με τις παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε θερμοκρασίες 0, 5, 10 και 15 °C και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις CO₂ (0%O₂: 20%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂). Οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του CO₂ καταγράφηκαν και η συμφωνία μεταξύ των δυναμικών προβλέψεων και των παρατηρήσεων στον πληθυσμό των ψευδομονάδων ήταν σχετικά ικανοποιητική, παρουσιάζοντας μια μικρή υπερεκτίμηση του μοντέλου τις τελευταίες μέρες συντήρησης στην TA 0%O₂: 20%CO₂(Διάγραμμα 4.24.). Σε αντίθεση με τις ψευδομονάδες, στον πληθυσμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων η ασυμφωνία των προβλέψεων με των παρατηρήσεων ήταν εμφανής, με εξαίρεση την TA 21%O₂: 0%CO₂, όπου η πρόβλεψη ήταν σχετικά ικανοποιητική παρουσιάζοντας μόνο μια μικρή υπερεκτίμηση του μοντέλου τις τελευταίες ημέρες της συντήρησης. Η καλύτερη πρόβλεψη σε αυτές τις συνθήκες, πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρίσκονται στις ιδανικές για την ανάπτυξη τους συνθήκες (Διάγραμμα 4.23.).

4.10.3 ΕΞΩΤΕΡΙΚΗ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ

Τα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζουν την καμπύλη αύξησης των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων, που παρατηρήθηκε από την πειραματική διαδικασία συντήρησης λαχανικού ρόκας καθώς και αυτή που προβλέφτηκε από το δευτερογενές μοντέλο συναρτήσεως του CO₂ και της θερμοκρασίας στις TA 0%O₂: 20%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂. Το δευτερογενές μοντέλο αναπτύχθηκε χρησιμοποιώντας τις παρατηρήσεις από την πειραματική διαδικασία συντήρησης πολτού ρόκας στις ίδιες TA.



Διάγραμμα 4.25.: Προβλέψεις σε πολύτο ρόκας και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού οξυγαλακτικών βακτηρίων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες ΤΑ (α) 0%O₂: 20%CO₂, (β) 10%O₂:10%CO₂, (γ) 21%O₂: 0%CO₂



Διάγραμμα 4.26.: Προβλέψεις σε πολτό ρόκας και παρατηρήσεις αύξησης πληθυσμού ψευδομονάδων σε λαχανικό ρόκας σε συσκευασίες TA (α) 0%O₂: 20%CO₂, (β) 10%O₂:10%CO₂, (γ) 21%O₂: 0%CO₂

Η απόδοση των δευτερογενών πολυωνυμικών μοντέλων στην πρόβλεψη της βακτηριακής αύξησης των ψευδομονάδων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων αξιολογήθηκε συγκρίνοντας τις προβλέψεις σε πολύ ρόκας με τις παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια συντήρησης λαχανικού ρόκας σε θερμοκρασίες 0, 5, 10 και 15 °C και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις CO₂ (0%O₂: 20%CO₂, 10%O₂:10%CO₂, 21%O₂: 0%CO₂). Οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του CO₂ καταγράφηκαν και η συμφωνία μεταξύ των δυναμικών προβλέψεων και των παρατηρήσεων στον πληθυσμό των ψευδομονάδων ήταν ικανοποιητική (Διάγραμμα 4.26.). Σε αντίθεση με τις ψευδομονάδες, στον πληθυσμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων υπήρξε μικρή απόκλιση των προβλέψεων βάση του πολτού της ρόκας, με τις παρατηρήσεις κατά τη συντήρηση λαχανικού ρόκας, με εξαίρεση την TA 21%O₂: 0%CO₂, όπου η πρόβλεψη ήταν σχετικά ικανοποιητική παρουσιάζοντας μόνο μια μικρή υποεκτίμηση του μοντέλου από την πέμπτη μέχρι την όγδοη μέρα της συντήρησης (Διάγραμμα 4.25.). Η απόκλιση αυτή στα οξυγαλακτικά βακτήρια πιθανότατα οφείλετε στο γεγονός ότι δεν αποτελούν κυρίαρχο πληθυσμό και επηρεάζονται και από λοιπούς παράγοντες, οι οποίοι δεν λήφθηκαν υπόψη, κατά τη μοντελοποίηση.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας, οι μικροοργανισμοί που κυριάρχησαν στην αλλοίωση του φρεσκοκομμένου λαχανικού της ρόκας αλλά και του πολτού αυτής, ήταν οι ψευδομονάδες. Τόσο η υψηλή θερμοκρασία όσο και η απουσία του CO₂ επέδρασαν σημαντικά στο ρυθμό αύξησης του βακτηριακού πληθυσμού τους. Ακολούθησαν τα εντεροβακτήρια, τα οποία επηρεάστηκαν περισσότερο από τις υψηλές θερμοκρασίες, όπου και σημείωσαν την μεγαλύτερη τους αύξηση και λιγότερο από τη συγκέντρωση του CO₂. Σε ελαφρώς χαμηλότερα πληθυσμιακά επίπεδα κυμάνθηκαν οι ζύμες και οι μύκητες, οι οποίοι σε αντίθεση με τα εντεροβακτήρια επηρεάστηκαν από την απουσία του CO₂, ενώ η θερμοκρασία δεν σημείωσε σημαντική επίδραση. Τέλος, ο ρυθμός αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων επηρεάστηκε αναλογικά από την αύξηση της θερμοκρασίας, τόσο στον πολτό όσο και στο λαχανικό της ρόκας, όπου σημείωσε και τον υψηλότερο ρυθμό. Ωστόσο, η συγκέντρωση του CO₂ δεν φάνηκε να επηρεάζει τον ρυθμό αύξησης τους, με εξαίρεση τη συνδυαστική επιρροή της με τη υψηλή θερμοκρασία στο λαχανικό της ρόκας.

Χρησιμοποιώντας τις παρατηρήσεις της επίδρασης της θερμοκρασίας και τη συγκέντρωσης του CO₂ στη μικροβιακή αλλοίωση του πολτού και του λαχανικού της ρόκας, αναπτύχθηκε ένα δευτερογενές πολυωνυμικό μοντέλο το οποίο περιγράφει το ρυθμό ανάπτυξης των κυρίαρχων μικροοργανισμών αλλοίωσης της ρόκας. Στο πολτό της ρόκας, οι προβλέψεις του μοντέλου ήταν στο μεγαλύτερο ποσοστό τους, ικανοποιητικές. Ως εκ τούτου, αυτό το μοντέλο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για σύγκριση ή επικύρωση άλλων μοντέλων πρόβλεψης αλλοίωσης ρόκας ή άλλων λαχανικών που χαρακτηρίζονται από έντονη αναπνευστική δραστηριότητα. Αντίθετα, στο λαχανικό της ρόκας, ο ρυθμός αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν δύσκολο να μοντελοποιηθεί, σε αντίθεση με τις ψευδομονάδες. Ωστόσο, η εξωτερική επικύρωση του μοντέλου που δημιουργήθηκε από τις παρατηρήσεις του πολτού ρόκας με τα δεδομένα από το λαχανικό της ρόκας, ήταν επιτυχής. Η επιτυχία αυτή, είναι πολύ σημαντική για τη βιομηχανία που παράγει φρεσκοκομμένες σαλάτες ρόκας, καθώς τους δίνεται η δυνατότητα να εκτιμήσουν, να προβλέψουν και ελέγξουν αξιόπιστα την αλλοίωση της ρόκας, συναρτήσει της θερμοκρασίας αλλά και της συγκέντρωσης του CO₂.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Amanatidou, A., Smid, J. E. and Gorris, M. G. L. (1999). Effect of elevated oxygen and carbon dioxide on the surface growth of vegetable-associated micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology.*, 86 (3), 429-438.

- Allende, A., Luo, Y., McEvoy, L. J., Artés, F. and Wang, Y. C. (2004). Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*., 33 (1), 51-59.
- Arvanitoyannis, I. S., Bouletis, A. D., Papa, E. A., Gkagtzis, D. C., Hadjichristodoulou, C., & Papaloucas, C. (2011). Microbial and sensory quality of “< i> Lollo verde</i>” lettuce and rocket salad stored under active atmosphere packaging. *Anaerobe*, 17(6), 307-309.
- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International journal of food microbiology*, 23(3), 277-294.
- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1995). Mathematics of predictive food microbiology. *International journal of food microbiology*, 26(2), 199-218.
- Barillari, J. , Cervellati, R. , Paolini, M. , Tatibouët, A. , Rollin, P. and Iori R. (2005). Isolation of 4-Methylthio-3-butenyl Glucosinolate from Raphanus sativus Sprouts (Kaiware Daikon) and Its Redox Properties. *J. Agric. Food Chem.*, 53 (26), 9890–9896.
- Beaudry, M. R., Cameron, C. A., Shirazi, A. and Dostal-Lange, L. D. (1992). Modified-atmosphere Packaging of Blueberry Fruit: Effect of Temperature on Package O₂ and CO₂. *Journal of the American Society for Horticultural Science*., 117 (3), 436-441.
- Brocklehurst, F. T., Zaman-Wong, M. C. and Lund, M. B. (1987). A note on the microbiology of retail packs of prepared salad vegetables. *Journal of Applied Microbiology*., 63 (5), 409-415.
- Char C., Silveira A.C., Inestroza-Lizardo C., Hinojosa A., Machuca A., Escalona V.H.,2012. Effect of noble gas-enriched atmospheres on the overall quality of ready-to-eat arugula salads. *Postharvest Biology and Technology* 73, 50–55.
- Clark, D. S., & Burki, T. (1972). Oxygen requirements of strains of Pseudomonas and Achromobacter. *Canadian journal of microbiology*, 18(3), 321-326.

- Drewnowski, A. and Gomez – Carneros, C. (2000). Bitter taste phytonutrients, and the consumer: a review. *American Society for Clinical Nutrition*, 72, (6), 1424-1435.
- Enfors, S. O., & Molin, G. (1981). The influence of temperature on the growth inhibitory effect of carbon dioxide on *Pseudomonas fragi* and *Bacillus cereus*. *Canadian journal of microbiology*, 27(1), 15-19.
- Esty, R. J. and Meyer, F. K. (1922). The heat resistance of the spores of *B. botulinus* and allied anaerobes. XI. *The Journal of Infectious Diseases.*, 31 (6), 650-663.
- Exama, A., Arul, J., Lencki, W. R., Lee, Z. L. and Toupin, C. (1993). Suitability of Plastic Films for Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables. *Journal of Food Science.*, 58 (6), 1365-1370.
- García-Gimeno, R. M., & Zurera-Cosano, G. (1997). Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life. *International journal of food microbiology*, 36(1), 31-38.
- Genigeorgis, C.A. (1981) Factors affecting the probability of growth of pathogenic microorganisms in foods, *Journal of the American Veterinary Medical Association.*, 35, 56-67.
- Gill, C. O., & Tan, K. H. (1979). Effect of carbon dioxide on growth of *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology*, 38(2), 237-240.
- Guerzoni, E. M., Gianotti, A., Corbo, R. M. and Sinigaglia, M. (1996). Shelf-life modelling for fresh-cut vegetables. *Postharvest Biology and Technology.*, 9 (2), 195-207.
- Hendricks, M. T., & Hotchkiss, J. H. (1997). Effect of carbon dioxide on the growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria monocytogenes* in aerobic atmospheres. *Journal of Food Protection®*, 60(12), 1548-1552.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Falcato, P. and Debevere, J.(1999). Behavior of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas* spp. on Fresh-Cut Produce Packaged under Equilibrium-Modified Atmosphere. *Journal of Food Protection.*, 10, 1103-1227, 1128-1135.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Van der Steen, C. and Debevere, J. (2001). Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth

and sensorial qualities of fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology.*, 71 (2-3), 197-210.

- Jacxsens, L., Devlieghere, F., and Debevere, J. (2002). Temperature dependence of shelf-life as affected by microbial proliferation and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce. *Postharvest Biology and Technology.*, 26 (1), 59-73.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Ragaert, P., Vanneste, E. and Debevere, J. (2003). Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology.*, 83 (3), 263-280.
- Kader, A. A., & Saltveit, M. E. (2003). Respiration and gas exchange. *Postharvest physiology and pathology of vegetables*, 7-29.
- Koukounaras, A., Siomos, S. A. and Sfakiotakis, E. (2006). 1-Methylcyclopropene prevents ethylene induced yellowing of rocket leaves. *Postharvest Biology and Technology.*, 41 (1), 109-111.
- Lakakul, R., Beaudry, M. R. and Hernandez, J. R. (1999). Modeling Respiration of Apple Slices in Modified-Atmosphere Packages. *Journal of Food Science.*, 64 (1), 105-110.
- Lalexou, E., Kapetanakou, A. and Skandamis, P. (2013). Study of Microbial Deterioration Truncated cabbage packed in Modified Atmosphere Commercial Scale
- Lamikanra, O. (2002). *Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. CRC Press LLC, Florida, US. 2-9.
- Lee, S. D., Kang, S. J. and Renault, P. (2000). Dynamics of internal atmosphere and humidity in perforated packages of peeled garlic cloves. *International Journal of Food Science and Technology.*, 35 (5), 455-464.
- Manvell, P. M., & Ackland, M. R. (1986). Rapid detection of microbial growth in vegetable salads at chill and abuse temperatures. *Food Microbiology*, 3(1), 59-65.

- Markarian, J. (2004). Advances in PVC heat and light stabilization. *Plastics, Additives and Compounding.*, 6 (5), 46-49.
- Martinez-Sanchez A., Marin A., Llorach R., Ferreres F., Gil M.I., (2006). Controlled atmosphere preserves quality and phytonutrients in wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*). *Postharvest Biology and Technology* 40, 26–33.
- McMeekin, T. A., Olley, J., Ratkowsky, D. A., & Ross, T. (2002). Predictive microbiology: towards the interface and beyond. *International Journal of Food Microbiology*, 73(2), 395-407.
- Nguyen-the, C. and Carlin, F. (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, 34 (4), 371-401.
- Nguyen-the, C. and Carlin, F. (2009). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*,34 (4), 371-401.
- Olley, J.; Ratkowsky, D. A. (1973). Temperature function integration and its importance in the storage and distribution of flesh foods above the freezing point, *Food Technology Australia.*, 25 (2), 66-73.
- Ragaert, P., Devlieghere, F. and Debevere, J. (2007). Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology.*, 44 (3), 185-194.
- Ratkowsky, D. A., Ross, T., Macario, N., Dommett, T.W. and Kamperman L. (1996). Choosing probability distributions for modelling generation time variability. *Journal of Applied Bacteriology.*, 80 (2), 131-137.
- Saltveit, E. M. (2003). Is it possible to find an optimal controlled atmosphere? *Postharvest Biology and Technology.*, 27 (1), 3-13.
- Sandhya, (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT - Food Science and Technology.* 43, 381–392.

- Silva, M. F., Chau, V. K., Brecht, K. J. and Sargent, A. S. (1999). Modified atmosphere packaging for mixed loads of horticultural commodities exposed to two postharvest temperatures. *Postharvest Biology and Technology*., 17 (1), 1-9.
- Toivonen, A. M. P. (1997). The effects of storage temperature, storage duration, hydro-cooling, and micro-perforated wrap on shelf life of broccoli (*Brassica oleracea* L., Italica Group). *Postharvest Biology and Technology*., 10 (1), 59-65.
- Toinoven, A. M. P. and Brummell, A. D. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*., 48 (1), 1-14.
- Tournas, V. H., (2005). Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts. *International Journal of Food Microbiology*., 99, 71–77.
- Watada, E. A., Ko, P. N. and Minott, A. D. (1996). Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*., 9 (2), 115-125.
- Watada, E. A. and Qi, L. (1999). Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*., 15 (3), 201-205.
- Whiting, R. C., and Buchanan, R. L. (1993). A classification of models in predictive microbiology-reply. *Food Microbiology*, 10 (2), 175-177.
- Zagory, D. (1999). Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biology and Technology*., 15 (3), 313-321.
- Zwietering, M. H. ; Wit, J. C. and Notermans, S. (1996) Application of predictive microbiology to estimate the number of *Bacillus cereus* in pasteurised milk at the point of consumption, *International Journal of Food Microbiology*., 30 (1-2), 55-70.
- Βασιλακάκης, Δ.Μ. (2006). Μετασυλλεκτική Φυσιολογία Μεταχείριση Οπωροκηπευτικών και Τεχνολογία Διαιτητική Αξία Οπωροκηπευτικών. Εκδόσεις Γαρταγάνης, Θεσσαλονίκη, 306.

