

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ
ΠΜΣ «ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ»

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Αποτίμηση της Μικροβιακής Ασφάλειας Νωπού Γύρου Υπό
Εμπορικές Συνθήκες Έψησης**

Μαρία Ε. Κολοστούμπη

Επιβλέπων καθηγητής:

Σκανδάμης Παναγιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ

2020

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

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Αποτίμηση της Μικροβιακής Ασφάλειας Νωπού Γύρου Υπό
Εμπορικές Συνθήκες Έψησης**

**Assessment of Microbiological Safety of Raw Gyros Under
Cooking Conditions**

Μαρία Ε. Κολοστούμπη

Εξεταστική Επιτροπή:

Σκανδάμης Παναγιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής (Επιβλέπων)

Δροσινός Ελευθέριος, Καθηγητής

Νυχάς Γεώργιος Ιωάννης, Καθηγητής

Α. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο γύρος αποτελεί ένα παγκοσμίως γνωστό ελληνικό παραδοσιακό έδεσμα, αποτελούμενο κυρίως από μαριναρισμένο χοιρινό κρέας ή κοτόπουλο. Παρασκευάζεται με την κοπή ατόφιων τεμαχίων κρέατος σε λεπτές φέτες, οι οποίες αναμιγνύονται με τα καρυκεύματα, το αλάτι και τα υπόλοιπα πρόσθετα και τοποθετούνται εναλλάξ σε στρώσεις κωνοειδούς σχήματος σε σιδερένια ράβδο κατά το τρόπο ώστε το τελικό προϊόν να αποκτήσει κωνοειδές σχήμα. Κατά το στάδιο της έψησης, ο γύρος περιστρέφεται, αργά, μπροστά από θερμαινόμενες εστίες όπου τα επιφανειακά στρώματα του κρέατος, όταν ψηθούν επαρκώς, τεμαχίζονται σταδιακά, με αποτέλεσμα τα αμέσως βαθύτερα τμήματα να εκτίθενται με τη σειρά τους στις θερμενόμενες εστίες και να ψήνονται έως ότου τεμαχιστούν και αυτά.

Δεδομένου του ιδιαίτερου σχήματος και του ιδιαίτερου τρόπου έψησης, παρατηρείται κλιμάκωση της θερμοκρασίας από το κέντρο προς τα εξωτερικά μέρη του κώνου η οποία δύναται να αποτελέσει ευνοϊκή συνθήκη αύξησης μικροοργανισμών (αλλοιογόνα ή/και παθογόνα βακτήρια) λόγω της παραμονής για μεγάλο χρονικό διάστημα του γύρου σε θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης ζώνης ανάπτυξης μικροοργανισμών (5-60°C) κοντά στον ψυχρό πυρήνα του γύρου. Στο νωπό γύρο η περιοχή αυτή παραμένει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στις συνθήκες αυτές σε αντίθεση με τον υπερψυγμένο, εξαιτίας του διαφορετικού ρυθμού μετάδοσης της θερμότητας. Η επικινδυνότητα αυξάνεται περαιτέρω καθώς σε πολλές περιπτώσεις πραγματοποιούνται πλημμελείς εμπορικές πρακτικές κατά τη διάρκεια της έψησης, όπως η συχνή παύση των εστιών ή απενεργοποίηση τους μετά το πέρας της ώρας αιχμής, διατήρηση σε θερμαινόμενο δίσκο ή επαναθέρμανση των γύρων σε θερμό θάλαμο μέχρι την κατανάλωση, ή ακόμα και διατήρηση προϊόντος που ψήθηκε τη προηγούμενη ημέρα, δεν καταναλώθηκε και υποβλήθηκε σε αναθέρμανση.

Λαμβάνοντας υπόψιν τις παραπάνω ιδιαιτερότητες του νωπού γύρου, ο γύρος από μικροβιολογικής πλευράς επιδέχεται μελέτη. Έτσι, η παρούσα μελέτη έχει σκοπό την ποσοτικοποίηση της πιθανότητας και του δυναμικού αύξησης, μέσω της χρήσης μοντέλων πρόρρησης, επιλεγμένων παθογόνων (*Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* και *Clostridium sporogenes*) και αλλοιογόνων (ψευδομονάδες,

οξυγαλακτικά βακτήρια, *Brochothrix thermosphacta*) μικροοργανισμών υπό διαφορετικά σενάρια θερμοκρασιακής έκθεσης, προσομοιάζοντας πιθανές εμπορικές πρακτικές έψησης γύρου. Γι' αυτόν τον λόγο απαραίτητη κρίθηκε η αποτύπωση των πιθανών χρονοθερμοκρασιακών συνθηκών που αντιπροσωπεύουν τις πρακτικές έψησης και εν συνεχεία η προσομοίωση της συμπεριφοράς των εν δυνάμει επιμολύνσεων υπό αυτά τα σενάρια με εργαστηριακά πειράματα ηθελημένου εμβολιασμού.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης επιβεβαιώνουν τον καθοριστικό ρόλο της αλλοιογόνου μικροχλωρίδας, η οποία καταμετρήθηκε σε υψηλούς πληθυσμούς αλλά και την παρουσία παθογόνων, όπως η σαλμονέλα, καθιστώντας αναγκαία την περαιτέρω μελέτη του δυναμικού αύξησης παθογόνων έναντι αλλοιογόνων μικροοργανισμών στο νωπό γύρο έναντι του κατεψυγμένου. Η μελέτη του δυναμικού αύξησης των παθογόνων και των αλλοιογόνων μικροοργανισμών επιβεβαιώνει ότι η υψηλή αρχική ενδογενής χλωρίδα του γύρου παρεμποδίζει την αύξηση των παθογόνων και ωθεί την αλλοίωση του προϊόντος να προηγείται της αύξησης αυτών. Κατά την διάρκεια καταγραφής των θερμοκρασιών κατά την έψηση νωπού και κατεψυγμένου γύρου επιβεβαιώνεται ότι ελλιπής ασφάλεια του προϊόντος έγκειται στα εσωτερικά «ψυχρότερα σημεία» διότι καταγράφονται θερμοκρασίες που επιτρέπουν την αύξηση. Στις περιπτώσεις του νωπού γύρου καταγράφηκε η μεγαλύτερης διάρκειας έκθεση στις θερμοκρασίες αυτές συγκριτικά με τις περιπτώσεις του κατεψυγμένου γύρου, όπου η αρχική χαμηλή θερμοκρασία του κρέατος παρεμποδίζει την μετάδοση της θερμότητας στο εσωτερικό μειώνοντας ή/ και ελαχιστοποιώντας την διάρκεια παραμονής του «ψυχρότερου σημείου» του γύρου στην επικίνδυνη θερμοκρασιακή ζώνη ανάπτυξης (5 – 60°C).

Επιπλέον, συγκρίνοντας τα υπάρχοντα μοντέλα πρόρρησης της συμπεριφοράς των παθογόνων της βιβλιογραφίας, κρίθηκε ότι η εφαρμογή τους στην παρούσα μελέτη δεν είναι ικανοποιητική, δεδομένου ότι δεν λαμβάνεται υπόψιν η εν δυνάμει παρεμποδιστική δράση της ενδογενούς μικροχλωρίδας. Επομένως, λόγω των ιδιαιτεροτήτων του προϊόντος κατέστη απαραίτητη η ανάπτυξη εξειδικευμένων μαθηματικών μοντέλων για την πρόβλεψη της ασφάλειας ή/και της αλλοίωσης του νωπού έναντι του κατεψυγμένου χοιρινού γύρου εν συναρτήσει της θερμοκρασίας μεταχείρισής και έψησης.

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα της επικύρωσης του μοντέλου αποκλείουν σε μεγάλο ποσοστό την πιθανότητα αύξησης των παθογόνων, λόγω του περιορισμένου χρόνου παραμονής στις υπό μελέτη θερμοκρασίες, της παρεμποδιστικής

δράσης της ανταγωνιστικής μικροχλωρίδας και της χαμηλής ενεργότητας ύδατος. Ωστόσο, υποδεικνύουν μεγάλη πιθανότητα επιβίωσης των παθογόνων, σε μια πιθανή διασταυρούμενη επιμόλυνση του ψημένου γύρου.

Επιστημονική Περιοχή: Διατροφή Ανθρώπου

Λέξεις κλειδιά: μικροβιολογική ασφάλεια, νωπός χοιρινός γύρος, μοντέλα πρόρρησης, παθογόνοι μικροοργανισμοί, ενδογενής μικροχλωρίδα, θερμοκρασία έψησης

Assessment of the microbiological safety of raw gyros under cooking conditions

Department of Food Science and Human Nutrition

Department of Food Quality Control and Hygiene

B. ABSTRACT

“Gyros” is globally known as a Greek traditional food which is mainly composed of pork and chicken meat seasoned with spices, salt and other adds. The meat is ground molded in a frustrum cone-like shaped mass and impaled on a vertical spit which is rotated in an open oven allowing heating elements to cook the surface. When the surface of meat has been grilled, it is cut into thin slices and then the deeper surface of meat is exposed to the cook surface, respectively.

Due to the distinctive shape and method of cooking, it is created a temperature gradient from the center to the circumferential parts of the meat that may allow bacteria to growth as they remain for long time at temperatures favorable for growth of pathogens (5-60°C) near to the center. This area in the refrigerated gyros is remaining for longer time in this temperature conditions in contrast with the frozen one, because of the difference in the transmission rate of the heat. Further potential problems in microbiological safety of gyros might arise from the fact that at many times abusive practices have been observed, like the frequently insert in pause or stop after the rush hours, or, the reheating in microwave ovens and steam chambers even then the storage in refrigerated conditions and reheating at next day.

After taking under consideration the previous specifications of refrigerated gyros, it is allowed to be examined from the microbiological aspect. In this way, the purpose of this study is the quantification of the probability and the growth potential of certain pathogens (*Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* και *Clostridium sporogenes* *Pseudomonas* spp., Lactic Acid Bacteria, *Brochothrix thermosphacta*), using the tools of predicting modeling under the different temperature conditions, and simulating probable commercial methods of cooking. For this purpose, it is required the setting of the probable real time-temperature conditions of the cooking and then the modeling of the bacterial growth in these conditions with conducting laboratory experiments of indented vaccination.

To conclude, the results of this study verify the pivotal role of the intrinsic microflora, which was counted in highly populations and the role of the pathogenic bacteria (ex. *Salmonella spp.*). Therefore, it is essential to study further the potential of the growth of the pathogens against of the intrinsic microflora at the refrigerated “gyros” and at the frozen one. The results indicate the highly population of the intrinsic microflora prevent the growth of the pathogens and that elbow in the appearance of the spoilage prior to the growth of the pathogens. The monitoring of the temperature throughout the cooking , in the refrigerated and at the frozen “gyros”, induce that the deficiency of the microbiological safety lie in the coldest point of the gyros because of their remaining for long time at temperatures favorable for growth of pathogens (5-60°C). At the refrigerated “gyros, time period is bigger than the frozen one because of the bigger resistance of the refrigerated gyros against the transmission of the heat , and as a result, the period of the remaining of the the coldest point of the frozen gyros at temperatures favorable for growth of pathogens is reduced or is minimized.

Furthermore, comparing the existent predictive models of the bibliography, it was evaluated the fact that their application in the conditions of this study is not effective because of the absence of the factor of obstructive action of the intrinsic microflora. Therefore, because of the peculiarity of this product, it is crucial to develop specialized mathematical models that predict the safety of the products and/or the microbial spoilage at the refrigerated gyros against the frozen one, including the role of the temperature at the preparation and at the cooking. The results of the validation of the predictive model, as at the the refrigerated products as at the frozen products are in accordance with the predictions of these models of all the experimental scenario of this study and they verify the assumption the microbial spoilage occur prior to microbial safety.

Finally, it is worth to infer that the results of the validation of the predicting modeling exclude the probability of the growth of the pathogens because of the limited remaining in the examined temperature and the role of the intrinsic flora. However, it is assumed that there is highly potential growth in cause of a crossed contamination of the cooked gyros.

Scientific area: Human nutrition

Key words: microbiological safety, raw pork gyros, predicting modeling, pathogens, intrinsic microflora, temperature of cooking

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ποιοτικού Ελέγχου και Υγιεινής Τροφίμων και Ποτών στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Αρχικά, θα ήθελα εκφράσω τις πιο θερμές μου ευχαριστίες προς τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ.Παναγιώτη Σκανδάμη για τις πολύτιμες συμβουλές του. Ιδιαίτερα τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη του για την ανάθεση της παρούσας μελέτης. Επίσης, ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής τον καθηγητή κ. Ελευθέριο Δροσινό και τον καθηγητή κ. Ιωάννη Γεώργιο Νυχά για το χρόνο που αφιέρωσαν στη μελέτη της παρούσας εργασίας. Τις ευχαριστίες μου απευθύνω επίσης σε όλους τους μεταδιδακτορικούς, τους υποψήφιους διδάκτορες και του συμφοιτητές μου που πραγματοποίησαν την ίδια χρονική περίοδο την πτυχιακή τους μελέτη στο χώρο του εργαστηρίου.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω το μεγαλύτερο ευχαριστώ στην οικογένειά μου, τον σύντροφό μου, τους φίλους μου και ιδιαίτερα στους γονείς μου Εμμανουήλ Κολοστούμπη και Γεωργία Κοσυφάκη για την αδιάκοπη προσπάθειά τους και την στήριξή τους ώστε να κάνω τα όνειρά μου πραγματικότητα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
B. ABSTRACT.....	6
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
1.1. Γύρος	11
1.1.1. Ιστορία και Παράδοση.....	11
1.1.2. Η παραγωγή και η κατανάλωση του γύρου	14
1.1.3. Ορισμοί.....	16
1.1.4. Νομοθεσία – Προδιαγραφές - Ειδικές απαιτήσεις	17
1.1.5. Κατηγορίες γύρων	24
1.1.6 . Διατροφική αξία γύρου και χοιρινού κρέατος.....	25
1.1.7. Τεχνολογία και Στάδια Παραγωγής Γύρου.....	36
1.2. Επισκόπηση της μικροβιακής ασφάλειας του νωπού Γύρου	40
1.2.1. Πηγές μόλυνσης	40
1.2.2. Μικροβιολογία νωπού γύρου	41
1.2.3. Παράγοντες ανάπτυξης μικροοργανισμών	46
1.3. Ποσοτική Μικροβιολογία – Μοντέλα Πρόρρησης	52
1.3.1. Εισαγωγή και Παρουσίαση Μοντέλων Πρόρρησης	52
1.3.2. Κατηγορείς Μοντέλων Πρόβλεψης.....	54
1.4. Σκοπός Μελέτης.....	65
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	66
2.1. Πειραματικός Σχεδιασμός	66
2.2. Μεθοδολογία.....	69
2.2.1. Καταγραφή χρονο-θερμοκρασιακών δεδομένων κατά την έψηση χοιρινού νωπού έναντι κατεψυγμένου γύρου.....	69
2.2.2. Τα στελέχη των μικροοργανισμών	70
2.2.3. Προετοιμασία εμβολίου	71
2.2.4. Προετοιμασία δειγμάτων χοιρινού γύρου.....	72
2.2.5. Εμβολιασμός δειγμάτων χοιρινού γύρου	72
2.2.6. Μικροβιολογική ανάλυση.....	73
2.2.7. Μοντελοποίηση αποτελεσμάτων.....	75
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	78
3.1. Αποτελέσματα καταγραφής των θερμοκρασιών σε συνάρτηση με το χρόνο κατά την έψηση νωπού χοιρινού γύρου έναντι κατεψυγμένου	78

3.2 Αποτελέσματα μελέτης του δυναμικού αύξησης των παθογόνων κατά την παραμονή του γύρου σε θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης ζώνης 5-60°C.....	82
3.2.1. Προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων της ενδογενούς μικροχλωρίδας.....	88
3.2. Αποτελέσματα προσομοίωσης της αύξησης των εξεταζόμενων παθογόνων μικροοργανισμών έναντι αλλοιογόνων μικροοργανισμών κατά την έψηση νωπού και κατεψυγμένου χοιρινού γύρου σε διαφορετικά θερμοκρασιακά προφίλ με την χρήση μαθηματικών μοντέλων	90
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	98
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	99
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ	108

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Γύρος

1.1.1. Ιστορία και Παράδοση

Ο γύρος αναγνωρίζεται διεθνώς ως ελληνικό πιάτο, αποτελούμενο κυρίως από μαριναρισμένο χοιρινό κρέας ή κοτόπουλο το οποίο συνήθως σερβίρετε σε πιάτο ή σε ψωμί ή πίτα συνοδευόμενο με σαλάτα και/ή αλοιφή γνωστό ως σουβλάκι (Bryan *et al.*, 1980; Kayisoglu *et al.*, 2003). Η ιστορία του γύρου ξεκινά από την πόλη της Προύσας στην Ιωνία της Μικράς Ασίας, η οποία αποτελούσε πόλη με πλούσια γαστρονομία (Kenneth, 2000; Clifford, 1999). Ύστερα, με το προσφυγικό κύμα των Ελλήνων κατά την Μικρασιατική Καταστροφή το 1922 οι συνταγές αυτές ταξίδεψαν στην Ελλάδα με αποτέλεσμα την ένταξη του γύρου στην ελληνική και την διεθνή κουζίνα (Molotsky, 1978).

Ο Γύρος αποτελεί μετεξέλιξη ενός διάσημου εδέσματος που καλείται «σουβλάκι», το οποίο αποτελείται και αυτό από κομμάτια κρέατος περασμένα σε σούβλα και ψημένα σε εστία φωτιάς. Την ονομασία του την πήρε από την ελληνική “γύρα”. Πρόκειται για την περιστροφή που πραγματοποιεί το κρέας τοποθετημένο σε κάθετη σούβλα που περιστρέφεται γύρω από θερμαινόμενες αντιστάσεις, ώστε να ψηθεί γύρω από τον άξονά της, με τη φωτιά στη μια πλευρά. Αναφέρεται, δηλαδή, στον ειδικό τρόπο με τον οποίο ψήνεται το κρέας και δεν αφορά μια γεωγραφική περιοχή. Έτσι, η ονομασία χαρακτηρίζει τόσο το ωμό προϊόν κρέατος, με το κωνοειδές σχήμα, όσο και το ψημένο προϊόν κρέατος. Διεθνώς, χρησιμοποιούνται ποικίλες ονομασίες για τον γύρο, καθώς στην Τουρκία τον αποκαλούν ντόνερ κεμπάπ (Döner Kebab ή Donair ή Doner) που προέρχεται από την λέξη “dürüm” που σημαίνει γυρίζω, και οι Άραβες Σαουάρμα (shawurma) (Clifford, 1999; Ayto, 2000; Bryan *et al.*, 1980; Kayisoglou *et al.*, 2003). Το Σαουάρμα είναι παρόμοιο προϊόν με το γύρο, ωστόσο στο κρέας προστίθενται περισσότερα καρυκεύματα και συνοδεύεται με σώς από ταχίνι (Davidson, 2006). Επίσης, η ονομασία «Γύρος» μπορεί να σχετίζεται πιθανώς με την ιταλοαμερικάνικο προϊόν αποκαλούμενο “Hero” (Mariani, 1999). Ωστόσο, οι περισσότεροι υποστηρίζουν ότι ο γύρος αποτελεί μία παραλλαγή του τούρκικου Döner Kebab (Todd *et al.*, 1986; Stolle *et al.*, 1993; Kayisoglu *et al.*, 2003; Vazgecer *et al.*, 2003). Τα προϊόντα αυτά παρουσιάζουν παρόμοια τεχνολογία παρασκευής και μέθοδο έψησης, ωστόσο εμφανίζουν διαφορές σχετιζόμενες με το είδος και το βαθμό τεμαχισμού του κρέατος που χρησιμοποιείται (Πεξαρά, 2005). Για την παρασκευή του τούρκικου ντόνερ χρησιμοποιείται κυρίως μοσχαρίσιο και αρνίσιο κρέας ενώ για τον ελληνικό γύρο χοιρινό και κρέας από κοτόπουλο. Ωστόσο, η οδοποιός διαφορά μεταξύ των δύο

αυτών προϊόντων εντοπίζεται στον τρόπο παρασκευής, όπου ο ελληνικός γύρος αποτελείται από ατόφια κομμάτια κρέατος (Εικόνα 1.1 - δεξιά) σε αντίθεση με το τούρκικο ντόνερ όπου αποτελείται από κομμάτια κιμά (Εικόνα 1.1 - αριστερά).



Εικόνα 1.1 Η διαφορά στην εξωτερική όψη του τούρκικου ντόνερ (αριστερά) και του ελληνικού γύρου (δεξιά) ως αποτέλεσμα του διαφορετικού τρόπου παρασκευής.

Η κατανάλωση του γύρου είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τον ελληνικό γαστρονομικό πολιτισμό. Ο γύρος μάλιστα έχει χαρακτηριστεί ως το πιο ευρέως γνωστό ελληνικό τρόφιμο και ένα παγκοσμίως διάσημο φαγητό δρόμου (Kremezi *et al.*, 2010; Kochillas, 2004)

Τα στοιχεία που προσδίδουν στο γύρο τον παραδοσιακό χαρακτήρα είναι:

- Ο τρόπος παρασκευής και το τελικό διαμορφωμένο σχήμα του

Για την παρασκευή του γύρου οι φέτες του κρέατος αναμιγνύονται με τα καρυκεύματα το αλάτι και τα υπόλοιπα πρόσθετα και βοηθητικές ύλες τα οποία ορίζονται από τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 1333/2008 και μετά από την καρύκευση, τοποθετούνται κάθετα σε σούβλα με σχήμα ανεστραμμένου κώλου το οποίο αποτελεί και το τελικό του σχήμα.

- Ο τρόπος ψήσιματος

Ο γύρος ψήνεται πάντα περιστρεφόμενος σε ανοιχτή εστία θέρμανσης (κάρβουνα, ηλεκτρικό γκριλ ή αερίου) που βρίσκεται δίπλα και όχι κάτω από το προϊόν. Στον καταναλωτή διατίθενται πάντα τα επιφανειακά στρώματα, τα οποία κόβονται σε λεπτές λωρίδες στο κατάλληλο στάδιο έψησης και αποκτήσουν το επιθυμητό χρώμα. (Bryan *et al.*, 1980; Todd *et al* 1986; Stolle *et al.* 1993). Ο τρόπος ψήσιματος κομματιών κρέατος περασμένων σε σιδερένια βέργα, η οποία περιστρέφεται πάνω από εστία φωτιάς είναι από τους αρχαιότερους τρόπους μαγειρέματος του κρέατος και απαντάται ήδη από τα προϊστορικά χρόνια. Η αρχαιολογική έρευνα έχει μελετήσει διάφορα φορητά πήλινα σκεύη (ψησταριές) για το ψήσιμο στα κάρβουνα. Τα αρχαιότερα τοποθετούνται χρονικά στη Μυκηναϊκή εποχή. Το ψήσιμο κομματιών κρέατος με την χρήση σουβλας αναφέρονται και στα έπη του Ομήρου Ιλιάδα, στις κωμωδίες του Αριστοφάνη Αχαρνείς και στις Όρνιθες.

- Τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Η μέθοδος παραγωγής καθώς και η πρώτη ύλη και τα επιπρόσθετα συστατικά προσδίδουν στο γύρο ιδιαίτερη γεύση και οσμή.

Για να εξασφαλιστεί και νομοθετικά ο παραδοσιακός χαρακτήρας του γύρου, το 2019 τέθηκε σε διαβούλευση ο φάκελος για την αναγνώριση του «Γύρου» ως το πρώτο Εγγυημένο Παραδοσιακό Ιδιότυπο Προϊόν (ΕΠΙΠ). Αν εγκριθεί, ο γύρος θα είναι το πρώτο προϊόν ΕΠΙΠ της Ελλάδος στον επίσημο κατάλογο των ΠΟΠ-ΠΓΕ-ΕΠΙΠ της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Ταυτόχρονα προσπάθειες πραγματοποιούνται ώστε ο γύρος να αναγνωριστεί ως προϊόν ΠΓΕ. Σύμφωνα με το άρθρο 18 του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 1151/2012 ως εγγυημένο παραδοσιακό ιδιότυπο προϊόν νοείται ένα ιδιότυπο προϊόν ή τρόφιμο το οποίο:

- a) παρασκευάζεται με τρόπο παραγωγής, μεταποίησης ή σύνθεσης που αντιστοιχεί στην παραδοσιακή πρακτική για το εν λόγω προϊόν ή τρόφιμο ή
- b) παράγεται από πρώτες ύλες ή συστατικά που είναι τα χρησιμοποιούμενα παραδοσιακά.

Για να μπορεί να καταχωρισθεί μια ονομασία ως ονομασία εγγυημένου παραδοσιακού ιδιότυπου προϊόντος, πρέπει:

- a) να χρησιμοποιείται κατά παράδοση για την περιγραφή του ιδιότυπου προϊόντος ή
- b) να προσδιορίζει τον παραδοσιακό χαρακτήρα ή τον ιδιότυπο χαρακτήρα του προϊόντος.

Το εγγυημένο παραδοσιακό ιδιότυπο προϊόν είναι σύμφωνο με προδιαγραφές που περιλαμβάνουν:

1. την προτεινόμενη για καταχώριση ονομασία
2. περιγραφή του προϊόντος, συμπεριλαμβανομένων των κύριων φυσικών, χημικών, μικροβιολογικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του, από την οποία προκύπτει ο ιδιότυπος χαρακτήρας του προϊόντος
3. περιγραφή της μεθόδου παραγωγής την οποία πρέπει να ακολουθούν οι παραγωγοί, συμπεριλαμβανομένων, κατά περίπτωση, του είδους και των χαρακτηριστικών των χρησιμοποιούμενων πρώτων υλών ή συστατικών, και της μεθόδου με την οποία παρασκευάζεται το προϊόν και
4. τα κύρια στοιχεία που αποδεικνύουν τον παραδοσιακό χαρακτήρα του προϊόντος.

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 664/2014 το ενωσιακό σύμβολο για «Εγγυημένο Παραδοσιακό Ιδιότυπο Προϊόν» έχει οριστεί αυτό που απεικονίζεται στην εικόνα 1.3.



Εικόνα 1.2 Σύμβολο της Ε.Ε για «Εγγυημένο Παραδοσιακό Ιδιότυπο Προϊόν»

1.1.2. Η παραγωγή και η κατανάλωση του γύρου

Η αγορά του γύρου στην χώρα μας είναι πολύ μεγάλη. Ωστόσο, μόνο κατά προσέγγιση υπολογίζεται ο ακριβής αριθμός της εγχώριας παραγωγής και της κατανάλωσης εξαιτίας της έλλειψης ακριβών στοιχείων για τις ποσότητες του γύρου που καταλήγουν στην εστίαση και τα 16.500 ψητοπωλεία της χώρας. Η έλλειψη γνώσης αυτών των στοιχείων οφείλεται κυρίως στον καταμερισμό της προμηθευτικής αγοράς κρέατος και κρεατοσκευασμάτων, καθώς μια επιχείρηση μπορεί να προμηθευτεί τα προϊόντα της από

κρεοπωλεία, βιοτεχνίες μεταποίησης, βιομηχανικές μονάδες παραγωγής καθώς και υπεραγορές χονδρικής πώλησης τροφίμων. Σύμφωνα με το Σύνδεσμο Ελληνικών Βιομηχανιών Επεξεργασίας Κρέατος (ΣΕΒΕΚ), το σύνολο του ετήσιου τζίρου που αντιστοιχεί στα προϊόντα κρέατος που προορίζονται για το ψητοπωλείο αγγίζει τα 700 εκατομμύρια ευρώ. Από αυτά, το 60% πηγαίνει στην βιομηχανία, ο τζίρος της οποίας φθάνει τα 500 εκατομμύρια ευρώ. Από το σύνολο των 700εκ. τα 600 εκ. προέρχονται από το γύρο, ενώ τα υπόλοιπα από άλλα είδη κρεατοσκευασμάτων και πιο συγκεκριμένα τα 400εκ. από τον χοιρινό γύρο. Οι ποσότητες πανσέτας που αγοράζονται στην Ελλάδα για την παραγωγή γύρου ανέρχεται στους 100.000 τόνους ετησίως. Η επικράτηση του χοιρινού κρέατος ως κύρια πρώτη ύλη για την παρασκευή του γύρου οφείλεται στις διατροφικές προτιμήσεις του Έλληνα καταναλωτή αλλά κυρίως στο μικρότερο κόστος και την ευκολία έψησης του χοιρινού κρέατος έναντι του μοσχαρίσιου ή του αρνίσιου. Έτσι, εκτός από τις επιχειρήσεις που έχουν επικεντρωθεί στο καλαμάκι, το 80% του ετήσιου τζίρου των ψητοπωλείων της χώρα μας προέρχεται από την πώληση του γύρου. Η ετήσια παραγωγή του γύρου στην Ελλάδα υπολογίζεται στους 110.000 τόνους, εκ των οποίων σχεδόν το 80% προέρχεται από τις δέκα μεγάλες βιομηχανίες του κλάδου και το υπόλοιπο 20% από τις ογδόντα μικρότερες εταιρίες. Στο σύνολο υπάρχουν 40 εταιρίες που παράγουν γύρο σε πανελλαδικό επίπεδο, ωστόσο, το μεγαλύτερο ποσοστό των βιομηχανικών πωλήσεων κατέχεται από τις 7 πρώτες.

Σημαντικό είναι και το κομμάτι των εξαγωγών, στις οποίες όμως δραστηριοποιούνται μόλις οι πέντε μεγαλύτερες βιομηχανίες εξάγοντας το προϊόν σε όλες τις ευρωπαϊκές χώρες και σε κάποιες Τρίτες Χώρες, όπου όμως αυτό επιτρέπεται. Οι εξαγωγές γύρου και κρεατοσκευασμάτων από την χώρα μας κυμαίνεται μεταξύ 3,5 και 4,5 χιλιάδων τόνων ετησίως. Επισημαίνεται ότι το μεγαλύτερο μέρος της ελληνικής παραγωγής απορροφούν οι αγορές της Γερμανίας και της Μεγάλης Βρετανίας, ενώ μέσω θυγατρικών εταιριών σε άλλες χώρες ο ελληνικός γύρος εξάγεται μέχρι και στα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα. Έχουν επικρατήσει δύο είδη εξαγωγών: α) αυτές που απευθύνονται σε Έλληνες εμπόρους μέσω των οποίων διοχετεύονται τα προϊόντα σε ψητοπωλείο παλαιάς γενεάς β) και εκείνες που αφορούν επιχειρηματίες νέας γενεάς όπου επενδύουν σε αλυσίδες καταστημάτων στο εξωτερικό. Η στροφή προς τις αγορές που εξωτερικού οφείλεται και στην οικονομική κρίση η οποία ώθησε την δραστηριοποίηση των επιχειρήσεων εκτός συνόρων, επενδύοντας στο greek ethnic food.

Σχετικά με την κατανάλωση στους χώρους εστίασης της χώρας μας (ψητοπωλεία), υπολογίζεται στους 450-490 τόνους ημερησίως, ενώ μαζί με τα σουβλάκια και άλλα είδη κρέατος η κατανάλωση κρεατοπαρασκευασμάτων αγγίζει τους 700 τόνους ημερησίως. Όπως αναφέρουν στον Ελεύθερο Τύπο της Κυριακής στελέχη του κλάδου, η οικονομική κρίση βοήθησε στην ανάπτυξη του γύρου καταγράφοντας αύξηση τουλάχιστον 30% λόγω της προτίμησης των καταναλωτών σε γύρο έναντι άλλων ακριβότερων τροφίμων. (Τούνα, 2015)

1.1.3. Ορισμοί

1.1.3.1. Κρέας

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 853/2004 «κρέας» ορίζεται ως «τα εδώδιμα μέρη των ζώων συμπεριλαμβανομένου του αίματος», Στον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, ενώ «νωπό κρέας» ορίζεται «τα τμήματα των σφαγίων των θερμόαιμων ζώων και πτηνών που είναι κατάλληλα για τη διατροφή του ανθρώπου, σύμφωνα με τις εκάστοτε ισχύουσες διατάξεις, και τα οποία διατίθενται στην κατανάλωση όπως είναι χωρίς καμία επεξεργασία, εκτός από τον τεμαχισμό και την ψύξη».

1.1.3.2 Παρασκευάσματα από τεμάχια κρέατος

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 853/2004 «Παρασκευάσματα κρέατος» ορίζεται ως «το νωπό κρέας, συμπεριλαμβανομένου του κρέατος που έχει μετατραπεί σε τεμάχια, στο οποίο έχουν προστεθεί τρόφιμα, καρυκεύματα ή πρόσθετα ή το οποίο έχει υποβληθεί σε μεταποίηση που δεν μεταβάλλει την εσωτερική δομή των μυϊκών ινών του κρέατος και, κατά συνέπεια, δεν εξαφανίζει τα χαρακτηριστικά του νωπού κρέατος». Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με το άρθρο 91 του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών στην ομάδα «Παρασκευάσματα από τεμάχια κρέατος» περιλαμβάνονται προϊόντα που παράγονται από τεμάχια κρέατος σε αυτοτελή κατάσταση (σνίτσελ) ή τοποθετημένα με ειδικό για το είδος του προϊόντος τρόπο (γύρος, σουβλάκι). Το κρέας αυτό μπορεί και επιτρέπεται να υποβάλλεται σε καρύκευση. Στα προϊόντα αυτά μπορούν να προστεθούν και άλλα εδώδιμα προϊόντα (πχ μπιριζολάκια με μίγμα μπαχαρικών, ρολό κρέατος με λαχανικά, κλπ) με εξαίρεση προϊόντα για τα οποία προβλέπονται ειδικές διατάξεις (γύρος, σουβλάκι). Ωστόσο, εάν μετά την επεξεργασία τα χαρακτηριστικά του νωπού κρέατος έχουν εξαφανιστεί εντελώς, δεν θα πρέπει πλέον να θεωρείται παρασκεύασμα κρέατος, αλλά θα πρέπει να εμπίπτει στον ορισμό των «προϊόντων με βάση το κρέας» όπως ορίζονται στον ευρωπαϊκό κανονισμό 853/2004.

1.1.3.3. Γύρος

Ο γύρος αποτελεί παραδοσιακό προϊόν της χώρας μας και έχει συμπεριληφθεί στον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών στην κατηγορία «Παρασκευάσματα από τεμάχια κρέατος», κυρίως από χοιρινό ή κοτόπουλο, όπου καθορίζονται ακριβώς ο αυθεντικός τρόπος και διαδικασία παρασκευή του, οι οποίες θα περιγραφούν λεπτομερώς σε επόμενη ενότητα. Για πρώτη φορά η χρήση του γύρου σε επίσημο κρατικό νομοθέτημα πραγματοποιείται στη δεκαετία του 1970 με την Αγορανομική διάταξη αριθ. 72/77 «Περί κωδικοποίησης Αγορανομικών Διατάξεων». Ως «Γύρος» εννοείται είτε το προϊόν που αποτελείται από ωμές φέτες κρέας που μπορεί να είναι είτε χοιρινό, είτε από κοτόπουλο, είτε βόειο, είτε πρόβειο, κωνοειδούς σχήματος, είτε τα κομμάτια κρέας που έχουν προέλθει από την έψηση και τον τεμαχισμό του ωμού προϊόντος κωνοειδούς σχήματος. Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών ο γύρος παράγεται από λεπτές φέτες κρέατος ολόκληρων τεμαχίων.

Σύμφωνα με το άρθρο 289 της αγορανομικής διάταξης 14/89 που σχετίζεται με τις ειδικές ρυθμίσεις για τα τρόφιμα και τα ποτά αναφέρεται η απαγόρευση παρασκευής γύρου από κιμά, γεγονός που το διαχωρίζει από τα υπόλοιπα προϊόντα που κυκλοφορούν στο εμπόριο ως γύρος, όπως το τούρκικο ντόνερ. Τα υπόλοιπα προϊόντα αυτά έχουν παρόμοια τεχνολογία παρασκευής και κοινό τρόπο ψησίματος, αλλά παρουσιάζουν μεταξύ τους διαφορές, κυρίως στο είδος και το βαθμό τεμαχισμού του κρέατος που χρησιμοποιείται. Ο ελληνικός γύρος παρασκευάζεται παραδοσιακά από χοιρινό κρέας κομμένο σε φέτες πάχους 2-2,5 cm (Stolle *et al.*, 1993).

1.1.4. Νομοθεσία – Προδιαγραφές - Ειδικές απαιτήσεις

Η βιομηχανοποίηση του γύρου και των υπόλοιπων κρεατοσκευασμάτων συνέβαλε σημαντικά στην διασφάλιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του γύρου. Με την διάδοση του greek ethnic food που καθιστά το ελληνικό σουβλάκι διεθνής τάση δημιουργήθηκε η ανάγκη καταχώρησης αυτών των ποιοτικών χαρακτηριστικών στην ελληνική νομοθεσία. Έτσι, πραγματοποιήθηκε τροποποίηση του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών στον οποίο συμπεριλαμβάνονται οι ειδικές προδιαγραφές του γύρου. Πιο συγκεκριμένα, στις ειδικές αυτές προδιαγραφές περιλαμβάνονται τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά καθώς και τα επιτρεπόμενα πρόσθετα τροφίμων τα οποία είναι αυτά που του προσδίδουν και τον ιδιότυπο χαρακτήρα του προϊόντος μαζί με τον τρόπο έψησης όπως προαναφέρθηκε. Επιπλέον, με την εφαρμογή αυτής της νομοθεσίας κατοχυρώνεται η ονομασία «γύρος», με αποτέλεσμα να μην επιτρέπονται οι εισαγωγές τέτοιων προϊόντων με την ονομασία «γύρος»

αλλά με διαφορετική ονομασία. Επίσης, για πρώτη φορά ο «γύρος» περιλαμβάνεται στην ευρωπαϊκή νομοθεσία με τον Κανονισμό 1333/2008. Στον συγκεκριμένο κανονισμό αναφέρεται στην κατηγορία κρεατοσκευάσματα και στον οποίο καθορίζονται με ακρίβεια το είδος των προσθέτων και το ανώτερο επιτρεπόμενο ποσοστό (%) του καθενός από αυτά στην σύσταση των προϊόντων αυτών.

1.1.4.1. Φυσικά Χαρακτηριστικά

Στα φυσικά χαρακτηριστικά του νωπού γύρου ανήκουν το σχήμα, το βάρος, η διάμετρος και το πάχος της φέτας κρέατος από τις οποίες αποτελείται. Ειδικότερα, το βάρος ενός γύρου ποικίλει από 4,5–45 kg, συνηθέστερα όμως βάρη είναι μεταξύ 9 και 14 kg (Bryan *et al.*, 1980). Επίσης, σύμφωνα με άλλες πηγές το βάρος ενός Doner είναι συνήθως 6-14 kg, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να φτάσει μέχρι 40 kg (Krüger *et al.*, 1993; Stolle *et al.*, 1993; Todd *et al.*, 1986). Ωστόσο, σύμφωνα με μια πρόσφατη έρευνα αγοράς διατίθενται στην αγορά γύρος 7-120 κιλά σε χονδρική πώληση. Όσον αφορά την διάμετρο του ωμού γύρου αυτή εξαρτάται από το μέγεθος του και κυμαίνεται συνήθως από 17 έως 60 cm και το υψος από 30 έως 80 cm, ενώ το πάχος της φέτας κυμαίνεται από 2 έως 6 cm (Πεξαρά,2005).

1.1.4.2. Χημικά Χαρακτηριστικά

1.1.4.2.1. Βασικά χημικά χαρακτηριστικά

Στον Πίνακα 1.1 παρουσιάζονται τα βασικά χημικά συστατικά του νωπού γύρου. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει μια συγκεκριμένη τιμή αλλά όρια τιμών για κάθε κατηγορία χημικού συστατικού καθώς αυτά εξαρτώνται από είδος του κρέατος (χοιρινό, κοτόπουλο, βόειο, πρόβειο) και το είδος της μαρινάδας που χρησιμοποιούνται. Έχουν παρατηρηθεί μη συμμορφώσεις ως τις παρακάτω προδιαγραφές, κυρίως όσον αφορά την περιεκτικότητα σε λίπος(Bartholoma *et al.*,1997)

Πίνακας 1.1. Βασικά χημικά συστατικά νωπού γύρου και τα επιτρεπόμενα όρια.

Περιεκτικότητα σε:	Επιτρεπόμενα όρια	Συνήθης όρια
Λιπαρές Ύλες	<30%	15-20%
Άλας	1%-1,4%	1,2%
Πρωτεΐνες	14% (v/v)	15-17%

Νερό*	25%*	10-12%
NaCl*	1-1,6%*	
Ph	>4,0	6,0-7,0

*Εκφράζεται ως ποσοστό της ολικής μάζας

Πηγή: Προδιαγραφές γύρου ΕΠΠ, Κώδικας Τροφίμων και Ποτών

1.1.4.2.2. Επιπρόσθετα χημικά συστατικά

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, τα μέγιστα όρια για συγκεκριμένα επιτρεπόμενα βασικά βοηθητικά συστατικά του νωπού γύρου παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.2. Επιπλέον πρόσθετα πέραν των συμπεριλαμβανομένων του πίνακα καθορίζονται από τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 1333/2008 σύμφωνα με την τελευταία τροποποίηση με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 601/2014.

Πίνακας 1.2. Επιτρεπόμενα βασικά βοηθητικά συστατικά του νωπού γύρου

Επιτρεπόμενα βοηθητικά συστατικά γύρου	Μέγιστα όρια
Άμυλο	<2%
Πρωτεΐνες	<2%
Φυτικές ίνες	<1%
Σάκχαρα	<1%

Πηγή: Κώδικας Τροφίμων και Ποτών

1.1.4.2.2.1. Φωσφορικά Άλατα

Η χρήση των φωσφορικών αλάτων δεν επιτρεπόταν στην παρασκευή γύρου σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 1333/2008. Ωστόσο, σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 74/2018, η χρήση των φωσφορικών αλάτων επιτρέπεται ως πρόσθετα τροφίμων μόνο στον κατεψυγμένο γύρο, για τον οποίο προσδιορίστηκε η τεχνολογική ανάγκη. Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 74/2018, η ανάγκη αυτή έγκειται στο γεγονός ότι «η χρήση φωσφορικών αλάτων, κυρίως νατρίου (E340) και καλίου (E341) απαιτείται για τη μερική

εκχύλιση και διάσπαση των πρωτεϊνών του κρέατος προκειμένου να επιτραπεί η δέσμευση μεγαλύτερης ποσότητας νερού με την βοήθεια γεφυρών υδρογόνου. Έτσι, παρατηρείται η δημιουργία ενός υμενίου πρωτεΐνης στην επιφάνεια του γύρου, ώστε να συγκρατούνται τα τεμάχια κρέατος με στόχο την εξασφάλιση της ομοιογένειας κατά την κατάψυξη και το ψήσιμο. Επιπλέον, τα φωσφορικά άλατα εξασφαλίζουν ότι το κρέας διατηρεί τους χυμούς του κατά την απόψυξη και ότι ο γύρος παραμένει σταθερός» καθώς επηρεάζουν την Ικανότητα Συγκράτησης Υγρασίας (ΙΣΥ) του κρέατος, άρα και έμμεσα την μικροβιακή ασφάλειά του. Αυτή η τεχνολογική ανάγκη έχει αναγνωριστεί για τον κατεψυγμένο γύρο που αποτελείται από πρόβειο, αρνίσιο, μοσχαρίσιο ή βόειο κρέας που έχει υποστεί επεξεργασία με καρυκεύματα σε υγρή μορφή ή από κρέας πουλερικών που έχει υποστεί επεξεργασία με ή χωρίς καρυκεύματα σε υγρή μορφή, το οποίο χρησιμοποιείται μόνο ή σε συνδυασμό, καθώς και σε τεμάχια ή αλεσμένο και σχεδιασμένο για ψήσιμο από επιχείρηση τροφίμων. Η ασφάλεια των φωσφορικών αλάτων έχει αξιολογηθεί από την Ευρωπαϊκή Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων, η οποία έχει ορίσει τη μέγιστη αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη (Acceptable Daily Intake, ADI) στα 70 mg/kg σωματικού βάρους, εκφραζόμενη σε φώσφορο (EFSA, 2013). Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 1333/2008, το ανώτατο επίπεδο δισόξινου φωσφορικού καλίου σε προϊόντα κρέατος είναι 5g/kg.

1.1.4.2.2.2. Νιτρικά και Νιτρώδη Άλατα

Τα νιτρικά άλατα είναι το νιτρικό νάτριο (E251) και το νιτρικό κάλιο (E252) ενώ τα νιτρώδη άλατα είναι το νιτρώδες νάτριο (E250) και το νιτρώδες κάλιο (E249). Πρόκειται για εγκεκριμένες ουσίες που προστίθενται ως συντηρητικά στα τρόφιμα (κυρίως τα νιτρώδη άλατα του νατρίου και του καλίου.), κυρίως σε ιχθυοπαρασκευάσματα και κατασκευάσματα, όχι μόνο για την βελτίωση και την διατήρηση των ποιοτικών και γευστικών τους χαρακτηριστικών (άρωμα, γεύση), αλλά και για την αντιμικροβιακή δράση που παρουσιάζουν έναντι αρκετών μικροοργανισμών όπως το βακτήριο της αλλαντίασης, *Clostridium botulinum*, η τοξίνη του οποίου μπορεί να οδηγήσει στην παράλυση και πολλές φορές στο θάνατο (Cassens *et al.*, 1978; Μπαλατσούρας, 2009) Ένας ακόμα λόγος για την χρήση των νιτρικών και νιτρωδών αλάτων είναι η χαρακτηριστική υφή, γεύση, χρώμα και άρωμα που προσδίδουν στα τρόφιμα αφού περιέχουν περισσότερο από το 85% του διαιτητικού νιτρικού αλάτος (Todra *et al.*, 2009). Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό 1338/2008, η ανώτατη προστιθέμενη ποσότητα νιτρωδούς καλίου και νατρίου στα προϊόντα κρέατος εκφραζόμενη ως NaNO_3 έχει οριστεί στα 150mg/g. Η αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη

(ADI) για τα νιτρικά άλατα έχει καθοριστεί στα 3,7 χιλιοστόγραμμα ανά χιλιόγραμμα σωματικού βάρους ανά ημέρα (mg/kg σωματικό βάρος /ημέρα), ενώ το ασφαλές επίπεδο για τα νιτρώδη ορίστηκε σε 0,07 mg/kg bw/ημέρα. Ωστόσο, σε ποσότητες που υπερβαίνουν τις προβλεπόμενες από την νομοθεσία είναι δυνατό να δημιουργήσει προβλήματα υγείας. Τα νιτρικά και τα νιτρώδη δεν είναι καρκινογόνα αλλά αντιδρούν με τις αμίνες που περιέχονται στα τρόφιμα (παράγωγα της αμμωνίας) με αποτέλεσμα να σχηματίζουν νιτροζαμίνες. Οι νιτροζαμίνες παράγονται όταν αμίνες (κυρίως δευτεροταγείς) που προέρχονται από τις πρωτεΐνες του κρέατος αντιδρούν με τις ρίζες των νιτρωδών. Η διαδικασία μετατροπής του νιτρώδους νατρίου σε νιτροζαμίνες ακολουθεί τρία στάδια (Διαμαντίδης, 1994):

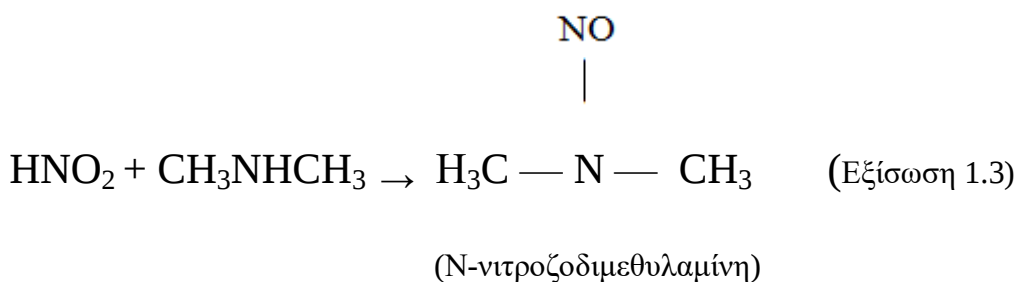
1. τη διάσπαση του νιτρώδους νατρίου στο νερό σε νιτρώδη ιόντα:



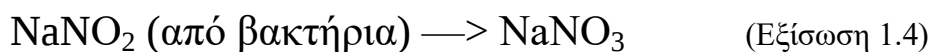
2. την αντίδραση των νιτρωδών ανιόντων με το υδροχλωρικό οξύ του στομάχου προς σχηματισμό νιτρώδους οξέος:



3. τέλος, την αντίδραση του σχηματιζόμενου νιτρώδους οξέος με αμίνες προς σχηματισμό νιτροζαμινών. Για παράδειγμα, αντιδρώντας με την διμεθυλαμίνη στο εργαστήριο σχηματίζει την N-νιτροζοδιμεθυλαμίνη:



Ωστόσο, ακόμη και η απαγόρευση της χρήσης του νιτρώδους νατρίου και των άλλων νιτρωδών αλάτων ως συντηρητικά στα τρόφιμα δεν συνεπάγεται απαραίτητα και μείωση του κινδύνου πρόκλησης προβλημάτων υγείας. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι μόνο το ένα τρίτο των νιτρωδών στον ανθρώπινο οργανισμό προέρχεται από την κατανάλωση τροφίμων ενώ η μεγαλύτερη ποσότητα νιτρωδών, δηλαδή τα υπόλοιπα δύο τρίτα αυτών, είναι αποτέλεσμα της δράσης βακτηρίων που συμβιώνουν στη στοματική κοιλότητα και στο πεπτικό σύστημα (Μπόσκου, 2004), καθώς διαθέτουν την ικανότητα μετατροπής του νιτρικού νατρίου και άλλων νιτρικών αλάτων σε νιτρώδη, όπως παρουσιάζεται στην παρακάτω εξίσωση (Διαμαντίδης., 1994):



Για την αντιμετώπιση του κινδύνου των νιτρωδών ενδείκνυται η χρήση τους σε συνδυασμό με ασκορβικό ασβέστιο το οποίο αυξάνει την δραστικότητα των νιτρωδών, και επομένως απαιτούνται μικρότερες ποσότητες αυτών, ενώ ταυτόχρονα ελαττώνει την πιθανότητα σχηματισμού των νιτροζαμινών (Αρβανιτογιάννης και συν, 2001) Η επιθυμητή δράση τους συνίσταται στη δημιουργία του τυπικού ερυθρού χρώματος και του χαρακτηριστικού αρώματος αλιπάστωσης (Cassens *et al.*, 1979; Curing, 1987) παράλληλα δε βοηθούν στην καλύτερη συντήρηση του τελικού προϊόντος, επειδή έχουν αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Kanne, 1979; Perigo *et al.*, 1968) Για τη δημιουργία του ερυθρού χρώματος, τα νιτρώδη ανάγονται σε μονοξείδιο του αζώτου (NO) το οποίο ενώνεται με τη μυοσφαιρίνη του μυϊκού ιστού και σχηματίζεται η νιτροζομυοσφαιρίνη, που στη συνέχεια με τη θέρμανση μετατρέπεται στη σταθερή (με την έννοια της χαμηλής διαλυτότητας) χρωστική νιτροζομυοχριομογόνο (Ambrossiadis *et al.*, 1998). Σε προϊόντα που παράγονται από κρέας που είναι φτωχό σε μυοσφαιρίνη θα απαιτηθεί προφανώς μικρότερη ποσότητα νιτρωδών για τη δημιουργία του χρώματος. Τέτοια είναι και αυτά που παράγονται από στήθος κοτόπουλου, η περιεκτικότητα του οποίου σε μυοσφαιρίνη είναι κατά πολύ μικρότερη από εκείνη των ερυθρών κρεάτων και κυμαίνεται από 20-180mg/100g κρέατος (Ocherman, 1975). Επομένως, στα προϊόντα αυτά, η ποσότητα νιτρωδών που προστίθεται θα πρέπει να μειωθεί δραστικά, ώστε να ελαττωθεί και ο κίνδυνος ύπαρξης μεγάλων ποσοτήτων "υπολειμματικών νιτρωδών" στο τελικό προϊόν. Η ανάγκη αυτή γίνεται ακόμη πιο επιτακτική εξαιτίας των καταναλωτικών προτιμήσεων. Στην αγορά διατίθενται και κρέατα "απουσία νιτρικών" τα οποία όμως

διατηρούνται με χυμό σέλινου που είναι πλούσιος σε νιτρικά (Ambrossiadis *et al.*, 1998). Γενικά, η έκθεση του κρέατος σε υψηλή θερμότητα δημιουργεί τις συνθήκες για σχηματισμό νιτροζαμινών. Κατά κύριο λόγο οι νιτροζαμίνες σχηματίζονται στη διάρκεια των υψηλών θερμοκρασιών αλλά μπορούν να σχηματιστούν και λόγω των όξινων συνθηκών του στομάχου.

1.1.4.2.2.3. Καρυκεύματα

Το μίγμα των καρυκευμάτων που χρησιμοποιείται για τον γύρο περιλαμβάνει κυρίως κρεμμύδι, ρίγανη, πιπέρι μαύρο και μπούκοβο (κόκκινη αποξηραμένη πιπεριά). Ανάλογα με τις διαφοροποιήσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί πάπρικα, μπαχάρι, κύμινο, μουστάρδα (σε σκόνη), ντομάτα και ζάχαρη. Σε πιο σπάνιες περιπτώσεις προστίθεται σκόρδο και δάφνη. Σε περιπτώσεις που απαιτείται πιο καυτερή επίγευση χρησιμοποιείται το καυτερό κόκκινο πιπέρι ή και το καυτερό μπούκοβο. Κατά γενικό κανόνα, η καρύκευση στον γύρο δεν είναι έντονη καθώς δεν χρησιμοποιείται για να καλύψει, αλλά για να αναδείξει την γεύση του κρέατος. Ανάλογα με τις απαιτήσεις του καταναλωτή μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθούν αλάτι, κρεμμύδι σε σκόνη ή χυμό κρεμμυδιών, αλεσμένες ντομάτες, χυμός ή σάλτσα ντομάτας, ελαιόλαδο, χυμός λεμονιού, ξύδι, γάλα ή γάλα σε σκόνη, γιαούρτι, αυγά και ζάχαρη. Το κύμινο χρησιμοποιείται από τους περισσότερους παρασκευαστές και είναι καθοριστικό για την γεύση. Το μίγμα των μπαχαρικών που χρησιμοποιείται συχνά αντιμετωπίζεται ως μυστικό της επιχείρησης (Πεξαρά, 2005). Η χρήση μαρινάδας που περιέχει οξέα επιφέρει μια μετουσίωση των πρωτεϊνών του και ταυτόχρονα συμβάλλει στη μερική ή ακόμη και πλήρη εξυγίανσή του. Η καρύκευση πραγματοποιείται με δύο τρόπους: α) την ξηρή καρύκευση όπου επιτρέπεται η προσθήκη καρυκευμάτων και β) η υγρή καρύκευση κατά την οποία πραγματοποιείται εμβάπτιση και ανάμιξη μίγματος υγρού (π.χ. ελαίου) με άλλα συστατικά (π.χ. ρίγανη), τέτοιας φύσεως, που δεν οδηγούν σε μετουσίωση των πρωτεϊνών του κρέατος.

1.1.4.3. Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά

1.1.4.3.1 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά Νωπού γύρου

Στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του νωπού γύρου περιλαμβάνονται τα εξής:

- Εξωτερική όψη και χρώμα

Η όψη του προϊόντος πριν την έψηση είναι κόκκινη χαρακτηριστική νωπού κρέατος με οριζόντιες εναλλαγές αποχρώσεων από το άσπρο έως το έντονο κόκκινο το οποίο εξαρτάται από την λιποπεριεκτικότητα του κρέατος. Η διαστρωμάτωση αυτή είναι χαρακτηριστική του τρόπου παρασκευής (εναπόθεση λεπτά κομμένων τμημάτων κρέατος).

- Όψη και χρώμα της τομής

Η κάθε τομή του γύρου πρέπει να διατηρεί την υφή, το χρώμα και την όψη των διαστρωματικά τοποθετημένων τμημάτων νωπού κρέατος.

- Σύσταση

Ο ωμός γύρος πρέπει να έχει πυκνή και ελαστική σύσταση.

1.1.4.3.2. Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά Ψημένου γύρου

Στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ψημένου γύρου περιλαμβάνονται:

- Εξωτερική όψη και χρώμα

Κατά το ψήσιμο ο Γύρος αποκτά το χρυσαφί-καφέ χρώμα ψητού κρέατος, μπορεί να φτάσει μέχρι τα όρια του σκούρου καφέ ανάλογα με τον βαθμό έμψησης και τον τύπο του κρέατος.

- Γεύση και οσμή

Ο ψημένος γύρος έχει χαρακτηριστική γεύση, μετρίως αλμυρή, με έντονο άρωμα λόγω των χρησιμοποιούμενων καρυκευμάτων, χωρίς ξένες οσμές και γεύσεις. Λόγω του ιδιότυπου τρόπου παρασκευής, έψησης και του σχήματός του, ο γύρος έχει κρέας τρυφερό, χυμώδες και ταυτοχρόνως τραγανό απέξω, με εξαιρετική οσμή και γεύση καθώς τα μέρη του κρέατος που βρίσκονται στην επιφάνεια τεμαχίζονται σε πολύ λεπτές φέτες όταν έχουν ψηθεί επαρκώς, με αποτέλεσμα να εκτίθενται στις θερμαινόμενες εστίες τα βαθύτερα τμήματα του κρέατος, τα οποία θα κοπούν κι αυτά με την σειρά τους.

1.1.5. Κατηγορίες γύρων

Ο γύρος διακρίνεται σε διάφορες κατηγορίες αναλόγως το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται το κρέας. Η προέλευση του κρέατος μπορεί να είναι από χοίρο, βοδινό, πρόβατο, κοτόπουλο κ.α. Ο γύρος μπορεί να παράγεται μόνο από κρέας ενός είδους ζώου (πχ. γύρος χοιρινός, γύρος κοτόπουλου κλπ.) ή από περισσότερα είδη κρεάτων τα οποία θα πρέπει να δηλώνονται στην ονομασία του προϊόντος σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, όπως τροποποιήθηκε από την Υπουργική Απόφαση 260/2013.

1.1.6 . Διατροφική αξία γύρου και χοιρινού κρέατος

1.1.6.1. Διατροφική αξία γύρου

Από τα αρχαία χρόνια, η κατανάλωση κρέατος έχει συνεισφέρει στην ανάπτυξη του γαστρεντερικού σωλήνα καθώς και στα χαρακτηριστικά του κρανίου και του σκελετού, διακρίνοντας τον άνθρωπο από τα υπόλοιπα ανθρωποειδή (Pereira *et al.*, 2013) Το κρέας αποτελεί εξαιρετική πηγή θρεπτικών ουσιών οι οποίες είναι απαραίτητες για την βέλτιστη ανάπτυξη του ανθρώπινου σώματος (Higgs, 2000), καθώς είναι εξαιρετική πηγή σιδήρου, ψευδαργύρου, σεληνίου και μερικών βιταμινών του συμπλέγματος Β κυρίως βιταμίνης Β12 (Biesalski, 2005). Το κρέας και τα προϊόντα κρέατος αποτελούν μια βασική πηγή πρόσληψης υψηλής βιολογικής αξίας πρωτεϊνών (20% w/w) και αμινοξέων σε σύγκριση με αυτές των δημητριακών (8-12%) στο καθημερινό διαιτολόγιο κυρίως των αναπτυσσόμενων χωρών, όπου η διαθεσιμότητα τροφής είναι περιορισμένη, μειώνοντας την εμφάνιση διατροφικών ελλείψεων.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας των Kayisoglou *et al.*, 2003 ο γύρος αποτελείται από 51,67%-61,28% νερό, 19,04-26,45% πρωτεΐνη, 14,03-16,23% λίπος 1,28-2,08% άλατα και 1,94-3,01% ανόργανα συστατικά. Ο γύρος που παρασκευάζεται από κρέας κοτόπουλου εμφανίζει υψηλότερα ποσοστά περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη και χαλκό (Cu), και χαμηλότερα σε νάτριο (Na), ψευδάργυρο (Zn), και σίδηρο (Fe) σε σύγκριση με αυτούς που προέρχονται από μοσχαρίσιο κρέας (Kayisogloy *et al.*, 2002). Σε άλλη μελέτη αναφέρεται ότι το 80% των εξεταζόμενων γύρων (νωπών και ψημένων) η περιεκτικότητα σε λίπος ήταν μέχρι 35,30%, ενώ της πρωτεΐνης 12,2%, και η περιεκτικότητα του ύδατος κυμαινόταν σε 37,9-68,1% στο νωπό γύρο και 14,5-63,8% στον ψημένο, ενώ σύμφωνα με την χημική ανάλυση άλλης έρευνας ο μέσος όρος της περιεκτικότητας του ύδατος είναι 60,4%, του λίπους 20,1%, της πρωτεΐνης 17,4%, ενώ δεν εντοπίστηκε πρωτεΐνη συνδετικού ιστού.

Πίνακας 1.3. Η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης και του λίπους σε προϊόντα χοιρινού κρέατος grams/caput/day (ranges in brackets) 1990

	Developing countries		Developed countries	
	Protein	Fat	Protein	Fat
Total	6.1	10.4	27.4	33.9
Pig meat	2.3	6.8	8.1	15.3

Πηγή: FAO, 1992

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε γύρος χοιρινός επομένως θα αναδειχθεί παρακάτω κυρίως η θρεπτική αξία του χοιρινού κρέατος.

1.1.6.2. Διατροφική αξία νωπού χοιρινού κρέατος

Το σφάγιο αποτελείται από μυϊκό ιστό, συνδετικούς ιστούς λιπαρή ύλη, οστά και περίπου 75% νερό ανάλογα με το είδος του ζώου, τις συνθήκες θρέψης-σιτηρέσιο, την ηλικία, το μέγεθος ακόμα και το ίδιο το ζώο μεμονωμένα. Η περιεκτικότητα σε λίπος των σφαγείων είναι αυτή που κυμαίνεται περισσότερο μεταξύ των διάφορων ειδών κρέατος (FAO, 1992). Ο μυϊκός ιστός μεταξύ διαφόρων ειδών ζώων παρουσιάζει παρόμοιες τιμές μακροθρεπτικών στοιχείων, ανόργανων στοιχείων και βιταμινών (ριβοφλαβίνης και νιασίνης) (Harries *et al.*, 1968), με εξαίρεση το χοιρινό κρέας το οποίο εμφανίζει υψηλή συγκέντρωση θειαμίνης. Η περιεκτικότητα του σφάγιου σε θρεπτικά στοιχεία εξαρτάται από:

1. Διατροφικό σύστημα.

Έχει αποδειχθεί ότι η διατροφή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην σύνθεση του κρέατος σε θρεπτικά στοιχεία με εξαίρεση τις βιταμίνες (FAO, 1992) Μελέτες παρουσιάζουν μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ ζώων που υπόκεινται στο ίδιο σύστημα αλλά σε διαφορετικές φάρμες σε σχέση με αυτά που βρίσκονται σε διαφορετικές φάρμες και διαφορετικό σύστημα διατροφής, υποδεικνύοντας ότι οι πρακτικές διαχείρισης του σιτηρεσίου διαδραματίζουν μεγάλο ρόλο (Harries *et al* 1968) Παράδειγμα αποτελεί ότι η εισαγωγή θειαμίνης στο σιτηρέσιο χοίρων η οποία έχει διπλασιάσει ή τριπλασιάσει την περιεκτικότητας της σε διάφορους ιστούς του χοιρινού κρέατος (Pence *et al.*, 1945). Επίσης, όσο τα ζώα αναπτύσσονται το ποσοστό του αζώτου, του σιδήρου και της λιποπεριεκτικότητας και

αυξάνονται με μεγαλύτερο ρυθμό μέχρι το στάδιο της ωριμότητας και έπειτα με μικρότερο. Ταυτόχρονα, ο λόγος πολυακόρεστων/ακόρεστα λιπαρά οξέα μειώνεται (FAO, 1992).

2. Το είδος του ζώου

Στον Πίνακα 1.4 αναδεικνύεται το φαινόμενο της διαφοροποίησης της χημικής σύστασης του κρέατος ανάλογα με το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται αλλά και ανάλογα την περιοχή κοπής των τεμαχίων κρέατος. Ωστόσο, μεγαλύτερες διακυμάνσεις ως προς την χημική σύνθεση παρατηρούνται μεταξύ των διαφορετικών ειδών κρέατος και λιγότερο μεταξύ των περιοχών τεμαχισμού του ίδιου είδους κρέατος.

Πίνακας 1.4. Σύσταση των διαφορετικών κομματιών βόειου, χοιρινού και αρνίσιου κρέατος

	Cut of meat	Protein (%)	Moisture (%)	Pat (%)	Ash (%)	Cal/100 g
BEEF	Chuck	18.6	65	16	0.9	220
	Flank	19.9	61	18	0.9	250
	Loin	16.7	57	25	0.8	290
	Rib	17.4	59	23	0.8	280
	Topside	19.5	69	11	1.0	180
	Rump	16.2	55	28	0.8	320
PORK	Ham	15.2	53	31	0.8	340
	Loin	16.4	58	25	0.9	300
	Shoulder	13.5	49	37	0.7	390
	Spare rib	14.6	53	32	0.8	350
LAMB	Breast	12.8	48	37	0.7	380
	Leg	18.0	64	18	0.9	240
	Loin	18.6	65	16	0.7	220
	Rib	14.9	52	32	0.8	360
	Shoulder	15.6	58	25	0.8	300

Πηγή: Sawyer, 1975

3. Το τμήμα του σφάγιου

Εμφανή είναι επίσης από τον Πίνακα 1.4 ότι η σύνθεση του κρέατος δεν είναι σταθερή μεταξύ των μερών του ζώου αλλά παρουσιάζει διακυμάνσεις.

4. Το μαγείρεμα

Κατά το μαγείρεμα ενδεχομένως να υπάρχουν αλλαγές στην σύνθεση του κρέατος κυρίως στη περιεκτικότητα σε νερό και σε λίπος η οποία συνήθως μειώνεται από την θερμική επεξεργασία, οι οποίες παρουσιάζονται λεπτομερώς σε επόμενη ενότητα (FAO, 1992)

1.1.6.2.1. Πρωτεΐνες

Η πρωτεΐνη του κρέατος είναι υψηλής βιολογικής αξίας, διότι το κρέας περιλαμβάνει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα (Williams, 2007; Bielsaski *et al.*, 2015; Pereira *et al.* 2013). Η δομική μονάδα των πρωτεϊνών είναι τα αμινοξέα. Στη φύση υπάρχουν 190 αμινοξέα αλλά μόνο τα 20 (Πίνακας 1.5) χρησιμοποιούνται για την σύνθεση των πρωτεϊνών (Wu, 2009), εκ των οποίων τα οκτώ μπορεί να συνθέσει ο ανθρώπινος οργανισμός και ονομάζονται μη απαραίτητα ενώ τα υπόλοιπα τα προσλαμβάνει από την τροφή του και ονομάζονται απαραίτητα αμινοξέα..

Πίνακας 1.5. Η σύσταση των μυϊκών πρωτεϊνών, των πρωτεϊνών του συνδετικού ιστού και ορισμένων πρωτεϊνών προϊόντων κρέατος σε αμινοξέα (ma αμινοξέων/g πρωτεΐνης).

	Pork	Cured Processed Meats	MDM*	Actin	Myosin	Tropomyosin	Bovine Collagen	Bovine elastin
Aspartic acid	89	91	88	107	115	117	43	9
Threonine	51	49	32	77	54	31	18	9
Serine	40	42	38	58	41	40	35	7
Glumatic acid	145	129	142	140	229	320	99	19
Proline	46	52	61	50	25	6	114	106
Glycine	61	80	82	43	26	9	187	189
Alanine	63	64	67	58	59	89	74	158
Valine	50	52	61	49	47	29	23	140
Methionine	25	22	28	42	33	25	8	Tr
Cystine	13	15	15	12	11	9	-	-
Total SAA	38	37	43	43	54	44	34	8

Isoleucino	49	49	39	84	55	39	15	31
Leucine	75	74	80	82	108	121	28	72
Tyrosine	30	29	25	67	33	29	67	13
Phenylalanino	41	40	43	48	47	9	21	52
Total aromatic amino acids	71	69	68	115	80	38	88	65
Histidine	32	28	30	27	24	10	8	1
Lysine	78	74	78	70	146	184	30	4
Arginine	64	66	77	74	79	75	75	11
Tryptophan	13	10	5	20	9	-	-	-

*MDM : Mechanically Deboned Meat

Πηγή: Pellet *et al.*, 1990

Οι πρωτεΐνες του κρέατος διακρίνονται ανάλογα με την λειτουργικότητά τους διακρίνονται σε:

- a) Πρωτεΐνες μυών (ακτίνη, μυοσίνη, τροπομυοσίνη, τροπονίνη).
- b) Δομικές πρωτεΐνες (κολλαγόνο, ελαστίνη, κερατίνη) Κολλαγόνο ζελατίνη. Μυϊκό ινίδιο, σαρκόπλασμα και συνδετικός ιστός.

Το κολλαγόνο διαφέρει από τις υπόλοιπες πρωτεΐνες από την σύνθεση αμινοξέων λόγω της παρουσίας υδροξυπρολίνης, υδροξυλισίνης, και τρυπτοφάνης και από την απουσία κυστεΐνης. Η ελαστίνη βρίσκεται στους συνδετικούς ιστούς και αποτελείται λιγότερο από υδροξυπρολίνη και υδροξυλισίνη. Έτσι, το κρέας είναι πλουσιότερο σε συνδετικό ιστό ο οποίος περιέχει μικρότερης ποιότητας πρωτεΐνη με αποτέλεσμα να είναι το κρέας πιο σκληρό.

- c) Μεταφέρουσες πρωτεΐνες (μυοσφαιρίνη, αιμοσφαιρίνη).

Η μυογλουβίνη βρίσκεται σε μεγαλύτερες ποσότητες στους μύες της καρδιάς λόγω της υψηλής ανάγκης σε οξυγόνο (FAO, 1992). Η πρωτεΐνη των θηλαστικών μετά την νεκρική ακαμψία και πριν τις μεταθανάτιες αλλαγές αποτελεί το 19% του σφάγιου εκ της οποίας 11.5% είναι δομική πρωτεΐνη (ακτινομυοσίνη), 5.5% διαλυτές σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες, 2% συνδετικός ιστός (κολλαγόνο και ελαστίνη) συμπεριλαμβανομένου των δομικών πρωτεϊνών και περίπου 2.5% λιπαρά που βρίσκονται ανάμεσα στις μυϊκές ίνες.

1.1.6.2.2. Λιπίδια

Η περιεκτικότητα του λίπους στο χοιρινό κρέας κυμαίνεται 8% έως 28% (INSRJ, 2006). Επίσης, σύμφωνα με το USDA η περιεκτικότητα του λίπους σε άπαχο χοιρινό κρέας είναι 8%-10,7% (USDA, 2011). Το κρέας αποτελεί το 20% της πρόσληψης Ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Russo *et al.*, 2009), ποσοστό το οποίο εξαρτάται από το σύστημα διατροφής του ζώου (Nuernberg, Dannenberger, *et al.*, 2005; Nuernberg, Fischer, *et al.*, 2005; Realini *et al.*, 2004). Τα λιπίδια βρίσκονται σε τρία σημεία στο σφάγιο:

- Το μεγαλύτερο ποσοστό βρίσκεται αποθηκευμένο κάτω από το δέρμα (υποδόριο λίπος) και τα όργανα (σπλαχνικό λίπος). Αυτό είναι το ορατό λίπος στα κομμάτια του κρέατος και αποτελεί μέχρι και το 40-50% του συνολικού λίπους του κρέατος. Αυτός ο λιπώδης ιστός αποτελείται κατά πλειονότητα από τριγλυκερίδια περιέχοντας proteínaceous κύτταρα με σχετικά μικρή ποσότητα νερού..
- Το ενδομυϊκό λίπος το οποίο είναι μικρές λωρίδες λίπους που είναι ορατές μεταξύ των μυϊκών ινών, και φθάνει το 4-8% του βάρους του κρέατος.

- Υπάρχουν μικρά ποσά λίπους μέσα στους δομικούς μύες σε ποσοστό που διαφέρουν ανάλογα με το είδος του ιστού, συνήθως αποτελούν 1-3% του καθαρού βάρους των μυών. Τα δομικά λιπίδια είναι κυρίως φωσφολιπίδια τα οποία περιέχουν μακριές αλυσίδες λιπαρών οξέων.

Τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες:

- κορεσμένα λιπαρά οξέα (Saturated Fatic Acid, SFA) που όλα τα άτομα άνθρακα της αλυσίδας φέρουν οξυγόνο και συνδέονται μεταξύ τους με απλό δεσμό
- μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (Monounsaturated Fatic Acid, MUFA) στα οποία ένα άτομο υδρογόνου λείπει και ένα από τα δύο άτομα άνθρακα συνδέεται με διπλό δεσμό
- πολυακόρεστα (Polyunsaturated Fatic Acid, PUFA) στα οποία δύο ή περισσότερα ζεύγη ατόμων υδρογόνου απουσιάζουν και έτσι υπάρχουν διάφοροι διπλοί δεσμοί στην ανθρακική αλυσίδα.

Το είδος του ζώου, το σιτηρέσιο, το φύλο, η ηλικία, το περιβάλλον ανάπτυξης και συνθήκες εκτροφής του ζώου επηρεάζει το βαθμό ακορεστότητας των λιπιδίων (κυρίως την αναλογία ακόρεστου ελαιικού οξέος προς των κορεσμένων παλμιτικού και στεατικού οξέος).

Πίνακας 1.6. Η περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων στο λίπος χοιρινού κρέατος.

	Total fat (%)	Per cent of total fat		
		SFA	MUFA	PUFA
Pork Fat	71	37%	41%	15%

Πηγή: FAO,1992

SFA - Saturated Fatty Acids

MUFA - Monounsaturated Fatty Acids

PUFA - Polyunsaturated Fatty Acids

1.1.6.2.3. Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία

Το κρέας είναι πλούσιο σε ιχνοστοιχεία. Αποτελεί εξαιρετική πηγή βιταμινών και μετάλλων κυρίως ψευδαργύρου, φωσφόρου, σεληνίου και σιδήρου (USDA, 2011) με το κόκκινο κρέας να παρέχει το 25% της προτεινόμενης ημερήσιας πρόσληψης σε ριβοφλαβίνη, νιασίνη, βιταμίνη B6 και παντοθενικού οξέος ανά 100g και πρακτικά τα δύο τρίτα (2/3) της απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης (Daily Requirement, DR) της βιταμίνης B12 ανά 100 g (Williams, 2007).

1.1.6.2.3.1. Σίδηρος

Το χοιρινό κρέας εμφανίζει ενδιάμεσες τιμές σιδήρου μεταξύ του μοσχαρίσιου κρέατος και των πουλερικών. (Pereira, 2013). Σε χοιρινό καρέ μπορεί το ποσοστό του σιδήρου να κυμαίνεται από 38% (Kongkachuichai *et al.*, 2002) έως 60% (Lombardi-Boccia *et al.*, 2002), ενώ στο φιλέτο μόνο 23% (Hallberg *et al.*, 2000). Το κρέας και τα προϊόντα κρέατος συνεισφέρουν στο 18% της απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης σιδήρου (Geissler *et al.*, 2011).

1.1.6.2.3.2. Βιταμίνες

Το κρέας είναι πλούσιο σε βιταμίνες του συμπλέγματος B και κυρίως την Βιταμίνη B12 (Pereira *et al.*, 2013). Κάτω από συνθήκες βόσκησης τα ζώα προσλαμβάνουν μεγάλη ποσότητα καροτενίου (Προβιταμίνη A) η οποία μετατρέπεται κυρίως σε ρετινόλη (vitamin A). Σύμφωνα με τους Cosgrove, Flynn, and Kiely (2007) η κατανάλωση μέτριας ποσότητας κρέατος περίπου 41–72 γρ/ημέρα στους άνδρες και 24.2–45.5 γρ/ημέρα στις γυναίκες αντιστοιχεί σε πρόσληψη βιταμίνης B12 κατά μέσο όρο 5.3 ± 4 μg στους άνδρες και 6.5 ± 6 μg στις γυναίκες γεγονός που ικανοποιεί τις απαιτούμενες ημερήσιες ποσότητες πρόσληψης αυτών των μικροθρεπτικών στοιχείων (Otten *et al.*, 2006). Το χοιρινό κρέας είναι πλούσιο σε θειαμίνη σε σύγκριση με τα υπόλοιπα είδη κρέατος, 9 περίπου φορές μεγαλύτερη, ωστόσο παρουσιάζει την ίδια περιεκτικότητα σε ριβοφλαβίνη σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη κρέατος. Ωστόσο, το κρέας από μόνο του δεν αποτελεί σημαντική πηγή Βιταμίνης A και φολικού οξέος (Pereira *et al.*, 2013)

Πίνακας 1.7. Η περιεκτικότητα σε βιταμίνες και μέταλλα στο λίπος και στο άπαχο χοιρινό κρέας.

	Fe (mg)	Cu	Zn (mg)	A (mg)	D (mg)	E (mg)	B1 (mg)	B2 (mg)	Niacin (mg)	B6 (mg)	B12 (mg)	Folate (μg)	Pantothenate (μg)	Biotin(μg)
Λίπος	0.7	0.1	0.4	Tr	Tr	0.03	-	-	-	-	Tr	-	-	Tr
Άπαχο κρέας	0.9	0.15	2.4	Tr	tr	0	0.9	0.95	6	0.45	3	5	1	3

Πηγή: McCance *et al.*,

1.1.6.3. Διατροφική αξία ψημένου χοιρινού κρέατος

Κατά την διάρκεια έψησης του γύρου στο εσωτερικό του η θερμοκρασία φθάνει έως θερμοκρασία για χρόνο. Ως αποτέλεσμα, οι πρωτεΐνες μετουσιώνονται και το κρέας μαλακώνει λόγω υδρόλυσης του κολλαγόνου. Η ολοκλήρωση της διαδικασίας ψησίματος υποδεικνύεται με την αλλαγή του χρώματος από κόκκινο σε καστανό και την ανάπτυξη αρωμάτων. Η περιεκτικότητα σε νερό μειώνεται σε ποσοστό που εξαρτάται από τον χρόνο, την θερμοκρασία, την μέθοδο της θερμικής επεξεργασίας, το μέγεθος του γύρου, τον τρόπο μετάδοσης της θερμότητας στο εσωτερικού του γύρου. Επίσης, παρατηρείται μείωση των υδατοδιαλυτών βιταμινών και μετάλλων.

1.1.6.3.1. Επίδραση στις πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες μπορούν να καταστραφούν, από πλευρά διατροφικής αξίας, όταν ένα ποσοστό των απαραίτητων αμινοξέων καθίστανται μη διαθέσιμο. Για παράδειγμα, το αμινοξύ λυσίνη καταστρέφεται στους 100°C, η κυστεΐνη και μεθειονίνη 120°C, και άλλα αμινοξέα ύστερα από παρατεταμένη θέρμανση (Bender, 1978). Αν η θερμική επεξεργασία λαμβάνει χώρα για παρατεταμένο χρονικό διάστημα σε θερμοκρασία άνω των 80°C, τα αμινοξέα ξεκινούν να αποσυντίθενται με ταυτόχρονη παραγωγή ανεπιθύμητων οσμών (FAO, 1992). Η μετουσίωση της κόκκινης μυογλουβίνης και η μετατροπή της σε καφέ myohaemochromogen ξεκινά στους 40°C και συνήθως ολοκληρώνεται στους 80-85°C (Lawrie, 1991).

1.1.6.3.2. Επίδραση στα λιπίδια

Επίσης, το μαγείρεμα επηρεάζει όχι μόνο την περιεκτικότητα σε λίπος αλλά και την σύνθεση των λιπαρών οξέων. Έρευνα έχει δείξει δραματική μείωση του λίπους όταν το κρέας υπόκειται σε διάφορους μεθόδους θερμικής επεξεργασίας. (Gerber *et al.*, 2009).

1.1.6.3.3. Επίδραση στα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία

Είναι σημαντικό να τονιστεί η επίδραση που έχουν οι διάφορες τεχνικές θερμικής επεξεργασίας στην περιεκτικότητα των βιταμινών καθώς το κρέας δεν καταναλώνεται ωμό (Pereira *et al.*, 2013) Κατά την διάρκεια του ψησίματος παρατηρείται απώλεια 30-60% των βιταμινών (Karmas *et al.*, 1988). Μερικές έρευνες έχουν δείξει ότι το μαγείρεμα επιδρά σημαντικά στην μείωση των βιταμινών του συμπλέγματος B (Lombardi-Boccia *et al.*, 2005). Πιο συγκεκριμένα, η βιταμίνη B12 και η θειαμίνη επηρεάζονται περισσότερο σε σχέση με την ριβοφλαβίνη και την νιασίνη οι οποίες παρουσιάζουν μικρότερη μείωση της συγκέντρωσής τους (D'Evoli, *et al.*, 2009). Η ριβοφλαβίνη είναι σχετικά σταθερή σε περισσότερες θερμικές επεξεργασίες, εξαίρεση αποτελούν οι υψηλές θερμοκρασίες της έψησης (FAO, 1992), ενώ η νιασίνη είναι πιο σταθερή με απώλειες κατά μέσο όρο 10%.φao

Το φαινόμενο αυτό οφείλεται σε δύο φαινόμενα: οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β είναι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες με αποτέλεσμα κατά την θερμική επεξεργασία να μειώνεται λόγω απώλειας νερού κατά την εξάτμιση και από την άλλη δεν αποτελούν θερμικά σταθερές βιταμίνες με αποτέλεσμα ο μικρότερος χρόνος μαγειρέματος του κρέατος να μειώσει αυτή την απώλεια (Lombardi-Boccia *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 1994).

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι ο γύρος συχνά προσφέρονται σε σάντουιτς με πίτα (είδος αρτοσκευάσματος) ή ψωμί, με γαρνιτούρα από κρεμμύδι, μαϊντανό, μαρούλι και /ή ντομάτα με σάλτσα από γιαούρτι ή μουστάρδα. Προσφέρεται επίσης σε σάντουιτς που φτιάχνεται με λιβανέζικο ψωμί και μπορεί να περιλαμβάνει μια σάλτσα από γιαούρτι, ξινή κρέμα ή σάλτσα από ταχίνι (Krüger *et al.*, 1993, Stolle *et al.*, 1993). Επομένως, από άποψη θρεπτικής αξίας αποτελεί πλήρες γεύμα.

1.1.7. Τεχνολογία και Στάδια Παραγωγής Γύρου

Στην ελληνική αγορά γίνεται χρήση τόσο νωπού όσο και κατεψυγμένου γύρου. Τα στάδια παραγωγής νωπού και κατεψυγμένου γύρου διαφέρουν σε ορισμένα σημεία (στο στάδιο της τρυφεροποίησης, του φιλεταρίσματος και στο στάδιο ψύξης και υπέρψυξης) ανάλογα τον χώρο παρασκευής του γύρου. Ο νωπός γύρος παρασκευάζεται συνήθως σε παρακείμενο χώρο του καταστήματος, ενώ κατεψυγμένος γύρος δε, παρασκευάζεται στον χώρο της βιομηχανίας ενώ ακολουθεί διανομή σε αυτή τη μορφή στα καταστήματα διάθεσης ψημένου γύρου.

1.1.7.1. Σφαγή ζώων

Κατά την διάρκεια της σφαγής των χοίρων συνήθως δεν αφαιρείται το δέρμα (Grau, 1986), σε αντίθεση με τα πρόβατα και τα βοειδή. Ωστόσο, το δέρμα καθαρίζεται και απομακρύνονται οι τρίχες με την διαδικασία της εκδοράς η οποία περιλαμβάνει το ξεμάτισμα, την αποτρίχωση, το καψάλισμα και τη στίλβωση. Μετά την εκδορά ακολουθεί αφαίρεση των εντόσθιων και το σφάγιο διαχωρίζεται σε δύο μέρη κατά μήκος του νωτιαίου μυελού, τα οποία καθαρίζονται εξωτερικά για την απομάκρυνση ακαθαρσιών, όπως χόμα και περιττώματα, με μαχαίρι ή με τη χρήση συσκευής ατμού-κενού (steam-vacuumed) και στη συνέχεια ακολουθεί πλύση με νερό. Ο εξωτερικός καθαρισμός του σφαγίου (trimming) συνήθως εφαρμόζεται μόνο στα σημεία όπου παρατηρείται ορατή μόλυνση.

1.1.7.2. Αποθήκευση Σφαγίου

Μετά τη σφαγή και κατά τη διάρκεια της νεκρικής ακαμψίας, παρατηρείται αύξηση της θερμοκρασίας του σφαγίου από τους 37°C στους 40°C περίπου, εξαιτίας της μεταβολικής δραστηριότητας των μυών. Για αυτό το λόγο απαραίτητη είναι η αποθήκευση των σφαγίων σε συνθήκες ψύξης, ενώ για λόγους υγιεινής, θα ήταν επιθυμητό η ψύξη αυτή να πραγματοποιηθεί στο ελάχιστο δυνατό χρονικό διάστημα. Εντούτοις, η απότομη μείωση της θερμοκρασίας των σφαγίων πριν την ολοκλήρωση της νεκρικής ακαμψίας δύναται να φέρει επιπτώσεις στην τρυφερότητα του κρέατος άρα και στην ποιότητα του. Έτσι, η διαδικασία της ψύξης πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε να μην παρεμποδίζεται η νεκρική ακαμψία αλλά και να ελαχιστοποιείται η μικροβιακή ανάπτυξη. Κατά συνέπεια, πολλές βιομηχανίες εφαρμόζουν τη μέθοδο του ψεκασμού ψυχρού ύδατος κατά τη διάρκεια των πρώτων ωρών της ψύξης αποτρέποντας τις απώλειες βάρους με ταυτόχρονη μείωση του χρόνου ψύξης λόγω ταχύτερης μετάδοσης της θερμότητας.

1.1.7.3. Αποστέωση και Αποδερμάτωση

Όλα τα προϊόντα κρέατος που προορίζονται για παρασκευή γύρου υπόκεινται σε αποστέωση και αποδερμάτωση, προκειμένου να αφαιρεθούν τα οστά και το δέρμα, τα οποία κρίνονται ακατάλληλα, ώστε να είναι δυνατή η τοποθέτησή τους στην κάθετη βέργα, διαφορετικά δε μπορεί να παρασκευαστεί γύρος σε σχήμα ανεστραμμένου κώνου με τα επιθυμητά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Το στάδιο αυτό πραγματοποιείται χειρωνακτικά.

1.1.7.4. Φινίρισμα

Επόμενο στάδιο αποτελεί το φινίρισμα, δηλαδή η αφαίρεση των ακατάλληλων τεμαχίων και του λίπους, διαδικασία που προσδιορίζει την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Με το φινίρισμα αφαιρούνται τα υπολείμματα της αποστέωσης, τα αιματώματα και σε πολλές περιπτώσεις και το ποντίκι διότι περιέχει μεγάλη ποσότητα ινών και προκαλεί δυσαρέσκεια στον τελικό καταναλωτή κατά την μάσηση.

1.1.7.5. Φιλετάρισμα

Το φιλετάρισμα του κρέατος γίνεται σε βιομηχανική κλίμακα ειδικές φιλεταριστικές μηχανές ώστε να λάβουν την μορφή φύλλων. Με το μηχανικό φιλετάρισμα προκύπτουν τεμάχια με σταθερό σχήμα και όγκο που ενδείκνυνται για την ομοιομορφία και το σωστό ψήσιμο του τελικού προϊόντος, ενώ σε περιπτώσεις παρασκευής γύρου σε καταστήματα λιανικής πώλησης γύρου πραγματοποιείται χειρωνακτικά.

1.1.7.6. Μαρινάρισμα και τρυφεροποίηση κρέατος

Για το μαρινάρισμα των προϊόντων χρησιμοποιούνται μπαχαρικά, αλάτι και βοηθητικές ύλες τα οποία προστίθενται στο κρέας κατά την διαδικασία της μάλαξης και ανάδευσης τους με την μέθοδο της ξηρής ή και της υγρής καρύκευσης με την χρήση ειδικού εξοπλισμού ανάδευσης ή χειρωνακτικά με σκοπό την ομοιογενή κατανομή των συστατικών και την τρυφεροποίησή του. Η χρήση μαρινάδων που περιέχουν οξέα επιφέρει μια μετουσίωση των πρωτεϊνών του και ταυτόχρονα συμβάλει στη μερική ή ακόμη και πλήρη εξυγίανσή του.

Η τρυφεροποίηση του κρέατος επιτυγχάνεται με δύο τρόπους:

A. ΤΡΟΠΟΣ: Ενζυμική διαδικασία

Η τρυφερότητα αποτελεί το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό ποιότητας της αξιολόγησης των καταναλωτών (Koohmaraie, 1994, 1996; Boleman *et al.*, 1995; Miller *et al.*, 2001; Koohmaraie *et al.*, 2006; Destefanis *et al.*, 2008; Zork *et al.*, 2009). Πιο συγκεκριμένα, η ενζυμική τρυφεροποίηση του βόειου κρέατος πραγματοποιείται αυθόρμητα σε συνθήκες ψύξης και διαρκεί κατ' ελάχιστον 14 ημέρες ενώ στο χοιρινό 5–7 ημέρες, και στο χοιρινό 7–10 ημέρες μετά την σφαγή του ζώου (Koohmaraie *et al.*, 2006). Οι παράγοντες που επηρεάζουν την τρυφερότητα του κρέατος διακρίνονται σε αυτούς που επιδρούν πριν την σφαγή (είδος, φύλο και ηλικία του ζώου, το σιτηρέσιο, οι συνθήκες στάβλωσης, και ο βαθμός σστρες πριν την σφαγή) και μετά την σφαγή (στάδιο νεκρικής ακαμψίας) (Destefanis *et al.*, 2008). Η τρυφερότητα του κρέατος εξαρτάται από τον βαθμό εναλλαγής και εξασθένισης της δομής των πρωτεϊνών των μυϊκών ινών και οφείλεται στην δράση ενδογενών πρωτεολυτικών ενζύμων, τις καλπαίνες (Sentandreu *et al.*, 2002; Kemp, 2010; Neath *et al.*, 2007). Έχει αποδειχθεί ότι τα σύστημα των καλπαίνων επηρεάζει την μεταθανάτια πρωτεολυτική δράση οι οποίες χρησιμοποιούνται ως δείκτες για την ποιότητα του κρέατος (Nowak, 2011).

Κατά την διάρκεια της ενζυμικής τρυφεροποίησης (ageing process) έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στην δομή των μυϊκών ινών οι οποίες περιλαμβάνουν εξασθένιση των δεσμών των μυϊκών ινιδίων, αλλαγές στην περιοχή των Z-γραμμών μεταξύ των σαρκομεριδίων και κατακερματισμό των I δεσμών των μυϊκών νηματίων τα οποία ευρίσκονται στο εσωτερικό της μυϊκής ίνας και της μετουσίωση των πρωτεϊνών των μυών και του συνδετικού ιστού (κολλαγόνου και ελαστίνης) (Koohmaraie, 1992, 1994; Taylor *et al.*, 1995; Takahashi, 1996; Tornberg, 1996; Korzeniowski *et al.*, 1998; Kołczak,

2000; Koohmaraie *et al.*, 2006). Οι αλλαγές αυτές οδηγούν στην απόκτηση της τελικής τρυφερότητας του κρέατος.

B. ΤΡΟΠΟΣ: Μηχανική διαδικασία

Η μηχανική κατεργασία του κρέατος για την τρυφεροποίηση περιλαμβάνει την μηχανική σύνθλιψη, την εφαρμογή υπερήχων και υψηλών πιέσεων. Η διαδικασία της μηχανικής τρυφεροποίησης του κρέατος σε βιομηχανική κλίμακα πραγματοποιείται σε ειδικά μηχανήματα, τους τρυφεροποιητές, στους οποίους πραγματοποιείται μάλαξη και ανάδευση τεμαχίων κρέατος. Οι τρυφεροποιητές αποτελούν βαρέλια μάλαξης στα οποία τοποθετούνται τα μαριναρισμένα τεμάχια κρέατος στα οποία έχει προηγηθεί έγχυση ενδομυϊκά ή προσθήκη διαλύματος άλατος (άλμης) με στόχο τη βελτίωση της ικανότητας συγκράτησης νερού και την ομογενοποίησή τους. Συνέπεια της μάλαξης είναι η δημιουργία εκχυλίσματος μυϊκών πρωτεϊνών με συνδετικές ιδιότητες, το οποίο με τη θέρμανση μετουσιώνεται και στην τομή του έτοιμου προϊόντος εμφανίζεται ως ομοιόμορφη μάζα.

1.1.7.7. Παρασκευή γύρου

Κατά το στάδιο αυτό πραγματοποιείται χειρωνακτικά η τοποθέτηση ατόφιων κομματιών κρέατος σε στρώσεις κωνοειδούς σχήματος σε σιδερένια ράβδο κατά το τρόπο ώστε το τελικό προϊόν να αποκτήσει κωνοειδές σχήμα (Kayisoglu *et al.*, 2003; Vazgecer *et al.*, 2003; Todd *et al.*, 1986), διαδικασία που προβλέπεται ήδη στην Αγορανομική διάταξη 72/77.

1.1.7.8. Ψύξη Γύρου

Ο νωπός γύρος που παρασκευάζεται σε παρακείμενο χώρο του καταστήματος διατηρείται σε συνθήκες ψύξης (2–4°C) έως και την έψηση. Ο κατεψυγμένος γύρος δε, παρασκευάζεται και υπόκειται ταχεία κατάψυξη ($\leq -20^{\circ}\text{C}$) στον χώρο της βιομηχανίας ενώ ακολουθεί διανομή σε αυτή τη μορφή στα καταστήματα διάθεσης ψημένου γύρου.

1.1.7.9. Έψηση γύρου

Ο γύρος διακρίνεται από τα άλλα προϊόντα λόγω του τρόπου ψησίματός του, καθώς τα κομμάτια κρέατος περιστρέφονται κάθετα, αργά, μπροστά από θερμαινόμενες εστίες (ηλεκτρικές, ξυλοκάρβουνου ή υγραερίου). διαδικασία που προσδίδει τα ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του Γύρου. Τα επιφανειακά τμήματα του κρέατος, όταν αυτό ψηθεί επαρκώς, τεμαχίζονται σταδιακά, οπότε τα αμέσως βαθύτερα τμήματα εκτίθενται με τη σειρά τους στις εστίες θέρμανσης και ψήνονται μέχρι να κοπούν και αυτά.

1.2. Επισκόπηση της μικροβιακής ασφάλειας του νωπού Γύρου

Οι πρώτες μελέτες για την διερεύνηση της μικροβιολογικής ασφάλειας του γύρου καταγράφηκαν την δεκαετία του 1980. Με αφορμή την έκδοση μιας ρύθμισης της κυβέρνησης του Καναδά (Food and Drug Regulation B. 14.072) το 1970, κατά την οποία συνιστάται η θερμοκρασία του ψημένου κρέατος να βρίσκεται εντός του εύρους $<4^{\circ}\text{C}$ και $>60^{\circ}\text{C}$, μια ομάδα ερευνητών εξέτασε την συμμόρφωση του γύρου ως προς αυτές τις νομοθετικές απαιτήσεις και την μικροβιολογική του ασφάλεια (Todd *et al.*, 1985).

1.2.1. Πηγές μόλυνσης

Τα μέρη του ζώου που εκτίθεται στο περιβάλλον κατά την σφαγή όπως το δέρμα, το στόμα και ο γαστροεντερικός σωλήνας δύναται να εμφανίσουν υψηλό μικροβιακό φορτίο (Nottingham, 1982; Grau, 1986; Gill, 1998), και έτσι αποτελούν τις σημαντικότερες πηγές μόλυνσης σφαγίων κρέατος. Η έκταση της μεταφοράς της μικροβιακής μόλυνσης από τις ανωτέρω πηγές στο χοιρινό σφάγιο εξαρτάται από τις συνθήκες υγιεινής κατά το στάδιο της εκτροφής, σφαγής, επεξεργασίας, αποθήκευσης και διανομής (Nottingham, 1982; Grau, 1986; Sofos, 1994; Gill, 1998), οι οποίοι αποτελούν παράγοντες που καθορίζουν τη μικροβιολογική ποιότητα του γύρου. Η σύγχρονη τεχνολογία σφαγής χοίρων περιλαμβάνει στάδια όπως οι δεξαμενές ζεματίσματος, οι μηχανές αποτρίχωσης και οι δεξαμενές ψύξης που οδηγούν στην μικροβιακή επιμόλυνση. Το βακτήριο της *Salmonella* υπάρχει στο περιβάλλον και στον γαστροεντερικό σωλήνα των ζώων κυρίως των πουλερικών (EFSA, 2007). Έχει αποδειχθεί η παρουσία της *Salmonella* spp. στα χέρια, στα μαχαίρια των σφαγέων και τα δάπεδα των σφαγείων πριν από την έναρξη της σφαγής, γεγονός που υποδεικνύει την έλλειψη επαρκούς ατομικής υγιεινής και υγιεινής περιβάλλοντος (Limpitakis *et al.*, 1999), ότι η παρουσία *Salmonella* spp. στα χέρια των εξοπλισμένων αυξάνει την πιθανότητα επιμόλυνσης του τελικού κρέατος κατά 6 φορές (Limpitakis *et al.* 2001). Σε άλλες μελέτες διαπιστώθηκε την ύπαρξη θετικού συσχετισμού μεταξύ των χοίρων φορέων και της παρουσίας της *Salmonella* spp., στα σφάγια (Berends *et al.*, 1997). Μελέτες έδειξαν την αύξηση του ποσοστού θετικότητας των δειγμάτων νωπών κρεατοσκευασμάτων από χοιρινό με την αύξηση του βαθμού κοπής (Genigeorgis, 2005). Σε σφαγεία χοίρων διαπιστώθηκε ότι ο καθαρισμός και η απολύμανση των χώρων παραμονής των ζώων πριν τη σφαγή μειώνει τη παρουσία της *Salmonella* spp., σε αυτό το περιβάλλον. Η επέμβαση αυτή όμως στην παρουσία της *Salmonella* spp., στα σφάγια παραμένει αδιευκρίνιστη (Schmidt *et al.*, 2004). Το ICMSF (1998) έχει δηλώσει μια μικρή μύανση των σφαγίων και του φρέσκου κρέατος κατά την διάρκεια της σφαγής είναι αναπόφευκτη, θεωρία που στηρίζεται και από τις μελέτες του USDA (1996), κατά τις οποίες εξετάστηκαν 2.100 δείγματα από τεμάχια χοιρινού σφάγιου σε

συνθήκες ψύξης στα οποία ο μέσος όρος του πληθυσμού ήταν *S. aureus* 84 CFU/cm². Ως πηγή μόλυνσης του γύρου, εκτός από το ίδιο το σφάγιο, μπορεί να αποτελέσουν τα μπαχαρικά που χρησιμοποιούνται κατά το στάδιο της καρύκευσης του, με αποτέλεσμα να προκληθεί διαμύανση με τον μικροοργανισμό *Bacillus cereus*.

1.2.2. Μικροβιολογία νωπού γύρου

Η μικροβιακή ασφάλεια του νωπού γύρου ξεκινά από την ποιότητα της πρώτης ύλης και τον χειρισμό της σε όλα τα στάδια της παραγωγής. Κύριο παράγοντα αποτελούν οι μεγάλες μεταβολές της θερμοκρασίας που υφίστανται τα προϊόντα λόγω του τρόπου παρασκευής, ψησίματος και πώλησής τους, οι οποίες ευνοούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Κατά τη παρασκευή του νωπού γύρου, το κρέας ψύχεται αρχικά στους 0,5-3°C. Σε ορισμένες όμως περιπτώσεις όπου η προετοιμασία γίνεται σε παρακείμενο χώρο του ψητοπωλείου σε συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου και σε συνδυασμό ότι η διαδικασία αυτή μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 3 ώρες (h), ανάλογα με το μέγεθος του γύρου, η θερμοκρασία του προϊόντος σημειώνει σημαντική αύξηση. Στην έρευνα των Krüger *et al.* (1993), όπου η παρασκευή γύρου πραγματοποιούνταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18°C), διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση της αρχικής θερμοκρασίας από 2.5 °C, 3.2 °C, και 5.7°C στους 11.7 °C, 12.4 °C και 13.7°C στο τελικό προϊόν, αντίστοιχα, Ωστόσο, σε σύγχρονες βιομηχανικές μονάδες, η παραγωγή του γύρου λαμβάνει χώρα σε ειδικούς ψυχόμενους χώρους, στους οποίους η θερμοκρασία δεν υπερβαίνει τους 12°C (Πεξαρά, 2005).

Έντονες και πολύ πιο σημαντικές είναι και οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας που παρατηρούνται κατά το στάδιο της θερμικής του επεξεργασίας (Dave *et al.*, 2011). Σύμφωνα με μελέτη του εργαστηρίου Ελέγχου Ποιότητας και Ασφάλειας Τροφίμων και Ποτών του Πανεπιστήμιου Δυτικής Αττικής που σχετίζεται με τους δυνητικούς κινδύνους και μέτρα για την ασφαλή διαχείρισή του γύρου, ο συνδυασμός αρχικού μικροβιολογικού φορτίου και των συνθηκών έψησης νωπού και κατεψυγμένου γύρου επηρεάζει σημαντικά την ποιότητα και επομένως και την ασφάλεια του προς διάθεση γύρου. Στην συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκαν τρεις μικροβιολογικοί δείκτες. Ως δείκτης ασφάλειας επιλέχθηκε η απουσία του παθογόνου *Salmonella* spp, ως δείκτης υγιεινής η συγκέντρωση κολοβακτηριειδών και ως δείκτης ποιότητας η συγκέντρωση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας. Για την υλοποίηση της μελέτης παρασκευάστηκαν 100 γύροι είτε βιομηχανικά (50 σε κατάσταση υπέρψυξης) είτε σε

καταστήματα (50 σε νωπή μορφή), τοποθετήθηκαν καταγραφικά θερμοκρασίας σε τρία επίπεδα και τρεις άξονες, για την αποτύπωση του θερμοκρασιακού προφίλ σε διαφορετικά σενάρια έψησης και ακολούθησαν οι δειγματοληψίες σε διαφορετικά βάθη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το 88% των νωπών γύρων βρέθηκαν να είναι μέτριας έως κακής μικροβιολογικής ποιότητας έναντι των υπερψυγμένων οι οποίοι στο σύνολό τους ήταν ικανοποιητικής έως άριστης ποιότητας. Ακόμα, στην περίπτωση των νωπών γύρων εντοπίστηκε στο 14% παρουσία *Salmonella* spp με το 8% εξ αυτών να παρέμειναν θετικοί ακόμα και στον ψημένο γύρο. Επιπλέον, στο νωπό γύρο μετά από 3 ώρες έψησης σε βάθος 0,4-0,8 εκ, το οποίο είναι αποδεκτό προς διάθεση, φάνηκε να μην έχει γίνει εξυγίανση σε αντίθεση με τον κατεψυγμένο.

Στον υπερψυγμένο γύρο η ζώνη γύρω από τον άξονα περιστροφής παραμένει σχεδόν μέχρι πριν το ψήσιμό της σε κατάσταση υπέρψυξης. Αποψύχεται δε και ψήνεται ομοιόμορφα σε όλο το μήκος του άξονά της ενώ το ψήσιμο δεν επηρεάζει θερμοκρασιακά τα εσωτερικά στρώματα. Έτσι, ο υπερψυγμένος γύρος παραμένει υπό συνθήκες που εξασφαλίζουν χαμηλό μικροβιακό φορτίο και δεν επιτρέπουν την ανάπτυξη του ήδη χαμηλού μικροβιακού πληθυσμού στο εσωτερικό του.

Αντιθέτως, στο νωπό γύρο, κατά την διάρκεια της έψησης, παρατηρείται μεταφορά θερμότητας από την εξωτερική επιφάνεια του γύρου (πλησίον του στοιχείου θέρμανσης) στο κέντρο (κοντά στον άξονα) εξαιτίας της ιδιαιτερότητας του σχήματος, του όγκου και του τρόπου έψησης, γεγονός που επιτρέπει στο εσωτερικό του νωπού γύρου την κλιμάκωση της θερμοκρασίας (Todd *et al.*, 1986). Η επικινδυνότητα αυξάνει λαμβάνοντας υπόψη ότι σε πολλές περιπτώσεις πραγματοποιούνται πλημμελείς εμπορικές πρακτικές κατά τη διάρκεια της έψησης, όπως η συχνή παύση των εστιών ή απενεργοποίηση τους μετά το πέρας της ώρας αιχμής, διατήρηση σε θερμαινόμενο δίσκο ή επαναθέρμανση των γύρων σε θερμό θάλαμο μέχρι την κατανάλωση, ή ακόμα και διατήρηση προϊόντος που ψήθηκε τη προηγούμενη ημέρα, δεν καταναλώθηκε και υποβλήθηκε σε αναθέρμανση. Έχει διαπιστωθεί ότι η θερμοκρασία στην επιφάνεια του προϊόντος μπορεί να κατέλθει στους 22°C μέσα σε 210 λεπτά, όταν η εστία της θέρμανσης τεθεί εκτός λειτουργίας, συνήθως μετά την ώρα του μεσημεριανού γεύματος όπου η κατανάλωση μειώνεται. Ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της επανεκκίνησης της λειτουργίας της εστίας θέρμανσης και του σερβιρίσματος του προϊόντος που θα ψηθεί κάτω από αυτές τις συγκεκριμένες συνθήκες, σε συνδυασμό με την τελική του θερμοκρασία, σε ορισμένες τουλάχιστον περιπτώσεις δεν μπορεί να εγγυηθεί την ασφάλειά του (Todd *et al.*, 1986) Μετά το πέρας της κοπής και της απομάκρυνσης των επιφανειακών

στρωμάτων, απαιτείται επαρκές ψήσιμο για να μειωθεί σε αποδεκτά επίπεδα ο πληθυσμός των αερόβιων βακτηρίων και της *E. coli*. Μόνο, όταν ο γύρος ψηνόταν για τουλάχιστον μία ώρα ο παραπάνω πληθυσμός βρέθηκε ότι ήταν μικρότερος από 10^5 cfu/g και δεν ανιχνεύθηκε *E. coli* (Todd *et al.*, 1986).

Λαμβάνοντας υπόψη την παραπάνω θερμοκρασιακή συνθήκη, είναι δυνατόν να επιτραπεί η αύξηση μικροοργανισμών (αλλοιογόνα ή/και παθογόνα βακτήρια) λόγω της παραμονής για μεγάλο χρονικό διάστημα του γύρου σε θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης ζώνης ανάπτυξης μικροοργανισμών (5-60°C) κοντά στον ψυχρό σημείο (πυρήνα) του γύρου. (Bryan *et al.*, 1980, Kayisoglu *et al.*, 2003, Todd *et al.*, 1986) Στο νωπό γύρο η περιοχή γύρω από τον άξονα περιστροφής παραμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα, το 52,8-80,8% του συνολικού χρόνου έψησης σε αυτές σε αντίθεση με τον υπερψυγμένο, ο οποίος παρέμεινε μόνο το 6,2-12,9%. σε θερμοκρασίες που ευνοούν την ανάπτυξη των βακτηρίων. Κρίσιμης σημασίας αποτελεί το μικροβιολογικό φορτίο με το οποίο ο γύρος εισέρχεται στην ζώνη έψησης/εξυγίανσης Όσο υψηλότερο είναι τόσο περισσότερο αυξάνει η πιθανότητα να δοθεί προς κατανάλωση γύρος που δεν έχει εξυγιανθεί. ο νωπός γύρος παραμένει για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε θερμοκρασίες που επιτρέπουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών στο εσωτερικό του ενώ νωπός γύρος κακής μικροβιολογικής ποιότητας μπορεί να γίνει μικροβιολογικά μη ασφαλής αφού η ασφάλειά του είναι θέμα ελάχιστων χιλιοστών κατά την κοπή του πριν το σερβίρισμα.

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, τα προϊόντα κρέατος που είναι ανεπαρκώς μαγειρεμένα ή/και αναθερμασμένα δύναται να είναι φορείς τροφιμογενών ασθενειών, όπως αλλαντίασης, γαστρεντερίτιδα οφειλόμενη στο βακτήριο *Clostridium perfringens* και *Escherichia coli*, σαλμονέλωση (*Salmonella* spp) ή σταφυλοκοκκική (*Staphylococcus aureus*) εντερίτιδα (Bryan *et al.*, 1980). Τα σπόρια των κλωστριδίων (*Clostridium perfringens*) είναι πιθανό να υποστούν θερμικό σοκ κατά τη διάρκεια του ψησίματος των γύρων και να εκβλαστήσουν (Bryan *et al.*, 1980). Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορούν να επιβιώσουν και να πολλαπλασιαστούν για ένα σημαντικό χρονικό διάστημα στις εσωτερικές περιοχές του νωπού γύρου, κατά τη διάρκεια του ψησίματός του. Όταν οι περιοχές αυτές καταστούν επιφανειακές και ο χρόνος παραμονής τους στις υψηλές θερμοκρασίες δεν είναι επαρκής (πχ. στις ώρες με τη μεγάλη ζήτηση), υπάρχει πιθανότητα, ορισμένοι μικροοργανισμοί να επιβιώσουν και επιμολύνουν τα έτοιμα προς κατανάλωση κομμάτια γύρου (Bryan *et al.*, 1980, Todd *et al.*, 1986), και ως εκ τούτου εξασθενούν το μικροβιοκτόνο αποτέλεσμα της επιφανειακής θερμικής επεξεργασίας, με αποτέλεσμα την διασταυρούμενη μόλυνση από το ίδιο το προϊόν.

Έναν από τους σημαντικότερους βιολογικούς κινδύνους για το προϊόν αυτό αποτελεί η *Salmonella* spp. και τα βακτήρια παρόμοιας θερμοανθεκτικότητας, επειδή ορισμένα στελέχη *Salmonella* spp. απαιτούν λίγους μικροοργανισμούς ως μολύνουσα δόση (Kupeli, 1996; Todd *et al.*, 1986), ενώ έχει αναφερθεί περιστατικό σαλμονέλλωσης (*S. mikawasima*) που σχετίζεται με την κατανάλωση doner kebab (Synnott *et al.*, 1993).

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 34 γύρους από 11 διαφορετικά καταστήματα αποδεικνύει ότι η θερμοκρασία του προϊόντος παρουσιάζει διακυμάνσεις οι οποίες εξαρτώνται από το σημείο καταμέτρησης δηλαδή το βάθος της μάζας του γύρου και από τον εμπορικό τρόπο ψήξης (νωπό ή κατεψυγμένο προϊόν). Οι θερμοκρασίες αυτές κυμαίνονταν μεταξύ 4°C και 60°C οι οποίες ευνοούσαν την ανάπτυξη των μικροβίων. Πιο συγκεκριμένα, η Ολική Αερόβια Χλωρίδα (Aerobic Colony Count, ACC), έφθαναν κατά μέσο όρο συγκεντρώσεις 10^5 - 10^7 cfu/g στο άψητο προϊόν, ενώ ο πληθυσμός τους μειωνόταν σημαντικά με τη πάροδο της θερμικής επεξεργασίας. Οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* και *Escherichia coli* δεν υπέρβαιναν 10^4 /g παρά μόνο σε περιπτώσεις πλημμελών εμπορικών πρακτικών όπως προσωρινή παύση ή απενεργοποίηση των εστιών θέρμανσης και διατήρηση ή επαναθέρμανση του γύρου (Todd *et al.* 1986). Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 44 δείγματα ψημένου doner σε διάφορα σημεία πώλησης στο Μόναχο, διαπιστώθηκε ότι ο μέσος όρος ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (OMX) ήταν 10^5 cfu/g, από τα οποία 8 δείγματα ήταν θετικά σε *Cl. perfringens*, ενώ δε εντοπίστηκε *Salmonella* spp. (Stole *et al.*, 1993), ενώ σύμφωνα με άλλη έρευνα ο μέσος όρος του πληθυσμού του μικροοργανισμού *Cl. perfringens* ήταν $2.6 \cdot 10^3$ cfu/g, ενώ το 26,6% των εξεταζόμενων δειγμάτων εμφάνισαν παρουσία *Salmonella* spp. (Digkrak *et al.*, 1995). Σε 60 δείγματα doner από μοσχαρίσιο κρέας και κρέας κοτόπουλου από πέντε σημεία πώλησης σε περιοχή της Τουρκίας, διαπιστώθηκαν σε όλα τα νωπά δείγματα ύποπτες αποικίες για *Salmonella* spp., ενώ το ποσοστό των ύποπτων αποικιών μειώθηκε κατά 60% στα ψημένα δείγματα από μοσχαρίσιο κρέας και κατά 20% στα δείγματα από κοτόπουλο. Επίσης, στο 40% των ψημένων δειγμάτων από μοσχαρίσιο κρέας και στο 60% των ψημένων δειγμάτων από κοτόπουλο βρέθηκε *Clostridium perfringens* (Kayisoglu *et al.*, 2003). Ο πληθυσμός των κολοβακτηροειδών στα ψημένα δείγματα ήταν μικρότερος κατά δύο λογάριθμους συγκριτικά με τα νωπά δείγματα, ενώ η διαφορά ήταν 1,5 λογάριθμοι για ζύμες και μύκητες. Για παράδειγμα, ο μέσος πληθυσμός ζυμών και μυκήτων ήταν 4,96 log cfu/g για τα νωπά δείγματα και 3,55 log cfu/g για τα ψημένα. Επίσης, σύμφωνα με την μελέτη 40 δειγμάτων, το 42% εξ'αυτών παρουσίαζαν 5,3-6,2 log cfu/g *Staphylococci* spp., ενώ δεν

ανιχνεύθηκε *Salmonella spp.* (Krüger *et al.*, 1993). Επίσης, από την εξέταση γύρων που πωλούνταν στο Erzurum της Τουρκίας επεδείχθει ότι ο μέσος όρος της ολικής αερόβιας χλωρίδας ήταν $1,7-3,0 \cdot 10^5$ cfu/g, ο πληθυσμός του βακτηρίου *E.coli* ανερχόταν σε $1,0-8,4 \cdot 10^2$ cfu/g ενώ σε κανένα από τα εξεταζόμενα δείγματα δεν εντοπίστηκε ο μικροοργανισμός *Salmonella spp.* (Kupeli, 1996) που συμφωνεί με τα ευρήματα διαφορετικής έρευνας σχετικά με την απουσία *Salmonella spp* σε γύρο. (Jockel *et al.*, 1984) Στην ίδια έρευνα, ωστόσο, στο 10% των δειγμάτων τα οποία αποτελούσαν γεύματα έτοιμα προς κατανάλωση εντοπίστηκε ο μικροοργανισμός *Cl. perfringens* (Jockel *et al.*, 1984)

Μεγάλο πρόβλημα για την ασφάλεια προκύπτει επίσης όταν το προϊόν δεν καταναλωθεί και ψύχεται, για να διατεθεί μετά από αναθέρμανση την επομένη ημέρα ημέρα (Bryan *et al.*, 1980). Σε περιπτώσεις όπου η μάζα του κρέατος είναι μεγάλη, η πιθανότητα ανάπτυξης βακτηρίων αυξάνεται καθώς απαιτείται αρκετό χρονικό διάστημα τόσο για να ψυχθεί όσο και για να αναθερμανθεί., με αποτέλεσμα τα εσωτερικά στρώματα του κρέατος να εκτίθενται στις επικίνδυνες θερμοκρασιακές ζώνες (30-40°C) για μεγάλο χρονικό διάστημα. Παθογόνα βακτήρια και κυρίως ο *St. aureus* μπορεί να αναπτυχθούν και να παράγει τοξίνη στο μερικώς ψημένο κρέας (Todd *et al.*, 1986). Οι Bryan *et al.* (1980), απομόνωσαν από τα εσωτερικά τμήματα γύρου μεγάλο αριθμό *St. aureus* μετά το κύκλο ψησίματος-ψύξης και ακόμη μεγαλύτερο όταν τον πρώτο αυτό κύκλο διαδέχθηκε νέα ψύξη και αναθέρμανση. Παρόλο που η ένταση της θερμικής επεξεργασίας που υφίστανται τα τεμάχια του γύρου κατά την αναθέρμανσή τους εξαρτάται από τον όγκο του προϊόντος και από τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για τη αναθέρμανση, στις περισσότερες περιπτώσεις αποδεικνύεται ανεπαρκής να αποκαταστήσει την ασφάλεια του προϊόντος. Συνηθέστερα η αναθέρμανση γίνεται στις ανοιχτές εστίες που χρησιμοποιούνται για το αρχικό ψήσιμο, οπότε η θερμική επεξεργασία περιορίζεται μόνο στα επιφανειακά στρώματα, είναι σύντομης διάρκειας και η συμβολή της στη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού και τη καταστροφή της θερμοάντοχης τοξίνης του *St. aureus* είναι περιορισμένη. Σε γύρο που δεν καταναλώθηκε και διατηρήθηκε στο ψυγείο κατά τη διάρκεια της νύχτας, μετά την αναθέρμανση του την επόμενη ημέρα για μία περίπου ώρα, βρέθηκε πληθυσμός από αερόβια βακτήρια της τάξης του 10^7 cfu/g (Todd *et al.*, 1986). Σε άλλη περίπτωση, σε γύρο που έχει ψυχθεί και αναθερμανθεί, διαπιστώθηκε ότι, αμέσως κάτω από την επιφάνεια είχε 10.000/g *Cl. perfringens*. Η αναθέρμανση αποδεικνύεται περισσότερο αποτελεσματική, όταν περιορισμένη ποσότητα από κομμάτια κρέατος αναθερμαίνονται σε φούρνους μικροκυμάτων. Η θερμοκρασία στο εσωτερικό μιας ποσότητας από τεμαχίδια γύρου

αντίστοιχης με αυτή που χρησιμοποιείται στα σάντουιτς, ξεπερνούσε τους 93,3°C όταν θερμαινόταν σε φούρνο μικροκυμάτων (Bryan *et al.*, 1980). Όμως, και όταν ακόμη η αναθέρμανση γίνεται σε μικρά κομμάτια, σε φούρνο μικροκυμάτων, σε σχάρα ψησίματος ή σε ζεστό νερό και για αρκετό χρόνο, δεν είναι δυνατόν να καταστρέψει την προσχηματισμένη τοξίνη του σταφυλόκοκκου (Bryan *et al.*, 1980). Είναι λοιπόν φυσικό να αμφισβητείται η ασφάλεια των προϊόντων αυτών, καθώς προϊόντα κρέατος που έχουν θερμανθεί ή αναθερμανθεί ανεπαρκώς, έχουν διατηρηθεί ζεστά σε θερμοκρασίες που ευνοούν την ανάπτυξη των μικροβίων και για μεγάλο χρονικό διάστημα ή έχουν ψυχθεί με λανθασμένη διαδικασία προκάλεσαν συχνά γαστρεντερίτιδες. Ως αίτιο στις περιπτώσεις αυτές αναφέρθηκαν τα *Cl. perfringens*, *Salmonella spp.* και ο *St. aureus* (Bryan *et al.*, 1980).

Ένα ακόμα σημείο κατά την διαδικασία έψησης όπου μπορεί να γίνει επιμόλυνση του μαγειρεμένου-εξυγιασμένου κρέατος είναι όταν μετά το κόψιμο της εξωτερικής στοιβάδας του κρέατος γίνεται έκκριση υγρών από το εσωτερικό του γύρου ενώ αυτό βρίσκεται ακόμα εντός της επικίνδυνης ζώνης τα οποία προσπίπτουν στο κρέας που είναι έτοιμο προς κατανάλωση. Εάν η θερμοκρασία αυτού του υγρού δεν είναι αρκετή για την θανάτωση των παθογόνων, το κρέας μπορεί να επιμολυνθεί. Στην περίπτωση της διαδικασίας μαγειρέματος των γύρων, ο συνδυασμός της θερμοκρασιακής διαβάθμισης που επικρατεί, των πρακτικών χειρισμού και του αναερόβιου περιβάλλοντος της μάζας μπορεί να οδηγήσει σε τροφιογενείς λοιμώξεις.

1.2.3. Παράγοντες ανάπτυξης μικροοργανισμών

Οι παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών διακρίνονται σε εξωγενείς και ενδογενείς. Στους εξωγενείς παράγοντες περιλαμβάνονται:

1. Η θερμοκρασία

Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε συγκεκριμένο εύρος θερμοκρασιών. Η συσχέτιση μεταξύ χρόνου, θερμοκρασίας και άλλων ενδογενών κι εξωγενών παραγόντων, είναι σημαντική όσον αφορά την εκτίμηση της μικροβιακής αλλοίωσης και την επιλογή των κατάλληλων συνθηκών συντήρησης των τροφίμων. Η κατηγοριοποίηση των μικροοργανισμών σε θεرمόφιλους, μεσόφιλους, ψυχρόφιλους και ψυχροτρόφους, πραγματοποιείται με βάση το εύρος των θερμοκρασιών στο οποίο αναπτύσσονται. Το ιδανικό εύρος θερμοκρασιών για την ανάπτυξη των θεرمόφιλων μικροοργανισμών είναι μεταξύ 55-75°C, με μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης στους 90°C και ελάχιστη στους 40°C.

Στα θερμοφιλά βακτήρια που χρίζουν σημασίας για τα τρόφιμα, ανήκουν στα γένη *Bacillus* και *Clostridium*. Τα βακτήρια *Clostridium perfringens* είναι σποριογόνα γεγονός που τους προσδίδει την ικανότητα επιβίωσης σε αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος. Το βακτήριο *C. perfringens* αναπτύσσεται σε εύρος θερμοκρασιών 15 έως 50°C, με βέλτιστες συνθήκες αύξησης 35–40°C, στις οποίες ο ρυθμός αύξησης μεγιστοποιείται και ο χρόνος γενεάς είναι περίπου 7 min (ICMSF, 1996). Για τους μεσόφιλους μικροοργανισμούς, στους οποίους ανήκουν και τα περισσότερα παθογόνα βακτήρια, το ιδανικό εύρος θερμοκρασιών ανάπτυξης κυμαίνεται μεταξύ 30–45°C, ενώ η ελάχιστη τιμή ανάπτυξης κυμαίνεται μεταξύ 5–10°C. Το βακτήριο *Salmonella* αναπτύσσεται σε εύρος θερμοκρασιών 5–46°C. (ICMSF, 1996), ενώ το βακτήριο *E. coli* αναπτύσσεται στις τροφές στους (8–10)–45 °C με μέγιστο ρυθμό αύξησης στους 37°C, ενώ σε κατεψυγμένα κρέατα στους -20 °C δεν παρατηρήθηκε μείωση του αρχικού πληθυσμού (Genigeorgis *et al.*, 2005). Η παραγωγή της εντεροτοξίνης μπορεί να λάβει χώρα σε εύρος θερμοκρασιών 10°C έως 48°C, ενώ εύκολα θανατώνεται από την θερμική επεξεργασία (Toldrá, 2009). Ανάπτυξη της *Salmonella* έχει αναφερθεί στους 2–47°C και μέχρι 54°C για ένα στέλεχος που προηγουμένα είχε εκτεθεί σε στρες αυξημένης θερμοκρασίας επώασης (D'Aoust, 2000). Ταχύτερη ανάπτυξη σε νωπά κρέατα παρατηρήθηκε με αύξηση της θερμοκρασίας από 7,2 °C στους 10 °C και 23,3°C όχι όμως και στους 4,4°C. Επίσης η ανάπτυξη ήταν ταχύτερη στον χοιρινό κιμά από ότι στις μπριζόλες (Mann *et al.*, 2004). Οι ψυχρόφιλοι μικροοργανισμοί έχουν ιδανικό φάσμα θερμοκρασιών ανάπτυξης μεταξύ 12–15°C με το μέγιστο φάσμα να κυμαίνεται μεταξύ 15–20°C. Το πλήθος των ψυχρόφιλων μικροοργανισμών που αναπτύσσεται στα τρόφιμα, είναι μικρό και κυρίως ανήκουν στα γένη *Pseudomonas* και *Enterococcus*. Αυτοί οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης και προκαλούν αλλοιώσεις στα κρέατα, τα θαλασσινά, τα πουλερικά, τα αυγά και άλλα τρόφιμα που διατηρούνται σε αυτές τις θερμοκρασίες. Οι ψυχρότροφοι μικροοργανισμοί όπως η *Listeria monocytogenes* και το *Clostridium botulinum*, δύναται να αναπτύσσονται στο εύρος θερμοκρασιών -0,4°C και 3,3–5,0°C αντίστοιχα.

2. Η σύνθεση των αερίων σε συσκευασία κενού ή τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP)

Οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί αλλοίωσης του κρέατος σε συνθήκες συσκευασίας υπό κενό και σε θερμοκρασία ψύξης είναι τα γαλακτικά βακτήρια. Τα βακτήρια αυτά μεταβολίζουν τη γλυκόζη και παράγουν οξέα όπως γαλακτικό και οξικό οξύ (Hitchener *et al.*, 1982; García-López *et al.*, 1998). Τα βακτήρια *Carnobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* και *Leuconostoc spp.* αποτελούν τα κυρίαρχα γαλακτικά βακτήρια που απομονώθηκαν από αλλοιωμένο κρέας και προϊόντα κρέατος υπό κενό σε επίπεδα 10^7 cfu/cm² (Shaw *et al.*,

1984; Borch *et al.*, 1988). Η αλλοίωση στην περίπτωση αυτή χαρακτηρίζεται από όξινη οσμή και γεύση (Dainty *et al.*, 1992). Σε ορισμένες περιπτώσεις σε συνθήκες κενού μπορεί να παρατηρηθεί περιορισμένη ανάπτυξη των *B. thermosphacta*, *Pseudomonas spp.* και *Enterobacteriaceae* σε επίπεδα 10^3 - 10^6 cfu/cm², αλλά η ανάπτυξή τους εξαρτάται από τη διαπερατότητα σε οξυγόνου πλαστικού συσκευάζοντας, της θερμοκρασίας συντήρησης, του pH και του αρχικού επιπέδου μόλυνσης (Newton *et al.*, 1981; Dainty *et al.*, 1983). Οι υψηλότεροι αριθμοί *B. thermosphacta* και αρνητικών Gram βακτηρίων βρίσκονται συνήθως σε συσκευασμένο σε κενό χοιρινό κρέας και αρνί απ'ό,τι σε βόειο κρέας (Shaw *et al.*, 1980). Το DFD κρέας σε συσκευασία υπό κενό αλλοιώνεται μέσα σε 3 έως 6 εβδομάδες σε συντήρηση στους 0°C και χαρακτηρίζεται από μια δυσάρεστη σαπρή οσμή (Bem *et al.*, 1976; Taylor *et al.*, 1977). Στην περίπτωση αυτή, η χλωρίδα αλλοίωσης αποτελείται κυρίως από *Shewanella putrefaciens*, εντεροβακτήρια και γαλακτοβάκιλους. Η *S. putrefaciens* προκαλεί έναν χαρακτηριστικό πράσινο αποχρωματισμό που προκύπτει από την παραγωγή υδροθείου από την κυστεΐνη. Η πράσινη αυτή χρωστική ουσία (sulfmyoglobin) παράγεται από το υδρόθειο που αντιδρά με τη μυογλοβίνη του κρέατος (Nicol *et al.*, 1970; Newton *et al.*, 1981). Τέλος, εκτός των παραπάνω μικροοργανισμών, ορισμένα ψυχρότροφα και ψυχρόφιλα είδη κλωστριδίων έχουν επίσης χαρακτηριστεί ως υπεύθυνα για την αλλοίωση του συσκευασμένου υπό κενό κρέατος κατά τη συντήρησή του μεταξύ -1,5°C σε 2°C.

3. Προσθήκη συντηρητικών

Τα συντηρητικά είναι πρόσθετες ουσίες, οι οποίες έχουν παρεμποδιστικό ρόλο στην μικροβιακή αλλοίωση και στην χημική υποβάθμιση των τροφίμων. Με τον όρο προσθετικά τροφίμων, ή πρόσθετα τροφίμων, χαρακτηρίζονται γενικά διάφορες ουσίες που προστίθενται στις τροφές, συνηθέστερα έτοιμες για κατανάλωση, οι οποίες χρησιμοποιούνται ως χρωστικές ουσίες, ή συντηρητικές, ή αντιοξειδωτικές, ή ακόμα και εμπορικές όπως οι ενισχυτικές γεύση (Θωμόπουλος, 2006). Τα προσθετικά τροφίμων διακρίνονται, ανάλογα με την προέλευσή τους, σε φυσικά προσθετικά και σε συνθετικά προσθετικά. Τα συντηρητικά μπορούν να καταταγούν σε τέσσερις ομάδες: α) στα αντιβιοτικά, β) στα αντιμικροβιακά, με τα οποία ελέγχεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, γ) στα αντιοξειδωτικά και δ) στις δεσμευτικές ουσίες, οι οποίες έχουν συντρέχων ρόλο στην διατήρηση της γεύσης, του χρώματος και του αρώματος των τροφίμων. Ο τρόπος δράσης των συντηρητικών και συγκεκριμένα, ο μηχανισμός διαμέσου του οποίου, τα χημικά συντηρητικά εμποδίζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Εξεύρεση ενός αριθμού παραγόντων, οι οποίοι επιδρούν στην αποτελεσματικότητα των χημικών συντηρητικών, χωρίς να

προσδιορίσουν πώς αυτά επηρεάζουν τον μηχανισμό δράσης των μικροοργανισμών (Μπόσκου, 2004). Οι παράγοντες είναι (Καραουλάνης, 1995):

- η συγκέντρωση του συντηρητικού,
- η σύσταση του τροφίμου και
- ο τύπος του μικροοργανισμού που πρόκειται να εμποδιστεί η ανάπτυξή του.

Γενικά, μπορεί να ειπωθεί, ότι οι ποσότητες των συντηρητικών που επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, δεν διατηρούν σε λανθάνουσα κατάσταση τη μόλυνση από τους μικροοργανισμούς, αλλά την εμποδίζουν. Ως εκ τούτου είναι βασικό, να κρατείται ο μικροβιακός πληθυσμός του τροφίμου στο μικρότερο δυνατό επίπεδο με την διατήρηση υγιεινών συνθηκών κατά την προετοιμασία και επεξεργασία του προϊόντος (Αργυράκος, 2011). Η σύσταση του τροφίμου είναι βασικής σημασίας διότι το pH του προϊόντος προσδιορίζει την συγκέντρωση των όξινων συντηρητικών, τα οποία υφίστανται σε μη διασπώμενη μορφή και η χημική σύσταση του προϊόντος προσδιορίζει το ποσοστό του συντηρητικού το οποίο δεν είναι αποτελεσματικό (Καραουλάνης, 1995). Τα τελευταία χρόνια παρουσιάζεται αύξηση του ενδιαφέροντος των καταναλωτών για ασφαλή και υγιή τρόφιμα χωρίς συντηρητικά. Ο λόγος γίνεται για διάφορες κατηγορίες συντηρητικών που έχει αναφερθεί ότι πιθανόν να προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου. (Αργυράκος., 2011).

Στους ενδογενείς παράγοντες ανήκουν:

1. Ενεργότητα νερού

Όσον αφορά την ενεργότητα του νερού (a_w), γενικά, τα βακτήρια απαιτούν μεγαλύτερες τιμές για την ανάπτυξή τους από ότι οι μύκητες, και πιο συγκεκριμένα τα Gram αρνητικά βακτήρια έχουν μεγαλύτερες απαιτήσεις από τα Gram θετικά βακτήρια. Έτσι, τα περισσότερα αλλοιογόνα βακτήρια δεν αυξάνονται κάτω από a_w 0.91, ενώ οι αλλοιογόνοι μύκητες μπορεί να αυξηθούν σε χαμηλότερη a_w μέχρι 0.80. Όσον αφορά τα παθογόνα βακτήρια, ο *Staphylococcus aureus* έχει βρεθεί ότι αυξάνεται και σε τιμή 0.86.

2. pH και οξύτητα

Η ανάπτυξη και ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών συνδέεται άμεσα με την τιμή του pH του τροφίμου. Γενικά, τα βακτήρια αυξάνονται γρηγορότερα σε εύρος pH 6.0-8.0, οι ζύμες σε pH 4.5-6.0 και οι μύκητες σε pH 3.5-4.0. Ωστόσο, έχουν παρατηρηθεί και εξαιρέσεις κυρίως μεταξύ των βακτηρίων τα οποία παράγουν οξέα ως αποτέλεσμα του

ενεργειακού τους μεταβολισμού. Έτσι, οι γαλακτοβάκιλλοι και τα οξικά βακτήρια παρουσιάζουν βέλτιστη ανάπτυξη σε pH 5.0-6.0. Πιο συγκεκριμένα, τα όρια του pH που επιτρέπουν ανάπτυξη της *Salmonella* spp., είναι 3.6-9.5. Εξαρτώνται όμως από τον αρχικό αριθμό των κυττάρων, θερμοκρασία, ενεργό νερό, (a_w), οξειδωαναγωγικό δυναμικό (Eh), και το είδος του οξέος. Τα VTEC στελέχη έχουν υποδείξει μια αξιοσημείωτη αντίσταση στα όξινα περιβάλλοντα και έτσι μπορούν να επιβιώνουν για αρκετόχρονο διάστημα σε όξινα υποστρώματα όπως το γιαούρτι, χυμό μήλου και σε λουκάνικα που έχουν υποστεί ζύμωση. Ωστόσο, δεν παρουσιάζουν κάποια αντοχή στην θέρμανση και έτσι δεν επιβιώνουν μετά την διαδικασία της παστερίωσης (Willshaw *et al.*, 2000; Duffy *et al.*, 2006). Σε αντίθεση με τα άλλα μη σπορογόνα παθογόνα η *E. coli* 0157:H7 είναι αρκετά ανθεκτική σε χαμηλό pH. Το όριο ανάπτυξης είναι από 4.0-4.5 έως 9 (Buchanan *et al.*, 1997). Η αντίσταση της *E. coli* 0157:H7 σε χαμηλά pH έχει αποδειχθεί επανειλημμένα (Chart, 2000). Η επιβίωση σε διάφορα περιβάλλοντα τροφίμων έχει μελετηθεί εκτεταμένα επίσης (McLure *et al.*, 2000). Έκθεση του μικροβίου σε όξινο περιβάλλον μπορεί να εγερτοποιήσει μηχανισμούς αύξησης της αντίστασης που μπορεί να διαρκέσουν για εβδομάδες και να αυξήσουν ταυτόχρονα την αντίσταση του μικροβίου και σε άλλες αντίξοες συνθήκες όπως οι υψηλές θερμοκρασίες και αυξημένες συγκεντρώσεις αντιμικροβιακών ουσιών (Sharma *et al.*, 2004; Rowbury, 1995). Οι μικροοργανισμοί του γένους *Staphylococcus* αναπτύσσονται σε pH από 4 έως 9 και δεν αποτελούν τόσο ισχυρούς ανταγωνιστές καθώς αναπτύσσονται λιγότερο σε μικτές καλλιέργειες.. (ICMSF, 1996; Baird-Parker, 2000). Οξέα με αυξανόμενο pK είναι περισσότερο αντιμικροβιακά λόγω της ύπαρξης περισσότερου αδιάστατου μορίου στα συνήθη pH των κρεάτων και κρεατοσκευασμάτων (Genigeorgis *et al.*, 1999; D'Aoust, 2000). Η ρύθμιση του pH με ανόργανα οξέα επιτρέπει την ανάπτυξη σε χαμηλότερο pH από ότι με τα οργανικά οξέα. (Chung *et al.*, 1970). Αυτό ισχύει και για άλλα παθογόνα που μελετήθηκαν (Razavilar *et al.*, 1992). Η μέγιστη άλμη που επέτρεψε ανάπτυξη ήταν 1-2% στους 8 °C, μέχρι 4% στους 12°C, 5-8% στους 22°C και 7-8% στους 37°C. Ο αριθμός της *Salmonella* spp., δεν μειώθηκε σε ζωμό κρέατος με 25% αλάτι μετά από 8 μέρες. Μειώθηκε κατά ένα λογάριθμο μετά από 20 μέρες στους 4°C. Η καταστροφή σε σαλαμούρες αυξήθηκε με αύξηση της θερμοκρασίας. Οι Genigeorgis *et al.*, (2005) μελέτησαν ποσοτικά την πιθανότητα ανάπτυξης διαφόρων οροτύπων *Salmonella* spp., σε διάφορες τιμές pH και άλατος σε καλλιεργητικά υλικά και κρεατοσκευάσματα. Τα μαθηματικά μοντέλα πρόβλεψης που κατασκευάστηκαν έδειξαν ότι η πιθανότητα ενός κυττάρου να επιβιώσει και ακόλουθα να αναπτυχθεί σε ένα περιβάλλον εξαρτάται όχι μόνο από τον συνδυασμό του pH και άλατος

αλλά ποικίλλει και με το στέλεχος, τον αρχικό αριθμόν κατά την επιμόλυνση (αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης και έναρξης ανάπτυξης) και το είδος του υποστρώματος.

3. Συγκέντρωση οξυγόνου – Οξειδωαναγωγικό δυναμικό (Redox potential - Eh)

Όσον αφορά σε απαιτήσεις σε δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh) των μικροοργανισμών, μερικά βακτήρια απαιτούν αναγωγικές συνθήκες για έναρξη της αύξησης (Eh περίπου - 200mV), ενώ άλλοι απαιτούν ένα θετικό Eh (οξειδωτικές συνθήκες) για την αύξησή τους. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν αναερόβια βακτήρια, όπως του γένους *Clostridium*, ενώ στην δεύτερη, ανήκουν αερόβια βακτήρια του γένους *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Micrococcus* καθώς ζύμες και μύκητες. Ωστόσο, μερικά βακτήρια μπορούν να αναπτύσσονται καλύτερα σε συνθήκες ελαφρά αναγωγικές (μικροαερόφιλοι μικροοργανισμοί) όπως οι γαλακτοβάκιλλοι και οι στρεπτόκοκκοι.

Ενδεικτικά στον Πίνακα 1.8 παρουσιάζεται η δυνατότητα ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη αυτή σε συνάρτηση με τα όρια των παραγόντων ανάπτυξης αυτών.

Πίνακας 1.8. Όρια ορισμένων ενδογενών και εξωγενών παραγόντων παραγόντων ανάπτυξης ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών.

Παθογόνος μικροοργανισμός	Θερμοκρασία (°C)	pH	Άλμη(%)*	a _w	Ρυθμιστής a _w
<i>E.coli</i> O157:H7	4-46	4-9	<8	0,94-0,95	NaCl
<i>Salmonella spp.</i>	4-45	3,6-8,8	8	0,92-0,95	NaCl
<i>B.cereus</i>	4-49	4,35-9,3	7,5	0,92-0,94	NaCl glycerol
<i>Cl. Perfigens</i>	6,5-50	5-9	<7	0,93-0,95	
<i>S.aureus</i>	6,7-47	4-9,8 (+ O ₂) 4,7-8,8(-O ₂)	16-18(+ O ₂) 14-16(- O ₂)	0.83-0.86 (+O ₂)	

*Άλμη % = (%NaCl (w/v)*100)/(%NaCl + % water)

Πηγή: Προσαρμογή δεδομένων από ISMSF, 1996; 1998; 2002; Lund *et al.*, 2000; Doyle *et al.*, 2001

1.3. Ποσοτική Μικροβιολογία – Μοντέλα Πρόρρησης

1.3.1. Εισαγωγή και Παρουσίαση Μοντέλων Πρόρρησης

Η αναγκαιότητα της χρήσης σύγχρονων μεθόδων ανάλυσης της μικροβιολογίας των τροφίμων πηγάζει από τις συνεχώς αυξανόμενες απαιτήσεις των καταναλωτών σχετικά με τη ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων. Η αναδυόμενη χρήση νέων μεθόδων εξασφαλίζει την μικροβιακή ποιότητα και ασφάλεια των προϊόντων σε σύντομο χρονικό διάστημα (McMeekin *et al.*, 1993). Η μικροβιολογία πρόρρησης αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδος πρόβλεψης της μικροβιολογικής ασφάλειας των τροφίμων με τρόπο λιγότερο δαπανηρό και χρονοβόρο. Οι McMeekin *et al* (1993) προσδιόρισαν τη μικροβιολογία πρόρρησης ως μια ποσοτική επιστήμη και ως επιστημονικό εργαλείο αντικειμενικής εκτίμησης της επίδρασης των διεργασιών επεξεργασίας, διανομής και αποθήκευσης στην ασφάλεια και στην ποιότητα των τροφίμων. Αργότερα, έγινε χρήση ενός πιο γενικευμένου όρου: «Ποσοτική Μικροβιακή Οικολογία των Τροφίμων» (Quantitative Microbial Ecology of Food). Οι McKellar and Lu (2004) παρουσιάζουν την αναγκαιότητα εκτίμησης των μικροβιακών αποκρίσεων στο περιβάλλον του τροφίμου από μαθηματικά μοντέλα. Σύμφωνα με αυτή θεώρηση η μικροβιολογία πρόρρησης ορίζεται ως «η έκφραση της επίδρασης των συνθηκών του περιβάλλοντος στη συμπεριφορά των μικροοργανισμών με ποσοτικούς όρους (μαθηματικά μοντέλα)». Τα στάδια διεξαγωγής της μικροβιολογίας πρόρρησης περιλαμβάνει:

1. την περιγραφή της καμπύλης αύξησης και θανάτωσης των μικροοργανισμών υπό ελεγχόμενες συνθήκες,
2. τη συγκέντρωση αποτελεσμάτων υπό τη μορφή μαθηματικών εξισώσεων και
3. την πρόβλεψη της αύξησης και θανάτωσης σε συνθήκες που δεν έχουν καταγραφεί, σύμφωνα με την αρχή της απλοποιημένης προσέγγισης.

Η μελέτη της επίδρασης κάθε παράγοντα στην μικροβιακή αύξηση καθορίζει τα όρια αύξησης των μικροβίων στους υπό μελέτη παράγοντες. Ωστόσο, στο σύνθετο περιβάλλον του τροφίμου ενδέχεται η επίδραση αυτή να είναι περισσότερο περίπλοκη, καθιστώντας τη μελέτη δυσχερέστερη, με αποτέλεσμα να επιλέγονται προς μοντελοποίηση οι παράγοντες που αξιολογούνται ως σημαντικότεροι, κατά περίπτωση, για την μικροβιακή αύξηση.

Στην μικροβιολογία τροφίμων, τα μοντέλα πρόβλεψης αποτελούν μαθηματικές εκφράσεις που περιγράφουν την αύξηση, την επιβίωση, την αδρανοποίηση και το θάνατο των μικροοργανισμών, δηλαδή αποτελεί μια απλή μαθηματική περιγραφή μιας διαδικασίας. Τα

μοντέλα χρησιμοποιούνται ευρέως σε όλους τους επιστημονικούς τομείς. Η εμφάνιση στο κλάδο της μικροβιολογίας πραγματοποιήθηκε στις αρχές του 20ου αιώνα με σκοπό την περιγραφή της κινητικής αδρανοποίησης των παθογόνων που βρίσκονται στα τρόφιμα κατά τη διάρκεια της θερμικής τους επεξεργασίας. Στη συνέχεια, με την ανάπτυξη της τεχνολογίας των Η/Υ και των στατιστικών λογισμικών πακέτων, η χρήση των μαθηματικών μοντέλων στη μικροβιολογία έχει αναπτυχθεί σημαντικά. Η χρήση μοντέλων πρόβλεψης στην επιστήμη της μικροβιολογίας αλλά και στο τομέα της βιομηχανίας τροφίμων ενέχει μεγάλη δυναμική καθώς οι εφαρμογές τους είναι πολλές, οι κυριότερες από τις οποίες είναι:

- Στην πρόβλεψη της μικροβιολογικής ασφάλειας και αλλοίωσης των τροφίμων. Η ποσοτική μικροβιολογία βοηθά στην πρόβλεψη της αύξησης των ειδικών αλλοιογόνων μικροοργανισμών από τον αρχικό τους πληθυσμό στο επίπεδο αλλοίωσης και συμβάλλει καθοριστικά στην πρόβλεψη της διάρκειας ζωής ενός προϊόντος (Shelf-Life)
- Στην εκτίμηση της επικινδυνότητας (Risk Assessment). Μια από τις μεγαλύτερες δυσκολίες κατά την εκτίμηση της επικινδυνότητας είναι ο προσδιορισμός του μικροβιακού πληθυσμού στο τρόφιμο τη στιγμή της κατανάλωσης δηλαδή στο στάδιο της έκθεσης.
- Στην ανάλυση της Επικινδυνότητας των Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου (HACCP). Η χρήση των μοντέλων πρόβλεψης βοηθά στην ανάλυση της επικινδυνότητας, την αναγνώριση και τον καθορισμό των κρίσιμων σημείων καθώς και τον καθορισμό των διορθωτικών αλλαγών.
- Στην έρευνα και στην ανάπτυξη νέων προϊόντων. Η χρήση των εργαλείων της ποσοτικής μικροβιολογίας στο αρχικό στάδιο της ανάπτυξης προϊόντων επιτρέπει τον προσδιορισμό των ενδεχόμενων κινδύνων που σχετίζονται με τη πρώτη ύλη, την επεξεργασία, τη διανομή ή την κατανάλωση.
- Στην επιστημονική εκπαίδευση. Παρέχεται η δυνατότητα κατανόησης της συμπεριφοράς των μικροοργανισμών στα τρόφιμα σε σύγκριση με τις μεταβολές των ενδογενών και εξωγενών παραγόντων δίχως την διεξαγωγή δαπανηρών και χρονοβόρων πειραμάτων στο εργαστήριο.

Επομένως, είναι αναγκαίο η εξασφάλιση ταχύτερων και αξιόπιστων εκτιμήσεων της μικροβιακής ασφάλειας των προϊόντων για τους διάφορους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, δεν έχουν υιοθετηθεί σε μεγάλο βαθμό από τις βιομηχανίες τροφίμων, καθώς πολλές από αυτές

χρησιμοποιούν τη κλασσική μικροβιολογία για τον προσδιορισμό του μικροβιακού πληθυσμού.

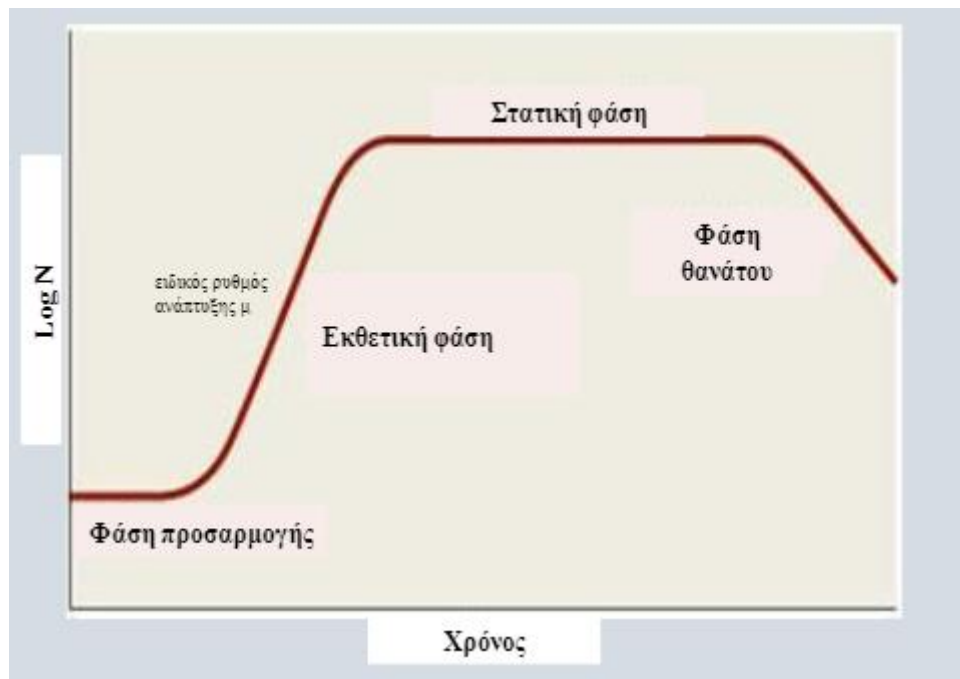
1.3.2. Κατηγορίες Μοντέλων Πρόβλεψης

Σύμφωνα με τους Whiting και Buchanan (1993), τα μοντέλα διακρίνονται στις εξής κατηγορίες:

- **Πρωτογενή μοντέλα (primary models)** όπου περιγράφουν τη μεταβολή της μικροβιακού πληθυσμού σε σχέση με το χρόνο και χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των κινητικών παραμέτρων αύξησης ($\mu_{\max}$, λ , $y_{\max}$, χρόνος γενεάς)
- **Δευτερογενή μοντέλα (secondary models)** όπου χρησιμοποιούνται για τη ποσοτικοποίηση της επίδρασης των διαφόρων περιβαλλοντικών παραμέτρων (T , a_w , pH , κ.α.) σε μια από τις κινητικές παραμέτρους αύξησης που επιλέγονται κατά περίπτωση.
- **Τριτογενή μοντέλα** τα οποία συνδυάζουν πρωτογενή και δευτερογενή μοντέλα σε εύχρηστα πακέτα λογισμικών, με αποτέλεσμα οι τελικοί χρήστες τέτοιων συστημάτων να μην απαιτείται να έχουν ιδιαίτερες τεχνικές γνώσεις.

1.2.2.1. Πρωτογενή Μοντέλα

Είναι ευρέως γνωστό ότι σε ένα περιβάλλον τροφίμου στο οποίο τα θρεπτικά συστατικά δεν αποτελούν περιοριστικό παράγοντα για τη μικροβιακή αύξηση, ο μικροβιακός πληθυσμός ξεκινά να πολλαπλασιάζεται και η μεταβολή του δεκαδικού λογαρίθμου του πληθυσμού του σε σχέση με το χρόνο δίνει τη χαρακτηριστική καμπύλη της εικόνας



Εικόνα 1.3. Τυπική σιγμοειδής καμπύλη ανάπτυξης των μικροοργανισμών

Όπως φαίνεται και στην εικόνα 1. μετά από ένα χρονικό διάστημα κατά το οποίο ο λογάριθμος του πληθυσμού παραμένει σταθερός, εμφανίζεται ένας αρχικά αργός ρυθμός αύξησης. Στη συνέχεια, ο ρυθμός αυτός παραμένει σταθερός και έπειτα μειώνεται τείνοντας στο μηδέν. Όταν η αύξηση της πληθυσμιακής πυκνότητας μεταβάλλεται με το χρόνο, η καμπύλη που προκύπτει περιλαμβάνει τέσσερις φάσεις. Συγκεκριμένα:

- Φάση προσαρμογής (lag phase), κατά την οποία τα κύτταρα προσαρμόζονται στο νέο περιβάλλον.
- Εκθετική φάση (exponential phase), όπου τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται εκθετικά.
- Στατική φάση (stationary phase), όπου σημειώνεται η μέγιστη πληθυσμιακή πυκνότητα.
- Φάση θανάτωσης ή παρακμής (death or decline phase).

Πιο συγκεκριμένα, κατά την φάση προσαρμογής οι μικροοργανισμοί βρίσκονται σε κατάσταση στασιμότητας με σκοπό την προσαρμογή τους στο νέο περιβάλλον μέσω της επίτευξης ορισμένων βιοχημικών διεργασιών. Εφόσον, τα κύτταρα πραγματοποιήσουν τις απαραίτητες αυτές διεργασίες, παρατηρείται η κατάσταση ισορροπίας αύξησης κατά την οποία τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται με τον ταχύτερο δυνατό ρυθμό και με τέτοιο τρόπο ώστε ο ρυθμός σύνθεσης των συστατικών του κυττάρου (ένζυμα, δομικά μόρια, DNA) να

είναι τέτοιος ώστε να μη γίνεται μεγαλύτερη σύνθεση από αυτή που απαιτείται για τη παραγωγή νέων κυττάρων, αλλά η μεταβολική δράση των μικροοργανισμών να κατευθύνεται εξολοκλήρου προς τη διαίρεση. Κατά τη διάρκεια της αύξησης παρατηρείται έντονη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα την παραγωγή και συσσώρευση μεταβολικών παραπροϊόντων τα οποία παρουσιάζουν παρεμποδιστική δράση, με συνέπεια τη μείωση του ρυθμού αύξησης των κυττάρων και την εισαγωγή τους στη στατική φάση. Παρ' όλο που η διάρκεια της φάσης αυτής εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού καθώς και του υποστρώματος αύξησης, τελικά η αύξηση της συγκέντρωσης των παρεμποδιστικών μεταβολικών προϊόντων αλλά και ο περιορισμός του θρεπτικού υποστρώματος οδηγεί στη καταστροφή των κυττάρων, δηλαδή, στη φάση θανάτωσης.

Το μικροβιακό φορτίο μπορεί να μετρηθεί είτε άμεσα με την κλασσική μικροβιολογική μέθοδο (επιφανειακή επίστρωση τρυβλίων), είτε έμμεσα όπως για παράδειγμα με μετρήσεις οπτικής πυκνότητας και αγωγιμότητας. Τα μοντέλα πρόβλεψης στηρίζονται σε άμεσες μετρήσεις της μικροβιακής αύξησης. Στην μικροβιακή καμπύλη αύξησης κατά την περιγραφή της μεταβολής του πληθυσμού των κυττάρων συναρτήσει του χρόνου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν δεδομένα από τα οποία με τη βοήθεια ενός πρωτογενούς μοντέλου να προκύπτουν πληροφορίες σχετικά με τις κινητικές παραμέτρους αύξησης των βακτηρίων. Η βασική εξίσωση που περιγράφει την εκθετική αύξηση είναι η εξίσωση

$$\frac{dN(t)}{dt} = \mu_{\max} N(t) \quad (\text{Εξίσωση 1.5})$$

όπου,

dN/dt : η μεταβολή του αριθμού των κυττάρων στη μεταβολή του χρόνου

$N(t)$ [cfu/ml]: ο πληθυσμός των μικροοργανισμών τη χρονική στιγμή t

$\mu_{\max}$: ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης

Ωστόσο, στις περισσότερες περιπτώσεις, η διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων του περιβάλλοντος δεν είναι η άριστη και ο ειδικός ρυθμός αύξησης δεν είναι σταθερός, αλλά, μεταβάλλεται σε σχέση με την πυκνότητα του πληθυσμού (εξίσωση).

Στις αυτές τις περιπτώσεις χρησιμοποιείται το μοντέλο λογιστικού τύπου που εμπεριέχει έναν παράγοντα παρεμπόδισης (inhibition function) για την αποτελεσματική περιγραφή της στατικής φάσης με αποτέλεσμα η εξίσωση 1.5 να τροποποιείται στην εξίσωση 1.6:

$$\frac{dN(t)}{dt} = \mu_{\max} \left(1 - \frac{N(t)}{N_{\max}}\right) N(t) \quad (\text{Εξίσωση 1.6})$$

Όπου:

$N_{\max}$ [cfu/ml]: η μέγιστη συγκέντρωση μικροβιακών κυττάρων.

Ο παράγοντας παρεμπόδισης είναι ένας παράγοντας με τιμές μεταξύ 0 και 1. Όσο ο πληθυσμός πλησιάζει προς τη στατική φάση ο παράγοντας $\mu_{\max} (1 - N(t)/N_{\max})$ πλησιάζει προς το 0.

1.2.2.1.1. Παρουσίαση των κυριότερων Πρωτογενών Μοντέλων

Μια νέα γενιά πρωτογενών μοντέλων βακτηριακής αύξησης έχουν αναπτυχθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Για παράδειγμα τα κυριότερα πρωτογενή μοντέλα είναι:

- Monod
- Baranyi (Baranyi *et al.*, 1993)
- Gompertz
- Λογιστικό Μοντέλο
- Hills (Hills *et al.*, 1994)
- Γραμμικό τριών φάσεων-Buchanan (Buchanan *et al.*, 1997)
- McKellar-Ετερογενούς πληθυσμού (McKellar, 1997)

Θα πρέπει να τονιστεί το γεγονός ότι δεν είναι εφικτό να χαρακτηριστεί κάποιο μοντέλο ως το καλύτερο για τη πρόβλεψη της βακτηριακής αύξησης. Με βάση την αρχή της απλουστευμένης προσέγγισης, το μοντέλο των τριών φάσεων είναι επαρκές για να περιγράψει τις βασικές παραμέτρους αύξησης με ακρίβεια (Buchanan *et al.*, 1997; Garthright, 1997). Όμως, έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει ταύτιση στη συσχέτιση των βασικών αρχών και έτσι υπάρχει η δυνατότητα χρήσης μοντέλων και παραμέτρων εύκολα κατανοητών από τους μικροβιολόγους τροφίμων (Buchanan *et al.*, 1997). Ωστόσο, παρά τη βεβαιότητα το Garthright (1997) ότι η απλότητα της ευθείας προσέγγισης είναι

επαρκής για να μοντελοποίηση της αύξησης των βακτηρίων, η ανάπτυξη πιο σύνθετων μοντέλων (και κατά συνέπεια πιο μηχανιστικών) βασίζεται πάνω σε μια βελτιωμένη αντίληψη της συμπεριφοράς των κυττάρων σε φυσιολογικό και βιοχημικό επίπεδο. Έτσι, κάθε φορά χρησιμοποιείται το μοντέλο εκείνο που θεωρείται κατάλληλο από τον χρήστη και την σκοπιμότητα του κατά περίπτωση. Όσον αφορά την επιλογή των μοντέλων θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν τα εξής:

- Οι ιδιότητες των παραμέτρων: Τα μοντέλα θα πρέπει να περιέχουν ανεξάρτητες παραμέτρους οι οποίες παρουσιάζουν ομοιόμορφη κατανομή.
- Η ερμηνεία παραμέτρων: Θα πρέπει να έχουν βιολογική και κυρίως μικροβιολογική σημασία ώστε να συσχετίζονται με τις ανεξάρτητες και εξαρτημένες μεταβλητές.
- Ο αριθμός των παραμέτρων: θα πρέπει να αποτελούνται από επαρκή αριθμό παραμέτρων (parsimony). Μοντέλα που χαρακτηρίζονται από υψηλό αριθμό παραμέτρων έχουν τη τάση να κάνουν καλύτερη προσαρμογή (fitting) στο σφάλμα των δεδομένων και να δίνουν περισσότερη ακριβή πρόβλεψη.
- Η περιοχή πρόβλεψης: Πρέπει να είναι οριοθετημένη σε ένα εύρος τιμών των ανεξάρτητων μεταβλητών (της ανώτερης και της κατώτερης τιμής) το οποίο είναι εξ' αρχής προκαθορισμένο για την ανάπτυξη του μοντέλου.
- Η στοχαστική προσέγγιση: η μορφή του μοντέλου και η επιλογή των μεταβλητών θα πρέπει να είναι τέτοια ώστε η διαφορά μεταξύ πειραματικών και προβλεπόμενων τιμών να ακολουθεί κανονική κατανομή.

1.2.2.1.2. Μοντέλο Baranyi

Το μοντέλο Baranyi (Baranyi *et al.*, 1994) αποδίδεται στην ανάγκη για σύνθεση ενός άγνωστου υποστρώματος q , το οποίο θεωρείται κρίσιμο για την αύξηση. Την χρονική στιγμή εκείνη όπου τα κύτταρα προσαρμόζονται στο νέο περιβάλλον, αναπτύσσονται εκθετικά μέχρι να περιοριστούν από τους παράγοντες του υποστρώματος αύξησης, οπότε προκύπτει η εξίσωση 1.7:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{q(t)}{q(t)+1} * \mu_{\max} * \left(1 - \left(\frac{x(t)}{x_{\max}} \right) \right) * x(t) \quad (\text{Εξίσωση 1.7})$$

όπου,

x : ο αριθμός των κυττάρων σε χρόνο t

x_{max} : η μέγιστη πυκνότητα των κυττάρων

$q(t)$: η συγκέντρωση του περιοριστικού υποστρώματος, το οποίο μεταβάλλεται με το t

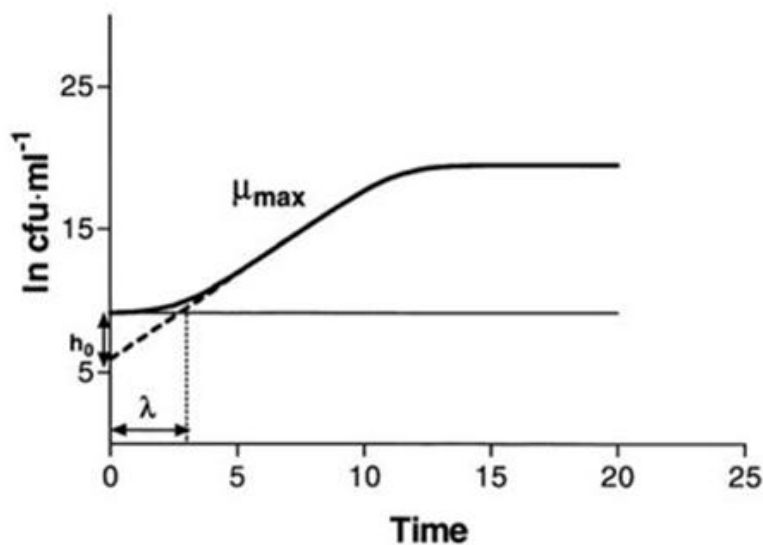
Η αρχική τιμή της q (q_0) είναι η μέτρηση της αρχικής φυσιολογικής κατάστασης των κυττάρων. Το q_0 μπορεί να οριστεί και ως εξής:

$$h_0 = \ln\left(\frac{1}{q_0}\right) = \mu_{max} * \lambda \quad (\text{Εξίσωση 1.8})$$

Η παράμετρος m χαρακτηρίζει τη καμπυλότητα πριν από τη φάση σταθεροποίησης. Όταν $m=1$, η συνάρτηση μετατρέπεται σε μια λογιστική καμπύλη, μια απλούστευση του μοντέλου, που συχνά θεωρείται δεδομένη. Συνεπώς η τελική μορφή του μοντέλου έχει τέσσερις παραμέτρους:

- το x_0 που είναι ο αρχικός αριθμός των κυττάρων
- το h_0 που είναι η μεταβαλλόμενη παράμετρος της φυσιολογικής κατάστασης
- το x_{max} που συμβολίζει τη μέγιστη κυτταρική πυκνότητα
- και το μ_{max} που είναι ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης ($h-1$)

Η απόδοση του μοντέλου και η σχέση μεταξύ h_0 , λ και μ_{max} δίνεται στο σχήμα (McKellar *et al.*, 2004; Baranyi, 2002)



Εικόνα 1.4. Παράδειγμα καμπύλης αύξησης όπως προκύπτει από το μοντέλο Baranyi

Πηγή: McKellar *et al.*, 2004

1.2.2.2. Δευτερογενή Μοντέλα

Όπως έχει προηγουμένως αναφερθεί, τα μοντέλα που περιγράφουν την επίδραση των περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως για παράδειγμα χημικών, βιολογικών και μικροβιολογικών γνωρισμάτων πάνω στις τιμές των παραμέτρων ενός πρωτογενούς μοντέλου ορίζονται ως “δευτερογενή μοντέλα”. Η γνώση των περιβαλλοντικών παραμέτρων, που επηρεάζουν την αύξηση των μικροοργανισμών στα τρόφιμα αποτελεί προϋπόθεση για την χρησιμοποίηση των μοντέλων πρόβλεψης. Τα δευτερογενή μοντέλα που δε περιλαμβάνουν όλες τις περιβαλλοντικές παραμέτρους που είναι σημαντικές σε ένα τρόφιμο έχουν χαρακτηριστεί ως ‘ατελή’ (Ross *et al.*, 1999). Όλοι οι περιβαλλοντικοί παράμετροι που είναι σημαντικοί για κάθε τρόφιμο δεν είναι εύκολο να προσδιοριστούν ταυτόχρονα. Προκειμένου να επιτευχθεί η μεγιστοποίηση της αξιοπιστίας των δευτερογενών μοντέλων είναι απαραίτητο να συμπεριληφθούν στο σχεδιασμό των πειραμάτων:

- η κατανόηση της μικροβιακής φυσιολογίας,
- η αντίδρασή της με τις συνθήκες περιβάλλοντος, αποθήκευσης και επεξεργασίας,
- η προετοιμασία των βακτηριακών καλλιιεργειών
- και η ερμηνεία των μετρήσεων των μεταβολών του πληθυσμού των μικροβίων.

1.3.2.2.1. Παρουσίαση των κυριότερων Δευτερογενών Μοντέλων

Τα δευτερογενή μοντέλα που χρησιμοποιούνται συχνότερα είναι κινητικής φύσεως, με πιο σημαντικά τα εξής:

- το μοντέλο της τετραγωνικής ρίζας
- το μοντέλο Arrhenius με τις τροποποιημένες του μορφές και
- το πολυωνυμικό μοντέλο.

Σε ορισμένες περιπτώσεις, εκτός από τα κινητικά μοντέλα χρησιμοποιούνται κατά τα μοντέλα πιθανοτήτων.

1.3.2.3. Τριτογενή Μοντέλα

Τα τριτογενή μοντέλα αποτελούν την ολοκληρωμένη εκδοχή της ποσοτικής μικροβιολογίας, καθώς συνδυάζουν την χρήση ενός ή περισσότερων πρωτογενών και δευτερογενών μοντέλων που ενσωματώνονται σε ένα λογισμικό με την βοήθεια του οποίου ο τελικός χρήστης, μέσω των τεχνικών μοντελοποίησης και των μαθηματικών εξισώσεων, αναπτύσσει τριτογενή μοντέλα. Το γεγονός αυτό καθιστά τη ποσοτική μικροβιολογία ένα δυναμικό και εύχρηστο εργαλείο που μπορεί να αξιοποιηθεί όχι μόνο στο χώρο της έρευνας αλλά και στη βιομηχανία τροφίμων, προκειμένου να προβλεφθεί η μικροβιακή αύξηση και να προληφθεί η αλλοίωση των τροφίμων. Το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών (USDA), έχει αναπτύξει το Pathogen Modeling Program (PMP, USDA) το οποίο χρησιμοποιεί την εξίσωση του Gompertz, σε συνδυασμό με πολυωνυμικά μοντέλα. Άλλα λογισμικά πακέτα είναι η βάση δεδομένων Combase, το Growth Predictor (McClure *et al.*, 1993) και το Seafood Spoilage Predictor (Dalgaard, 2002).

1.3.3.1. Δείκτες και κριτήρια αξιολόγησης των μοντέλων

Κατά την διαδικασία ανάπτυξης ενός μοντέλου, το τελευταίο στάδιο της αξιολόγησης και της επικύρωσής του είναι το πιο σημαντικό, καθώς καθιστά εφικτή ή όχι την εφαρμογή του σε πραγματικές συνθήκες. Η αξιολόγηση των μοντέλων διακρίνεται σε:

- εσωτερική αξιολόγηση (Internal Validation), η οποία πραγματοποιείται με τα ίδια δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη του μοντέλου και

- εξωτερική (External Validation), όπου η επικύρωση του μοντέλου γίνεται είτε με δεδομένα που έχουν αντληθεί από την βιβλιογραφία είτε με ανεξάρτητα εργαστηριακά πειράματα.

Η αξιολόγηση των μοντέλων αυτών πραγματοποιείται μέσω της χρήσης αριθμητικών δεικτών. Πιο συγκεκριμένα, ο Ross (1996) εισήγαγε τους συντελεστές μεροληψίας (Bias Factor) και ακριβείας (Accuracy Factor) για την αξιολόγηση των μοντέλων πρόβλεψης. Ο Συντελεστής Μεροληψίας (Bias Factor) (εξίσωση 1.9) δείχνει κατά πόσο το μοντέλο υπερεκτιμά ή υποεκτιμά τις πειραματικές μετρήσεις και μπορεί να πάρει τιμές μεγαλύτερες ή μικρότερες της μονάδας

$$Bias\ Factor = 10^{(\sum \log(\frac{\mu_{observed}}{\mu_{predicted}})/n)} \quad (Εξίσωση\ 1.9)$$

Όταν ο συντελεστής μεροληψίας είναι μεγαλύτερος της μονάδας σημαίνει ότι το μοντέλο υπερεκτιμά τη πραγματικότητα (fail dangerous) ενώ όταν είναι μικρότερος της μονάδας υποεκτιμά τη πραγματικότητα (fail safe), το οποίο είναι προτιμότερο. Ο Συντελεστής Ακριβείας (Accuracy Factor) (εξίσωση 1.10) δείχνει κατά πόσο οι προβλεπόμενες τιμές διαφέρουν ποσοτικά, δηλαδή κατά απόλυτη τιμή, από τις πειραματικές και παίρνει τιμές μεγαλύτερες της μονάδας.

$$Accuracy\ Factor = 10^{\sum |\log(\frac{\mu_{observed}}{\mu_{predicted}})|/n)} \quad (Εξίσωση\ 1.10)$$

Ο συντελεστής συσχέτισης R^2 , αποτελεί μαθηματικό κριτήριο που χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο στη σύγκριση των μοντέλων και δείχνει το ποσοστό της παραλλακτικότητας. Εκτός από το R^2 και το Προσαρμοσμένο R^2 (Adjusted R^2) (εξίσωση 1.11) χρησιμοποιείται ως κριτήριο καταλληλότητας του μοντέλου.

$$R^2_{adj} = 1 - \left(\frac{(n-i) \cdot (1-r^2)}{(n-p)} \right) \quad (Εξίσωση\ 1.11)$$

όπου,

$i=1$, όταν το μοντέλο περιλαμβάνει intercept

$i=0$, όταν το μοντέλο δεν περιλαμβάνει intercept

Πολύ σημαντικός στατιστικός δείκτης είναι επίσης η ρίζα του μέσου τετραγωνικού σφάλματος (RMSE) (εξίσωση 1.12):

$$\sqrt{\frac{\sum(\mu_{observed} - \mu_{predicted})^2}{df}} \quad (\text{Εξίσωση 1.12})$$

Επίσης ένας άλλος τρόπος αξιολόγησης είναι και ο προσδιορισμός των ορίων αποδοχής του μοντέλου (Acceptable Predicted Zone) Πιο συγκεκριμένα για να επιβεβαιώσει το μοντέλο του υπολόγισε αρχικά το σφάλμα πρόγνωσης (Prediction Error)

$$PE = O - P \quad (\text{Εξίσωση 1.13})$$

Όπου,

O: η τιμή παρατήρησης σε log

P: η τιμή πρόβλεψης σε log

PE: το σφάλμα πρόγνωσης

Όταν το Prediction Error πάρει τιμή <0 log τότε είμαστε σε περιοχή fail safe (ασφαλής περιοχή) ενώ όταν πάρει τιμή >0 log τότε είμαστε σε περιοχή fail dangerous (περιοχή κινδύνου) για τη πρόβλεψη.

Για τον χαρακτηρισμό του μοντέλου ως αποδεκτό ή μη εξετάζεται αν το σφάλμα πρόγνωσης ικανοποιεί την παρακάτω συνθήκη η οποία διαμορφώνει μια περιοχή-ζώνη αποδοχής-ασφαλείας (Acceptable Predicted Zone: APZ) (Oscar, 2009):

$$-1.0 \log < \text{acceptable PE} < 0.5 \log$$

Όπως είναι φανερό από την παραπάνω συνθήκη το APZ παρουσιάζει διπλάσιο πλάτος από την πλευρά της ασφαλούς αστοχίας και αυτό συμβαίνει διότι ένα σφάλμα, ακόμα και με μεγάλη τιμή, όταν βρίσκεται σε αυτή τη πλευρά μπορεί να χαρακτηριστεί ως αποδεκτό ειδικά για μοντέλο που αφορά την ασφάλεια του τροφίμου (Ross *et al.*, 2000).

Τέλος το ποσοστό του σφάλματος πρόγνωσης (%PE) στη ζώνη αποδοχής (APZ) όπως φαίνεται στην εξίσωση 1.14 υπολογίζεται και χρησιμοποιείται ως ένα συνολικό μέτρο απόδοσης του μοντέλου.

$$\%PE = \left(\frac{PE_{in}}{PE_{total}} \right) * 100 \quad (\text{Εξίσωση 1.14})$$

Όπου:

PE_{in}: ο αριθμός των σφαλμάτων πρόγνωσης (PE) που είναι μέσα στη ζώνη αποδοχής (APZ)

PE_{total}: είναι ο συνολικός αριθμός των σφαλμάτων πρόγνωσης (PE)

Οποιοδήποτε ποσοστό που ικανοποιεί την συνθήκη %PE>70% καθιστά το μοντέλο ικανό να παρέχει αποδεκτές προβλέψεις για το σύνολο των δεδομένων (Oscar, 2009).

1.4. Σκοπός Μελέτης

Είναι επιστημονικά αποδεκτό ότι ο γύρος εμπίπτει στην κατηγορία των ευαλλοίωτων προϊόντων. Δεδομένου του σύνολο των πρακτικών που ακολουθούνται (πολύαριθμες μεταχειρίσεις μέχρι το τελικό στάδιο παραγωγής και κατανάλωσης και πλημμελείς εμπορικές πρακτικές κατά τη διάρκεια της έψησης), της ποικιλίας της μικροχλωρίδας που μπορεί να υπάρξει στους νωπούς γύρους, της βακτηριακής ασφάλειας αλλά και των διαφορετικών μεγεθών αυτών, κρίνεται απαραίτητη η δυνατότητα πρόβλεψης της εξέλιξης της ανάπτυξης των παθογόνων αλλά και ταυτόχρονα της επίδρασης της ενδογενούς μικροχλωρίδας σε αυτή, σε συνάρτηση με την θερμοκρασία. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ανάπτυξη ενός παθογόνου μικροοργανισμού μπορεί να περιοριστεί σημαντικά από την ανάπτυξη των μη παθογόνων μικροοργανισμών που βρίσκονται ήδη στο τρόφιμο (Jia *et al.*, 2020; Al-Zeyara *et al.*, 2011). Έτσι, λαμβάνοντας υπόψιν τις παραπάνω ιδιαιτερότητες του νωπού γύρου, η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στην ποσοτικοποίηση της πιθανότητας και του δυναμικού αύξησης, μέσω της χρήσης μοντέλων πρόρρησης, επιλεγμένων παθογόνων (*Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* και *Clostridium sporogenes*) και αλλοιογόνων (ψευδομονάδες, οξυγαλακτικά βακτήρια, *Brochothrix thermosphacta*) μικροοργανισμών υπό διαφορετικά σενάρια θερμοκρασιακής έκθεσης, προσομοιάζοντας πιθανές εμπορικές πρακτικές έψησης γύρου. Γι' αυτόν τον λόγο, απαραίτητη κρίθηκε η αποτύπωση των πιθανών χρονοθερμοκρασιακών συνθηκών που αντιπροσωπεύουν τις πρακτικές έψησης και εν συνεχεία η προσομοίωση της συμπεριφοράς των εν δυνάμει επιμολύνσεων υπό αυτά τα σενάρια με εργαστηριακά πειράματα ηθελημένου εμβολιασμού. Επομένως, η δημιουργία ενός μαθηματικού μοντέλου βάσει πειραματικών αποτελεσμάτων για την πρόρρηση της ανάπτυξης των υπό εξέταση παθογόνων στο συγκεκριμένο προϊόν, θα αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο για την επιστήμη της μικροβιολογίας και την βιομηχανία.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματικός Σχεδιασμός

Η πειραματική προσέγγιση που ακολουθήθηκε στην παρούσα μελέτη περιγράφεται παρακάτω με την ακολουθία των σταδίων που έλαβαν χώρα:

ΣΤΑΔΙΟ 1^ο: Καταγραφή χρόνου-θερμοκρασιακών δεδομένων κατά την έψηση χοιρινού νωπού έναντι κατεψυγμένου

Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιήθηκε καταγραφή θερμοκρασιών σε συνάρτηση με το χρόνο με την βοήθεια ασύρματων θερμοκρασιακών καταγραφικών (ibutton data loggers) κατά τη διάρκεια εμπορικών πρακτικών έψησης του νωπού έναντι του κατεψυγμένου χοιρινού γύρου διαφορετικού μεγέθους (30, 60 και 180 kg). Το στάδιο αυτό κρίθηκε απαραίτητο, προκειμένου να καθοριστούν οι μέγιστες θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης θερμοκρασιακής ζώνης 5 – 60°C και συγκεκριμένα στα εσωτερικά (πλησίον της κάθετης βέργας) σημεία του νωπού συγκριτικά με τον κατεψυγμένο γύρο, καθώς και η χρονική διάρκεια παραμονής του γύρου σε αυτές τις θερμοκρασίες, μέχρι τη στιγμή της εξόδου από την επικίνδυνη ζώνη, την είσοδο στις θερμοκρασίες θερμικής καταστροφής (>60°C) και τελικώς τον τεμαχισμό. Όπως ήδη έχει αναφερθεί, ο νωπός γύρος παρασκευάζεται σε σημεία λιανικής πώλησης (ψησταριές). Σύμφωνα με τις νομικές απαιτήσεις τόσο τα τεμάχια κρέατος που χρησιμοποιούνται για τον γύρο όσο και ο «στημένος» γύρος μέχρι το ξεκίνημα του ψησίματος, πρέπει να παραμένουν σε χαμηλές θερμοκρασίες ψυγείου. Στην παρούσα μελέτη, η συνιστώμενη αυτή κατάσταση γύρου αντιπροσωπεύεται από τον νωπό γύρο. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη ότι συχνά δεν εφαρμόζονται τα παραπάνω και προσπαθώντας να γίνει προσομοίωση μιας κακής πρακτικής προετοιμασίας και συντήρησης του γύρου μέχρι την έναρξη της έψησης πέραν του νωπού και του κατεψυγμένου, μελετήθηκε και γύρος που «στήθηκε» με ζεστά τεμάχια κρέατος. Ο χρόνος έψησης ορίστηκε στις 8 ώρες περίπου λαμβάνοντας υπόψη τις υποδείξεις των εκπροσώπων της βιομηχανίας για τους συνήθεις χρόνους έψησης γύρου στα ψητοπωλεία με επικρατέστερες τις διάρκειες των 6 και 12 ωρών που αντιστοιχούν στην έψηση ενός ή δύο γύρων, αντίστοιχα, ημερησίως.

ΣΤΑΔΙΟ 2^ο: Συλλογή δεδομένων του δυναμικού αύξησης παθογόνων κατά την παραμονή του γύρου σε θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης ζώνης 5-60°C.

A. Η συλλογή δεδομένων από πειράματα ηθελημένου εμβολιασμού (challenge tests) εμπορικού νωπού χοιρινού γύρου πραγματοποιήθηκε με στόχο την αποτύπωση του δυναμικού αύξησης μικροοργανισμών κρίσιμης σημασίας, τόσο παθογόνων (*Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, και *Clostridium perfringens* [σποριογόνο]) όσο και αλλοιογόνων (*Pseudomonas* sp., οξυγαλακτικά βακτήρια, *Brochothrix thermosphacta* και OMX) κατά την παραμονή του σε θερμοκρασίες που έχουν καταγραφεί στο εσωτερικό του, με τη βοήθεια ασύρματων καταγραφικών. Η παράλληλη παρακολούθηση της εξέλιξης της ενδογενούς αλλοιογόνου χλωρίδας κρίθηκε σκόπιμη λόγω της φύσης του προϊόντος. Συγκεκριμένα, ο γύρος λόγω των πολλαπλών μεταχειρίσεων που επιδέχεται μέχρι να ετοιμαστεί (τεμαχισμός και μαρινάρισμα) αναμένεται υψηλή αρχική ενδογενή μικροχλωρίδα, η οποία δύναται να παρεμποδίζει την αύξηση των παθογόνων μικροοργανισμών ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης ζώνης 5 – 60°C. Επιπλέον στόχος ήταν να εξεταστεί το ενδεχόμενο η αλλοίωση του κρέατος να προηγείται της αύξησης των παθογόνων, άρα και της υποβάθμισης της ασφάλειας του κρέατος. Οι θερμοκρασίες που συλλέχθηκαν τα ανωτέρω δεδομένα αφορούν σε θερμοκρασίες που υποστηρίζεται η μικροβιακή αύξηση (10, 20, 30, 40 και 45°C). Επιπλέον, τα πειράματα συντήρησης ενοφθαλμισμένου με παθογόνα γύρο λαμβάνουν χώρα σε μικροαερόφιλες συνθήκες (περιορισμένου οξυγόνου) προσομοιάζοντας το εσωτερικό του γύρου.

B. Έπειτα πραγματοποιήθηκε σύγκριση των πειραματικών δεδομένων αύξησης των επιλεγμένων παθογόνων σε νωπό χοιρινό γύρο με υπάρχοντα μαθηματικά μοντέλα της βιβλιογραφίας για την πρόρρηση της συμπεριφοράς των εν λόγω παθογόνων σε χοιρινά τεμάχια κρέατος και κιμά. Η παραπάνω σύγκριση είχε στόχο την εξέταση της αναγκαιότητας ανάπτυξης νέων μοντέλων πρόβλεψης της ανάπτυξης των εξεταζόμενων παθογόνων ή η δυνατότητα χρήσης ήδη υπαρχόντων μοντέλων.

ΣΤΑΔΙΟ 3^ο: Προσομοίωση της αύξησης των εξεταζόμενων παθογόνων μικροοργανισμών συγκριτικά κατά την έψηση νωπού και κατεψυγμένου χοιρινού γύρου με την χρήση μαθηματικών μοντέλων.

Στο στάδιο αυτό χρησιμοποιώντας τα χρονο-θερμοκρασιακά προφίλ (ΣΤΑΔΙΟ 1^ο) και τα εργαστηριακά αποτελέσματα αύξησης παθογόνων (ΣΤΑΔΙΟ 2^ο), πραγματοποιήθηκε προσομοίωση της αύξησης των εξεταζόμενων παθογόνων μικροοργανισμών συγκριτικά κατά την έψηση νωπού και κατεψυγμένου χοιρινού γύρου, προκειμένου να προσδιοριστεί η αύξηση των μικροβιακών πληθυσμών σε πραγματικές συνθήκες έψησης.

ΣΤΑΔΙΟ 4^ο: Επικύρωση των μοντέλων

Στο τελευταίο στάδιο πραγματοποιήθηκε επικύρωση των ανωτέρω αποτελεσμάτων σε εμβολιασμένους γύρους υπό τις συνθήκες έψησης που θα καταδείξουν τη μεγαλύτερη επικινδυνότητα σύμφωνα με τις προβλέψεις των μοντέλων. Με βάση τα δεδομένα αύξησης (καμπύλες αύξησης) των παθογόνων που συλλέχθηκαν σε προηγούμενο στάδιο αναπτύχθηκαν μαθηματικά μοντέλα για τους εξεταζόμενους παθογόνους μικροοργανισμούς και για τον κυρίαρχο αλλοιογόνο μικροοργανισμό (οξυγαλακτικά βακτήρια). Τα μοντέλα που επιλέχθηκαν να επικυρωθούν σε δύο χρονο-θερμοκρασιακά προφίλ έψησης (τόσο από νωπό όσο και κατεψυγμένο χοιρινό γύρο) αντιστοιχούν σε δύο εκ των παθογόνων μικροοργανισμών που μελετήθηκαν, την *Salmonella* spp. (εντερικός παθογόνος) και το *C. sporogenes* (σποριογόνο βακτήριο), οι οποίοι παρουσίασαν σημαντικό δυναμικό αύξησης συγκριτικά με *E. coli* O157:H7 και *Staph.aureus*. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν το προφίλ έψησης της 1 ημέρας με 7–8 ώρες συνεχόμενης έψησης το οποίο αντιστοιχούσε στο κάτω μέρος του νωπού γύρου των 30 kg δεδομένου ότι ήταν αυτό που παρουσίασε τον μικρότερο χρόνο παραμονής στην επικίνδυνη θερμοκρασιακή ζώνη για την ανάπτυξη μικροοργανισμών – worst case scenario) και των 2 ημερών που προσομοίαζε πιθανές λανθασμένες πρακτικές όπου ο γύρος ο οποίος δεν έχει καταναλωθεί την πρώτη ημέρα, αποθηκεύεται υπό ψύξη και την επόμενη μέρα συνεχίζεται η έψησή του εναπομείναντος γύρου (7-8 ώρες συνεχόμενης έψησης, ενδιάμεση παραμονή για 12 ώρες στην ψύξη και εκ νέου έψηση για 4 ώρες). Η ακριβής πρόβλεψη των μαθηματικών μοντέλων ελέγχθηκε πειραματικά εξετάζοντας επιπλέον παραμέτρους όπως το αρχικό επίπεδο επιμόλυνσης των εξεταζόμενων παθογόνων έναντι των οξυγαλακτικών βακτηρίων (κυρίαρχος αλλοιογόνος).

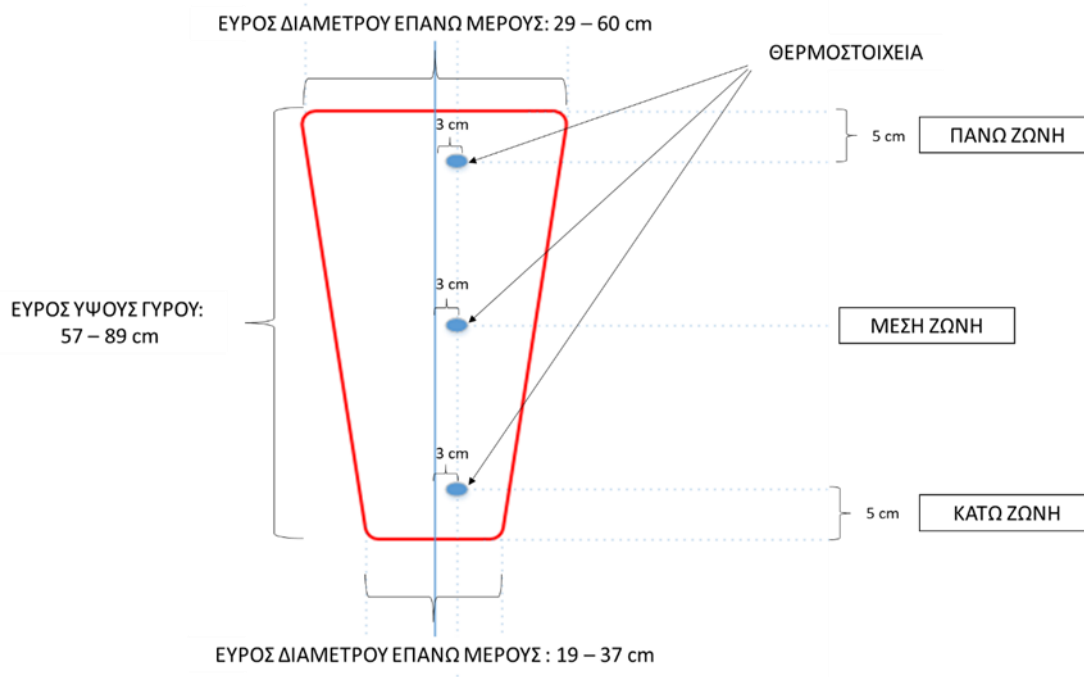
2.2. Μεθοδολογία

2.2.1. Καταγραφή χρονο-θερμοκρασιακών δεδομένων κατά την έψηση χοιρινού νωπού έναντι κατεψυγμένου γύρου

Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιήθηκε καταγραφή θερμοκρασιών σε συνάρτηση με το χρόνο με την βοήθεια ασύρματων θερμοκρασιακών καταγραφικών (ibutton data loggers) (Εικόνα 2.1.) κατά τη διάρκεια εμπορικών πρακτικών έψησης του νωπού έναντι του κατεψυγμένου χοιρινού γύρου διαφορετικού μεγέθους (30, 60 και 180 kg). Η τοποθέτηση των ασύρματων καταγραφικών έγινε κατά το στάδιο της προετοιμασίας του γύρου , με τέτοιο τρόπο ώστε να καταγραφεί η θερμοκρασία στις τρεις νοητές ζώνες διαχωρισμού του γύρου (πάνω, κάτω και μέση). (Εικόνα 2.2.) Η χρονική διάρκεια της καταγραφής ορίστηκε στις 8 ώρες για τους λόγους που έχουν ήδη καταγραφεί προηγουμένως.



Εικόνα 2.1. Τα ασύρματα καταγραφικά θερμοκρασίας (ibutton data loggers) και τα εξαρτήματά τους που χρησιμοποιήθηκαν.



Εικόνα 2.2. Απεικόνιση των σημείων που τοποθετήθηκαν τα ασύρματα καταγραφικά θερμοκρασίας (ibutton data loggers) κατά το «στήσιμο» του χοιρινού γύρου διαφορετικών διαμέτρων και βάρους (30, 60 και 180 kg) για την παρακολούθηση της θερμοκρασίας που υπήρχε στο εν δυνάμει «ψυχρότερο σημείο» (κοντά στη βέργα στήριξης) κατά την διάρκεια ρεαλιστικής έψησης διάρκειας 8 – 10 ωρών.

2.2.2. Τα στελέχη των μικροοργανισμών

Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκαν τρεις παθογόνοι μικροοργανισμοί *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 και *Staphylococcus aureus* και ένας σποριογόνος μικροοργανισμός *Clostridium botulinum*. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ένα κοκτέιλ που αποτελούταν από δύο-τρία στελέχη από το κάθε παθογόνο μικροοργανισμό:

- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium 4/74, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium DT193, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritis PT4)
- *Escherichia coli* O157:H7 (B15, B16 και B18)
- *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* subsp. *aureus* Rosenbach 134 και 135)
- *Clostridium sporogenes* (19404 και 11437), το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως υποκατάστατο (surrogate) του παθογόνου σπορογόνου βακτηρίου *Clostridium botulinum* (Taylor et al., 2013).

Τα στελέχη αυτά προήλθαν από την συλλογή που διατηρεί το Εργαστήριο Ποιοτικού Ελέγχου και Υγιεινής Τροφίμων και Ποτών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Τα στελέχη διατηρούνταν αποθηκευμένα χωριστά στους -20°C σε Tryptic Soy Broth (TSB) (OXOID, UK) που περιείχε 20% v/v γλυκερόλη. Κατά την διάρκεια των πειραμάτων οι μικροοργανισμοί διατηρούνταν σε τριβλύα Trypton Soy Agar (TSA) (OXOID, UK) στους 4°C, τα οποία ανανεώνονταν κάθε μήνα.

2.2.3. Προετοιμασία εμβολίου

2.2.3.1. Προετοιμασία εμβολίου *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 και *Staphylococcus aureus*

Για την ανανέωση των μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά μία αποικία από κάθε στέλεχος ξεχωριστά από το αντίστοιχο τριβλύο η οποία μεταφερόταν με την βοήθεια ενός μικροβιολογικού κρίκου σε 10ml Tryptic Soy Broth (TSB) (OXOID, UK) και επώαζονταν στους 37°C για 24 ώρες. Με το πέρας των 24 ωρών, ποσότητα ίση με 100 μl μεταφερόταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες με 10ml Tryptic Soy Broth (TSB) (OXOID, UK) και επώαζονταν εκ νέου σε θερμοκρασία 37°C για 18 ώρες. Στη συνέχεια, ακολουθούσε ο καθαρισμός του εμβολίου, κατά τον οποίο το περιεχόμενο κάθε δοκιμαστικού σωλήνα φυγοκεντρώνταν () στις 3600 στροφές/ min για 10min στους 4°C. Ύστερα το υπερκείμενο από κάθε σωλήνα απορριπτόταν και ακολουθούσε επαναιώριση σε 10mL αποστειρωμένου ισοτονικού διαλύματος Ringer (OXOID, UK). Ακολουθούσαν δύο άλλες φυγοκεντρήσεις και μετά την τελευταία απαναιώριση, τα στελέχη αναμειγνύονταν σχηματίζοντας ένα κοκτέιλ με τελική συγκέντρωση κυττάρων περίπου 8.0 log CFU/mL, 9.0 log CFU/mL, και 8.0 log CFU/mL για *Salmonella* sp., *E. coli* O157:H7 και *S. aureus*, αντίστοιχα. Οι παραπάνω πληθυσμοί προσδιορίστηκαν με επίστρωση 0.1 mL από την κατάλληλη δεκαδική αραιώση:

- σε Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) (OXOID, UK) και επώαση για 24 ώρες στους 37°C για την σαλμονέλα,
- σε Sorbitol MacConkey Agar με προσθήκη Cefixime Tellurite (CT-SMAC) (OXOID, UK) και επώαση για 24 ώρες στους 37°C για το *E. coli* O157:H7 και
- σε Baird-parker Agar με προσθήκη Egg Yolk Tellurite (BP) (OXOID, UK) και επώαση για 48 ώρες στους 37°C για τον *S. aureus*.

2.2.3.2. Προετοιμασία εμβολίου *Clostridium sporogenes*

Για την προετοιμασία του εμβολίου με *C. sporogenes*, κάθε στέλεχος ξεχωριστά αναπτύχθηκε σε φιαλίδια τα οποία περιείχαν 50mL Reinforced Clostridial Medium Agar (RCM)(LABM, Lancashire, UK) και τα οποία είχαν πληρεί με άζωτο, ώστε να

διασφαλιστούν οι αναερόβιες συνθήκες ανάπτυξης που απαιτεί ο μικροοργανισμός αυτός και τοποθετήθηκαν για επώαση στους 37°C για 24h. Έπειτα 100 μ L από κάθε στέλεχος μεταφέρονταν σε 50mL RCM ώστε να επωαστούν για 18 h στους 37°C. Στη συνέχεια, 10mL από κάθε στέλεχος μεταφερόταν σε ξεχωριστούς δοκιμαστικούς σωλήνες και ακολουθούσε ο καθαρισμός του εμβολίου, κατά τον οποίο το περιεχόμενο κάθε δοκιμαστικού σωλήνα φυγοκεντρώνταν (Megafuge 1.0R, Heraeus, Buckinghamshire, England) στις 3600 στροφές/min για 10min στους 4°C. Ύστερα το υπερκείμενο από κάθε σωλήνα απορριπτόταν και ακολουθούσε επαναιώριση σε 10ml αποστειρωμένου ισοτονικού διαλύματος Ringer (1/4 strength Ringer, OXOID, UK). Ακολουθούσαν δύο άλλες φυγοκεντρήσεις και μετά την τελευταία απαναιώριση, τα στελέχη αναμειγνύονταν σχηματίζοντας ένα κοκτέιλ τελικής συγκέντρωσης κυττάρων 10.0 log CFU/mL. Το επίπεδο του εμβολίου προσδιορίστηκε με ενσωμάτωση 10 mL από την κατάλληλη δεκαδική αραιώση του μίγματος στελεχών σε σωλήνες των 50 mL που περιείχαν 20 mL SPS Agar και στη συνέχεια καλύφθηκαν με 2 mL παραφινέλαιου για να εξασφαλιστούν οι αναερόβιες συνθήκες. Οι σωλήνες επώαστηκαν στους 37°C για 24-48 ώρες.

2.2.4. Προετοιμασία δειγμάτων χοιρινού γύρου

Για την προετοιμασία των δειγμάτων χοιρινού γύρου χρησιμοποιήθηκε φρέσκος γύρος χοιρινός ο οποίος τεμαχίστηκε σε επιφάνεια κοπής κάτω από ασυπτικές συνθήκες σε τεμάχια (5x5 cm) και στη συνέχεια συσκευάστηκε σε πλαστικές σακούλες υπό κενό και αποθηκεύτηκε στους -20°C μέχρι τον εμβολιασμό τους.

2.2.5. Εμβολιασμός δειγμάτων χοιρινού γύρου

Για τον εμβολιασμό των δειγμάτων χοιρινού γύρου (5x5) χρησιμοποιήθηκε κοκτέιλ στελεχών των μικροοργανισμών *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* και *Clostridium sporogenes*. Στη συνέχεια, τα τεμάχια γύρου χοιρινού διαχωρίζονταν ανά τρία και εμβολιάζονταν. Πιο συγκεκριμένα, όγκος 25 μ L κατάλληλα αραιωμένου εμβολίου ανά μίγμα στελεχών παθογόνου επιστρώθηκε σε κάθε πλευρά του τεμαχίου κρέατος (συνολικά επιφάνεια 50 cm² ανά τεμάχιο). Το αρχικό εμβόλιο ανά δείγμα ήταν 2.5 – 3.0 log CFU/cm² για όλα τα πειράματα ηθελημένου εμβολιασμού που πραγματοποιήθηκαν. Ακολούθως, όλα τα εμβολιασμένα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους 4°C για 15 λεπτά για να επιτευχθεί η προσκόλληση των κυττάρων. Μετά το πέρας της προσκόλλησης και τοποθετούνταν τον ένα πάνω στο άλλο ανά τρία μέσα σε πλαστικές σακούλες με διαπερατότητα αερίου περίπου 25, 90, και 6 cm³/m² ανά ημέρα/105 Pa για CO₂, O₂ και N₂, στους 20°C και 50% σχετική υγρασία (Flexo-Pack S.A., Αθήνα, Ελλάδα), ώστε να

συσκευαστούν υπό κενό (Henko Vac 1900 Machine, Howden Food Equipment B.V., The Netherlands), με στόχο την μίμηση των μικροαερόφιλων συνθηκών που επικρατούν στο εσωτερικό του γύρου. Όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν στους 10°C (με εξαίρεση τους 12°C για τον μικροοργανισμό *C.sporogenes*), 20°C , 30°C , 40°C και 45°C .

2.2.6. Μικροβιολογική ανάλυση

Κατά την μικροβιακή ανάλυση σε δείγματα τα οποία είχαν τοποθετηθεί σε θερμοκρασίες 10°C ή 12°C (για τον μικροοργανισμό *C.sporogenes*), 20°C , 30°C , 40°C , 45°C πραγματοποιούνταν δειγματοληψία ανά τακτά χρονικά διαστήματα ώστε να περιγραφεί η καμπύλη ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Κατά τις δειγματοληψίες, σε κάθε δείγμα που αποτελούνταν από τρία τεμάχια γύρου (5X5) προστέθηκαν αποστειρωμένο ισοτονικό διάλυμα Ringer ($\frac{1}{4}$ strength Ringer, OXOID,UK) μέχρι να φθάσει τελική συγκέντρωση 1:5 κάτω από ασηπτικές συνθήκες. Έπειτα, τα δείγματα ομοιογενοποιούνταν μέσα σε σακούλα Stomacher (Interscience, France), για 60 δευτερόλεπτα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ακολούθησε η παρασκευή των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων με μεταφορά 1mL δείγματος προηγούμενης αραιώσης σε 9mL αποστειρωμένου διαλύματος Ringer (OXOID,UK). Οι κατάλληλες, ανά κάθε περίπτωση, δεκαδικές αραιώσεις χρησιμοποιήθηκαν για τον ενοφθαλμισμό σειράς τριβλύων για κάθε χρησιμοποιούμενο μικροβιολογικό υπόστρωμα. Τα υλικά και οι συνθήκες επώασης ανά κατηγορία μικροοργανισμού ήταν οι εξής:

- **Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX):** Ποσότητα 0,1 ml από τη σειρά των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων ομογενοποιημένου δείγματος, ενοφθαλμίστηκε με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης σε μη επιλεκτικό υπόστρωμα Tryptone Soya Agar (TSA) (Oxoid, UK). Ακολούθησε επώαση στους 30°C για 2 ημέρες και καταμέτρηση των αποικιών.
- **Ψευδομονάδες (*Pseudomonas* spp.):** Ποσότητα 0,1 ml από τη σειρά των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων ομογενοποιημένου δείγματος, ενοφθαλμίστηκε με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης σε επιλεκτικό υπόστρωμα *Pseudomonas* Agar Base (OXOID,UK με την προσθήκη των αντιβιοτικών C.F.C cetrimide- flucidin-cephalosporix) (SR0103). Ακολούθησε επώαση στους 30°C για 2 ημέρες και καταμέτρηση των αποικιών.
- **Οξυγαλακτικά Βακτήρια (Lactic Acid Bacteria, LAB):** Ποσότητα 1 ml από τη σειρά των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων ομογενοποιημένου δείγματος, ενοφθαλμίστηκε με την τεχνική της ενσωμάτωσης σε επιλεκτικό υπόστρωμα MRS

Agar (OXOID, UK) και ακολούθησε επικάλυψη του εμβολίου με το ίδιο υπόστρωμα. Ακολούθησε επώαση στους 30°C για 2 ημέρες και καταμέτρηση των αποικιών.

- ***Brochothrix thermosphacta*:** Ποσότητα 0,1 ml από τη σειρά των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων ομογενοποιημένου δείγματος, ενοφθαλμίστηκε με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης στο επιλεκτικό υπόστρωμα STAA Agar Base (OXOID, UK με την προσθήκη του αντιβιοτικού streptomycin sulphate, thallos acetate και cycloheximide) (SR0162). Ακολούθησε επώαση στους 25°C για 2 ημέρες και καταμέτρηση των αποικιών.
- ***Clostridium botulinum*:** Για την ανίχνευση των βλαστικών κυττάρων του *C. perfringens*, ποσότητα 10 ml από το ομογενοποιημένο δείγμα μεταφέρθηκε σε 20 ml από το επιλεκτικό υπόστρωμα SPS Agar (Merck, Italy) μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα και ακολούθησε επικάλυψη με 2 ml αποστειρωμένου παραφινελαίου, ώστε να διασφαλιστούν οι αναερόβιες συνθήκες ανάπτυξης που απαιτεί ο μικροοργανισμός αυτός. Ακολούθησε επώαση για 1 ημέρα στους 37°C και καταμέτρηση των αποικιών.
- ***Salmonella enteritica*:** Ποσότητα 0,1 ml από τη σειρά των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων ομογενοποιημένου δείγματος, ενοφθαλμίστηκε με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης σε επιλεκτικό υπόστρωμα Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar (XLD) (Oxoid, UK). Ακολούθησε επώαση στους 37°C για 1 ημέρες και καταμέτρηση των αποικιών.
- ***Escherichia coli* O157:H7:** Ποσότητα 0,1 ml από τη σειρά των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων ομογενοποιημένου δείγματος, ενοφθαλμίστηκε με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης σε επιλεκτικό υπόστρωμα Sorbitol MacConkey Agar με προσθήκη Cefixime Tellurite (LABM, Lancashire, UK) (ct-SMAC). Ακολούθησε επώαση στους 37°C για 1 ημέρες και καταμέτρηση των αποικιών.
- ***Staphylococcus aureus*:** Ποσότητα 0,1 ml από τη σειρά των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων ομογενοποιημένου δείγματος, ενοφθαλμίστηκε με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης σε επιλεκτικό υπόστρωμα Baird-parker Agar Base (OXOID,UK) με Egg Yolk Tellurite (SR0054). Ακολούθησε επώαση στους 37°C για 1 ημέρες και καταμέτρηση των αποικιών.

Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι πραγματοποιήθηκε μικροβιακή ανάλυση μη εμβολιασμένου φρέσκου γύρου σε TSA προκειμένου να προσδιοριστεί η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) του, ενώ η επώαση πραγματοποιούνταν σε θαλάμους επώασης υψηλής ακρίβειας (± 0.5 °C) (MIR-153, Sanyo Electric Co., Osaka, Japan). Ανά παθογόνο,

πραγματοποιήθηκαν δύο ανεξάρτητες πειραματικές δοκιμές, κάθε δείγμα προερχόταν από διαφορετική συσκευασία και δύο ανεξάρτητες συσκευασίες αναλύονταν σε κάθε σημείο δειγματοληψίας (n=4).

2.2.7. Μοντελοποίηση αποτελεσμάτων

2.2.7.1. Πρωτογενές Μοντέλο-Μοντέλο Baranyi and Roberts

Προκειμένου να υπολογιστούν τις κινητικές παραμέτρους που περιγράφουν τις καμπύλες ανάπτυξης των στελεχών των παθογόνων μικροοργανισμών ((*Salmonella* spp., *E. coli* 0157: H7, *S. aureus* και *C. Sporogenes*)) με τους οποίους ηθελήμενα εμβολιάσαμε τα δείγματα γύρου χοιρινού, αλλά και των οξυγαλακτικών βακτηρίων, καθώς επέδειξαν σημαντικό δυναμικό αύξησης συγκριτικά με τους υπόλοιπους αλλοιογόνους μικροοργανισμούς, αρχικά, κατασκευάστηκαν καμπύλες αύξησης με τους πληθυσμούς (log CFU/cm²) ανά μικροοργανισμό συναρτήσει του χρόνου παραμονής (ώρες) στην εκάστοτε θερμοκρασία και στη συνέχεια, τα πρωτογενή δεδομένα προσαρμόστηκαν στο μοντέλο ανάπτυξης Baranyi and Roberts (Baranyi & Roberts, 1995) μέσω του λογισμικού DMFit, το οποίο περιγράφεται με τις παρακάτω εξισώσεις:

$$Y(t) = Y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{\exp[\mu_{\max} A(t)] - 1}{\exp(Y_{\max} - Y_0)} \right\} \quad (\text{Εξίσωση 2.1})$$

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln [\exp(-\mu_{\max} t) + \exp(-h_0) - \exp(-\mu_{\max} t - h_0)] \quad (\text{Εξίσωση 2.2})$$

όπου Y_0 αφορά στον δεκαδικό λογάριθμο του αρχικού μικροβιακού πληθυσμού, $Y_{\max}$ αφορά στον δεκαδικό λογάριθμο του μέγιστου μικροβιακού πληθυσμού, $Y(t)$ αφορά στον δεκαδικό λογάριθμο του μικροβιακού πληθυσμού την χρονική στιγμή t , $\mu_{\max}$ είναι ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης και h_0 είναι η φυσιολογική κατάσταση του υπό μελέτη μικροοργανισμού. Το μοντέλο αυτό είναι μηχανιστικό, σύμφωνα με το οποίο το κύτταρο εισέρχεται σε μια φάση προσαρμογής προκειμένου να συνθέσει μια ουσία $q(t)$ και η οποία θεωρείται κρίσιμη για την αύξηση του. Έπειτα από αυτό το στάδιο, τα κύτταρα έχουν προσαρμοστεί στο περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται και αυξάνονται εκθετικά μέχρι την χρονική στιγμή στην οποία περιορίζεται κάποιο από τα θρεπτικά στοιχεία του υποστρώματος στο οποίο αναπτύσσεται ή παρατηρείται συγκέντρωση τοξικών προϊόντων του μεταβολισμού (Robin C. Mckellar, 2004). Ως αποτέλεσμα, προσδιορίστηκαν οι τέσσερις εξής κινητικές παράμετροι:

- μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ($\mu_{\max}$; h⁻¹),
- ο χρόνος προσαρμογής (λ ; h),

- ο αρχικός μικροβιακός πληθυσμός (Y_0 ; log CFU/cm²) και
- ο μέγιστος μικροβιακός πληθυσμός (Y_{max} ; log CFU/cm²) για *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *S. aureus*, *C. sporogenes* και οξυγαλακτικά βακτήρια ανά θερμοκρασία.

2.2.7.2. Δευτερογενές Μοντέλο

Ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max} ; h⁻¹) για *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *S. aureus*, *C. sporogenes* και τα οξυγαλακτικά βακτήρια μοντελοποιήθηκε δευτερογενώς συναρτήσει της θερμοκρασίας χρησιμοποιώντας το μοντέλο Cardinal Model with Inflection (Rosso et al., 1993) (εξίσωση 2.3):

$$\mu = \frac{\mu_{opt}(T - T_{max})(T - T_{min})^2}{(T_{opt} - T_{min})[(T_{opt} - T_{min})(T - T_{opt}) - (T_{opt} - T_{max})(T_{opt} + T_{min} - 2T)]} \quad (\text{Εξίσωση 2.3})$$

όπου T_{opt} , T_{min} και T_{max} αποτελούν τις θεωρητικές τιμές της άριστης, της ελάχιστης και της μέγιστης θερμοκρασίας ανάπτυξης, αντίστοιχα, ενώ μ_{opt} είναι ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης στην άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης του εξεταζόμενου μικροοργανισμού. Το πρόγραμμα Pathogen Modelling Program (PMP 2013, USDA, Wyndmoor, PA) χρησιμοποιήθηκε για την προσαρμογή των δεδομένων στο δευτερογενές μοντέλο.

Η καταλληλότητα της προσαρμογής (goodness-of-fit) των αναπτυχθέντων δευτερογενών μοντέλων εκτιμήθηκε με τον προσδιορισμό των παραμέτρων R^2 και το RMSE (Root Mean Square Error), το οποίο είναι ευρέως αποδεκτό ως καλύτερο κριτήριο συγκριτικά με το R^2 τόσο για γραμμικά όσο και για μη γραμμικά μοντέλα (Ratkowsky, 2004).

2.2.7.3. Επικύρωση των μοντέλων

Κατά το στάδιο της επικύρωσης των μοντέλων αύξησης επιλέχθηκαν τα μοντέλα αύξησης που αφορούν τον εντερικό παθογόνο *Salmonella* spp. και το σπορογόνο βακτήριο *C. sporogenes* έναντι των οξυγαλακτικών βακτηρίων (κυρίαρχος αλλοιογόνος). Τα πειραματικά σενάρια που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακα 2.1. Πειραματικές περιπτώσεις που μελετήθηκαν με στόχο προσομοίωση της αύξησης των παθογόνων *Salmonella* spp. και *C. sporogenes* έναντι των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την εψηση νωπού και κατεψυγμένου χοιρινού γύρου.

ΧΟΙΡΙΝΟΣ ΓΥΡΟΣ	ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΑΤΟΣ *	ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ
			ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΚΗΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ **
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ

* ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ: 2.5-3.0 log CFU/cm² & ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ: 4.5-5.0 log CFU/cm²

** 1 ΗΜΕΡΑΣ: 7-8 ΩΡΕΣ ΣΥΝΕΧΟΜΕΝΗΣ ΕΨΗΣΗΣ & 2 ΗΜΕΡΩΝ: 7-8 ΩΡΕΣ ΕΨΗΣΗΣ, ΕΝΔΙΑΜΕΣΗ ΠΑΡΑΜΟΝΗ ΓΙΑ 12 ΩΡΕΣ ΥΠΟ ΨΥΞΗ ΚΑΙ ΕΚ ΝΕΟΥ ΕΨΗΣΗ ΓΙΑ 4 ΩΡΕΣ.

Στην περίπτωση του νωπού γύρου, η θερμοκρασιακή προσομοίωση της μεταχείρισης και έψησης λάμβανε χώρα την ίδια μέρα του ενοφθαλμισμού σε τεμάχια νωπού γύρου (5 x 5 cm) (ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ: 2.5-3.0 log CFU/cm² & ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ: 4.5-5.0 log CFU/cm²), ενώ στην περίπτωση του κατεψυγμένου γύρου μετά τον ενοφθαλμισμό ακολουθούσε αποθήκευση των τεμαχίων σε συνθήκες κατάψυξης (-20°C) για περίπου 8 ώρες σύμφωνα με τα αντίστοιχα χρονο-θερμοκρασιακά προφίλ. Λόγω των αντικειμενικών δυσχερειών να πραγματοποιηθεί η επικύρωση των μαθηματικών μοντέλων σε πραγματικό γύρο, η προσομοίωση της διαδικασίας μεταχείρισης και έψησης έλαβε χώρα σε μεμονωμένα λεπτά τεμάχια γύρου συσκευασμένα σε κενό, τα οποία προστέθηκαν σε υδατόλουτρο μεταβάλλοντας τη θερμοκρασία ώστε να εξεταστούν τα δύο διαφορετικά σενάρια. Η παραπάνω τεχνική με την χρήση υδατόλουτρου χρησιμοποιείται ευρέως στην βιβλιογραφία για την εργαστηριακή αναπαραγωγή της θερμικής επεξεργασίας. Συγκεκριμένα, με αυτόν τον τρόπο έχει μελετηθεί η θερμική απενεργοποίηση του παθογόνου *Listeria monocytogenes* σε ντονέρ κεμπάπ (Haskaracaa et al. 2019) αλλά και η αύξηση του εν λόγω παθογόνου σε κιμά υπό ισόθερμες συνθήκες (Juneja et al. 2009). Τα δύο σενάρια που μελετήθηκαν στην

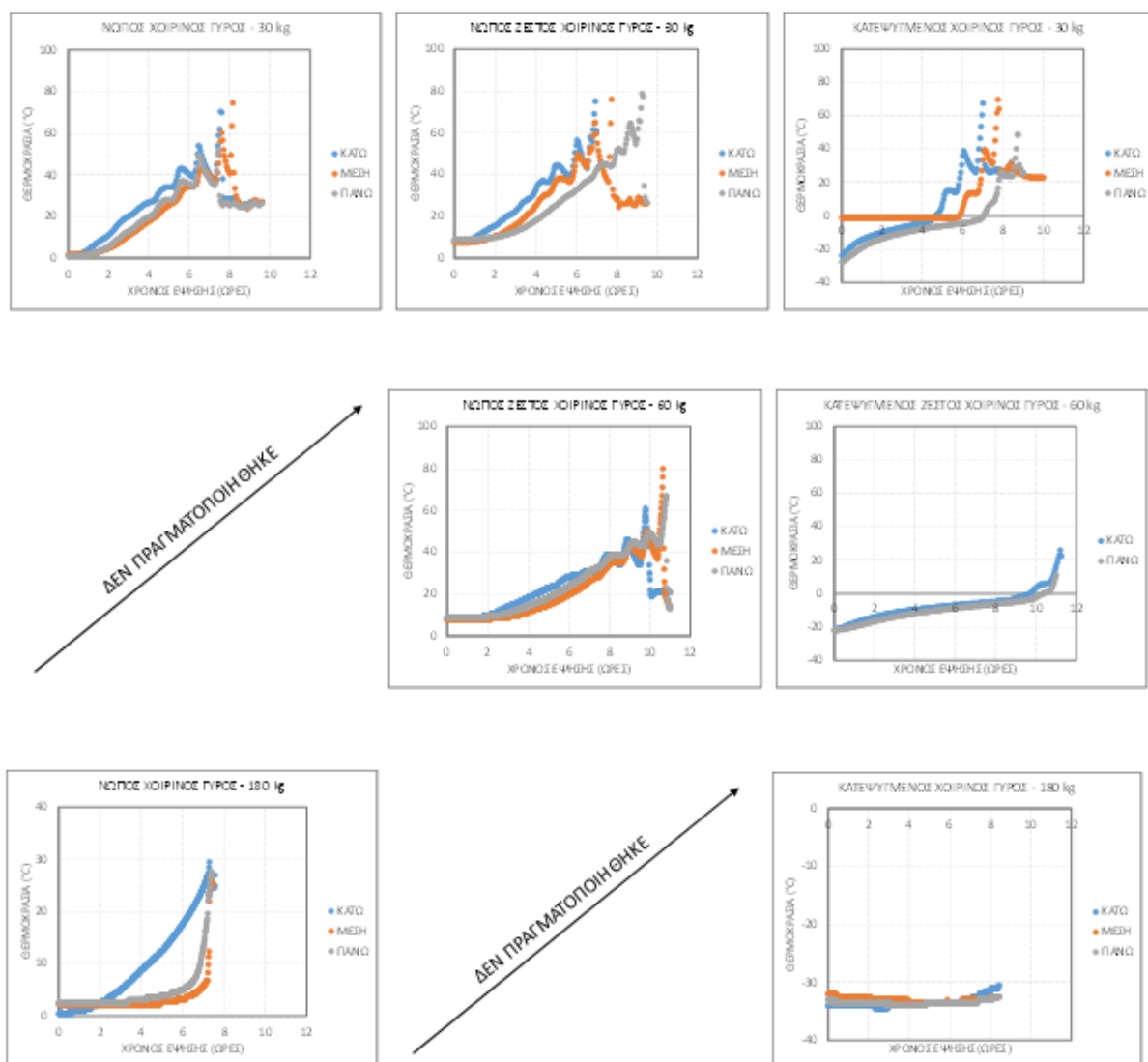
επικύρωση ήταν: (i) της 1 ημέρας: 7 – 8 ώρες συνεχόμενης έψησης και (ii) των 2 ημερών: 7 – 8 ώρες συνεχόμενης έψησης, ενδιάμεση παραμονή για 12 ώρες στην ψύξη και εκ νέου έψηση για 4 ώρες. Το σενάριο έψησης της 1 ημέρας επιλέχθηκε από τα προφίλ έψησης και αφορούσε στο κάτω μέρος του νωπού γύρου των 30 kg. Η επιλογή του συγκεκριμένου προφίλ έγινε καθώς αυτό παρουσίασε τον μικρότερο χρόνο παραμονής στην επικίνδυνη θερμοκρασιακή ζώνη για την ανάπτυξη μικροοργανισμών (worst case scenario). Όσον αφορά το σενάριο έψησης 2 ημερών, προσομοίαζε πιθανές λανθασμένες πρακτικές όπου ο γύρος ο οποίος δεν έχει καταναλωθεί την πρώτη ημέρα αλλά αποθηκεύεται υπό ψύξη και την επόμενη μέρα συνεχίζεται η έψησή του. Οι δειγματοληψίες λάμβαναν χώρα ανά τακτά χρονικά διαστήματα ενώ πραγματοποιήθηκε παρακολούθηση της θερμοκρασίας με θερμοζεύγη τύπου K. Κάθε δείγμα προήλθε από διαφορετική συσκευασία και δύο ανεξάρτητες συσκευασίες αναλύονταν σε κάθε σημείο δειγματοληψίας (n=4).

Η συμφωνία μεταξύ των προβλέψεων και των παρατηρήσεων των πληθυσμών των παθογόνων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων εκτιμήθηκε με την χρήση των παραγόντων ακρίβειας (accuracy factor – Af) και μεροληψίας (bias factor – Bf).

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Αποτελέσματα καταγραφής των θερμοκρασιών σε συνάρτηση με το χρόνο κατά την έψηση νωπού χοιρινού γύρου έναντι κατεψυγμένου

Κατά το πρώτο στάδιο της μελέτης πραγματοποιήθηκε καταγραφή θερμοκρασιών σε συνάρτηση με το χρόνο με την βοήθεια ασύρματων θερμοκρασιακών καταγραφικών (ibutton data loggers), που τοποθετήθηκαν στο πάνω μέρος, στο μέσο και στο κάτω μέρος του γύρου κατά τη διάρκεια εμπορικών πρακτικών έψησης του νωπού έναντι του κατεψυγμένου χοιρινού γύρου διαφορετικών μεγεθών (30, 60 και 180 kg) προκειμένου να παρακολουθηθεί η χρονική διάρκεια παραμονής του γύρου εντός της επικίνδυνης θερμοκρασιακής ζώνης 5 – 60°C, αναπαράγοντας ρεαλιστικά σενάρια έψησης (Γραφήματα 3.1).



Γράφημα 3.1 Η μεταβολή της θερμοκρασίας σε συνάρτηση του χρόνου έψησης, σε νωπό, σε νωπό ζεστό και σε κατεψυγμένο γύρο χοιρινό διαφορετικών μεγεθών (30, 60 και 180 kg) και σε διαφορετικά ύψη του γύρου (πάνω και κάτω μέρος και στη μέση).

Πιο συγκεκριμένα, στην παραπάνω συστάδα γραφημάτων (Γράφημα 3.1) παρουσιάζεται η μεταβολή της θερμοκρασίας σε συνάρτηση του χρόνου έψησης, (όπου $t=0$, η χρονική στιγμή όπου ξεκινά η έψηση του γύρου μπροστά από τις θερμαινόμενες αντιστάσεις), σε νωπό, σε νωπό ζεστό και σε κατεψυγμένο γύρο χοιρινό διαφορετικών μεγεθών και σε διαφορετικά ύψη του γύρου (πάνω και κάτω μέρος και στη μέση). Στην παραπάνω διαγραμματική απεικόνιση παρατηρείται σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας και παραμονή στην επικίνδυνη ζώνη ανάπτυξης των μικροοργανισμών και ειδικότερα τον νωπό και τον νωπό ζεστό γύρο, όπου το χρονικό διάστημα αυτό είναι μεγαλύτερο από το αντίστοιχο στον κατεψυγμένο γύρο. Στον κατεψυγμένο γύρο, το χρονικό διάστημα παραμονής των

μικροοργανισμών στην επικίνδυνη ζώνη ανάπτυξης είναι πολύ μικρότερο σε σχέση με τον νωπό γύρο, ενώ στην περίπτωση του κατεψυγμένου γύρου 180 kg, το χρονικό διάστημα αυτό δεν υφίστανται διότι καθ' όλη την διάρκεια έψησης του γύρου η θερμοκρασία σε όλα τα ύψη του δεν ξεπερνά τους 0°C καθώς παραμένει η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή αρκετά μικρότερη των 0°C σε όλη την διάρκεια έψησης.

Έτσι, συγκρίνοντας τα θερμοκρασιακά δεδομένα του «ψυχρότερου σημείου» μεταξύ των διαφορετικών περιπτώσεων νωπού και νωπού ζεστού γύρου βάρους 30 kg παρατηρείται ότι η χρονική διάρκεια παραμονής του στις θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης θερμοκρασιακής ζώνης 5 – 60°C ήταν κατά μέσο όρο 6 – 7 ώρες σε αντίθεση με τον κατεψυγμένο όπου παρέμεινε μόλις 2 – 3 ώρες στις θερμοκρασίες αυτές (Γραφήματα 3.1). Παρόμοιες παρατηρήσεις υπήρξαν και στην περίπτωση που μελετήθηκαν γύροι μεγέθους 60 kg. Στην περίπτωση γύρων βάρους 180 kg, το «ψυχρότερο σημείο» του νωπού γύρου παρέμεινε στην επικίνδυνη θερμοκρασιακή ζώνη για 1 ώρα (μέση και πάνω μέρος) και έως 5 ώρες (κάτω μέρος) σε αντίθεση με τον κατεψυγμένο, ο οποίος διατηρήθηκε καθ' όλη την διάρκεια της έψησης (8 ώρες) σε θερμοκρασίες κατάψυξης (< -30°C). Αυτό που συμπεραίνεται είναι ότι η αρχική χαμηλή θερμοκρασία του κατεψυγμένου γύρου, ανεξαρτήτως του βάρους, παρεμποδίζει την εισχώρηση της θερμότητας στο εσωτερικό μειώνοντας ή/ και ελαχιστοποιώντας την διάρκεια παραμονής του «ψυχρότερου σημείου» του γύρου στην επικίνδυνη θερμοκρασιακή ζώνη (5 – 60°C). Πιο συγκεκριμένα, στον υπερψυγμένο γύρο η ζώνη γύρω από τον άξονα περιστροφής παραμένει σχεδόν μέχρι πριν το ψήσιμό της σε κατάσταση υπέρψυξης. Αποψύχεται δε και ψήνεται ομοιόμορφα σε όλο το μήκος του άξονά της, ενώ κατά την διάρκεια του ψησίματος δεν επηρεάζει θερμοκρασιακά τα εσωτερικά στρώματα. Έτσι, ο υπερψυγμένος γύρος παραμένει υπό θερμοκρασιακές συνθήκες εκτός της επικίνδυνης ζώνης ανάπτυξης των μικροοργανισμών και έτσι εξασφαλίζουν χαμηλό μικροβιακό φορτίο και δεν επιτρέπουν την ανάπτυξη ενός ήδη χαμηλού μικροβιακού πληθυσμού στο εσωτερικό του.

Αντίθετα, στις περιπτώσεις του νωπού και του νωπού ζεστού γύρου, το χρονικό διάστημα αυτό είναι αρκετά μεγαλύτερο. Γενικά, στον νωπό και στον νωπό ζεστό παρατηρείται διαφορετικός ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας στα διάφορα υπό μελέτη ύψη του γύρου και ειδικότερα παρατηρείται μεγαλύτερο ρυθμός στο πάνω και στο κάτω μέρος του γύρου. Πιο συγκεκριμένα, στον νωπό γύρο 180kg, παρατηρείται ταχύτερη αύξηση της θερμοκρασίας στο κάτω μέρος σε σχέση με τα υπόλοιπα μέρη του γύρου αλλά και σε σύγκριση με το αντίστοιχο τμήμα του γύρου 30kg. Το γεγονός αυτό οφείλεται νωπό γύρο, κατά την διάρκεια της έψησης, παρατηρείται μεταφορά θερμότητας από την εξωτερική

επιφάνεια του γύρου (πλησίον του στοιχείου θέρμανσης) στο κέντρο (κοντά στον άξονα) εξαιτίας της ιδιαιτερότητας του σχήματος, του όγκου και του τρόπου έψησης, γεγονός που επιτρέπει στο εσωτερικό του νωπού γύρου την κλιμάκωση της θερμοκρασίας (Todd *et al.*, 1986). Λόγω του κωνοειδούς σχήματος, το κάτω μέρος του γύρου έχει μικρότερο πάχος από τα ανώτερα επίπεδα και εξαιτίας αυτού του γεγονότος, ο ρυθμός μετάδοσης της θερμότητας είναι μεγαλύτερος. Ένας ακόμα παράγοντας που εξηγεί το φαινόμενο αυτό, είναι οι πρακτικές κοπής του γύρου. Οι ψήστες έχουν την τάση να τεμαχίζουν τον γύρο με τέτοιο τρόπο ώστε να αποκτά ομοιόμορφο πάχος. Έτσι, το κατώτερο επίπεδο τεμαχίζεται πολύ αργότερο από το υπόλοιπο, το οποίο εμφανίζει μεγαλύτερο πάχος, με αποτέλεσμα να κόβεται πρώτο. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται στο μέγεθος του γύρου αλλά και στις συνθήκες συντήρησης πριν από το στάδιο έψησης, και οφείλεται στο τρόπο μετάδοσης της θερμότητας από την επιφάνεια του γύρου προς το εσωτερικό του.

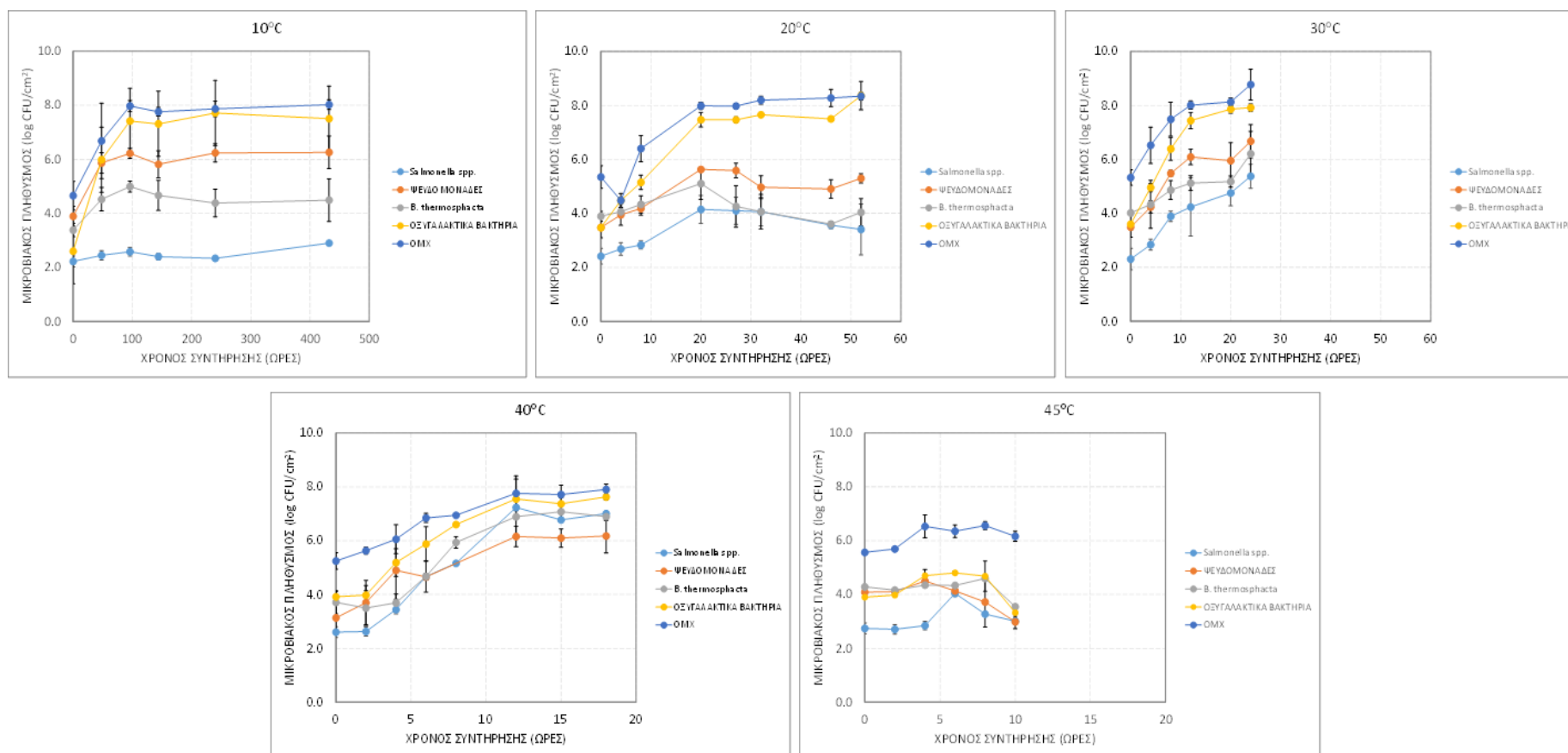
Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με την έρευνα του εργαστηρίου Ελέγχου Ποιότητας και Ασφάλειας Τροφίμων και Ποτών του Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής όπου έδειξαν ότι ακόμα και σε συνεχή έψηση, η επίδραση της θερμικής εστίας περιορίζεται στα εξωτερικά στρώματα του υπερψυγμένου γύρου, ενώ το εσωτερικό παραμένει σε υπέρψυξη, ακόμα και σε μικρού διαμέτρου γύρο μη επιτρέποντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών στο εσωτερικό του. Σύμφωνα με τις καταγραφές των χρονο-θερμοκρασιακών καταγραφικών που τοποθετήθηκαν στα διαφορετικά ύψη κατά μήκος της βέργας στήριξης παρατηρήθηκαν μικρές διαφοροποιήσεις στον συνολικό χρόνο έκθεσης στις θερμοκρασίες 5 – 60°C.

Επίσης, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι μετά του πέρασ ενός χρονικού διαστήματος έψησης παρατηρούνται απότομες μεταπτώσεις της θερμοκρασίας και αυξομειώσεις, και ιδιαίτερα πιο έντονες παρατηρούνται στην περίπτωση του γύρου των 30kg και οι οποίες συντελούν στην περαιτέρω αύξηση της επικινδυνότητας. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται στο γεγονός ότι κατά την διάρκεια της έψησης πραγματοποιούνται πλημμελείς εμπορικές πρακτικές, όπως η συχνή παύση των εστιών ή απενεργοποίηση τους μετά το πέρασ της ώρας αιχμής, διατήρηση σε θερμαινόμενο δίσκο ή επαναθέρμανση των γύρων σε θερμό θάλαμο μέχρι την κατανάλωση, ή ακόμα και διατήρηση προϊόντος που ψήθηκε τη προηγούμενη ημέρα, δεν καταναλώθηκε και υποβλήθηκε σε αναθέρμανση. Στην περίπτωση αυτή παρατηρείται η περίπτωση της συχνής παύσης των εστιών μετά το πέρασ των ωρών αιχμής, καθώς το χρονικό διάστημα καταγραφής της θερμοκρασίας αντιπροσωπεύει την πρώτη μέρα θερμικής επεξεργασίας του προϊόντος (έως 10 ώρες), ενώ δεν περιλαμβάνει την αποτύπωση της διακύμανσης της θερμοκρασίας μετά το πέρασ της πρώτης ημέρας και την αναθέρμανσή του την επομένη. Οι αυξομειώσεις της θερμοκρασίας παρατηρούνται κυρίως στο γύρο των

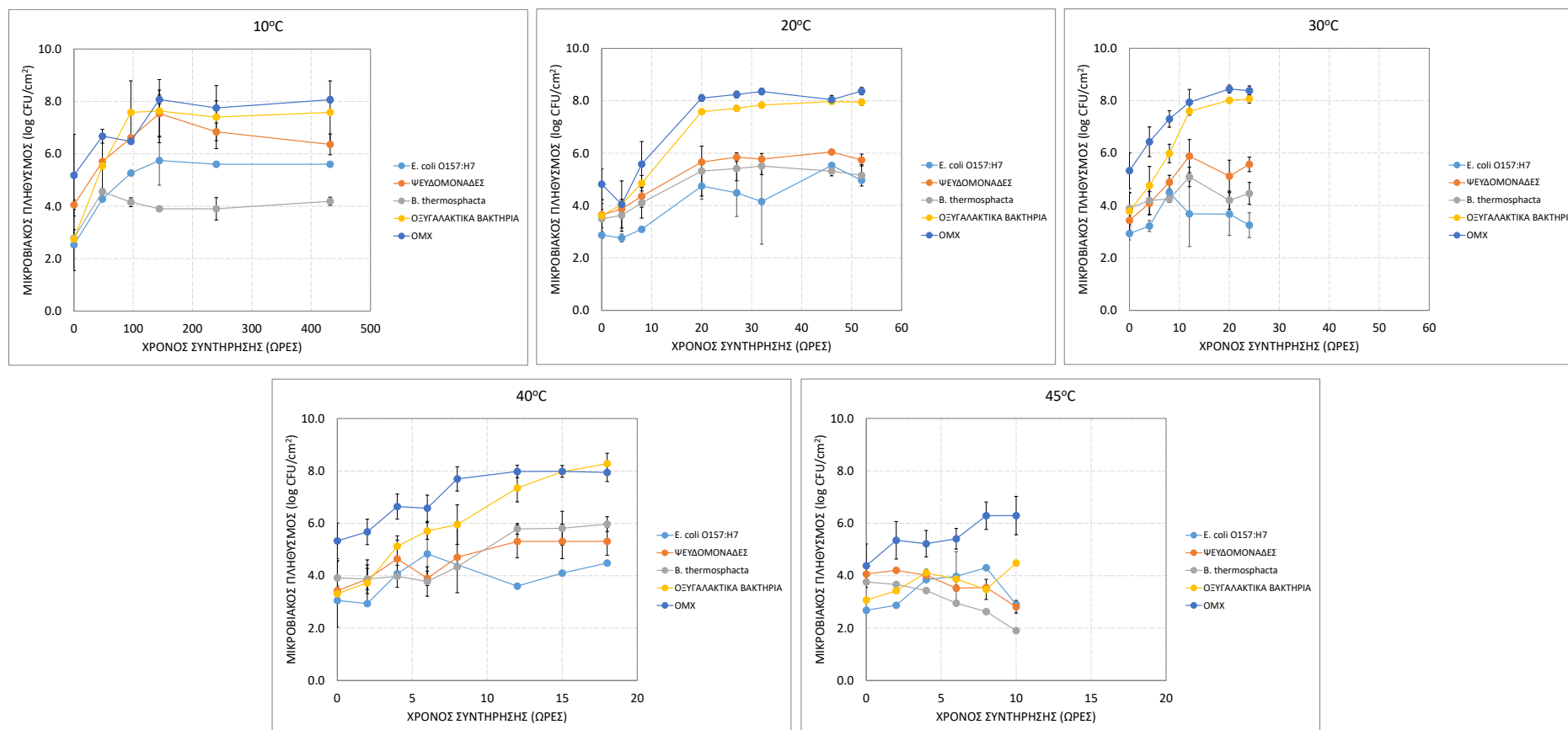
30kg διότι η μετάδοση θερμότητας είναι ταχύτερη λόγω του μικρότερου πάχους του γύρου με αποτέλεσμα, σε περίπτωση κλεισίματος των αντιστάσεων η μικρότερη ροή θερμότητας να πραγματοποιείται με ταχύτερο ρυθμό και επομένως να γίνεται ταχύτερα αντιληπτή από τους τοποθετημένους ανιχνευτές.

3.2 Αποτελέσματα μελέτης του δυναμικού αύξησης των παθογόνων κατά την παραμονή του γύρου σε θερμοκρασίες εντός της επικίνδυνης ζώνης 5-60°C

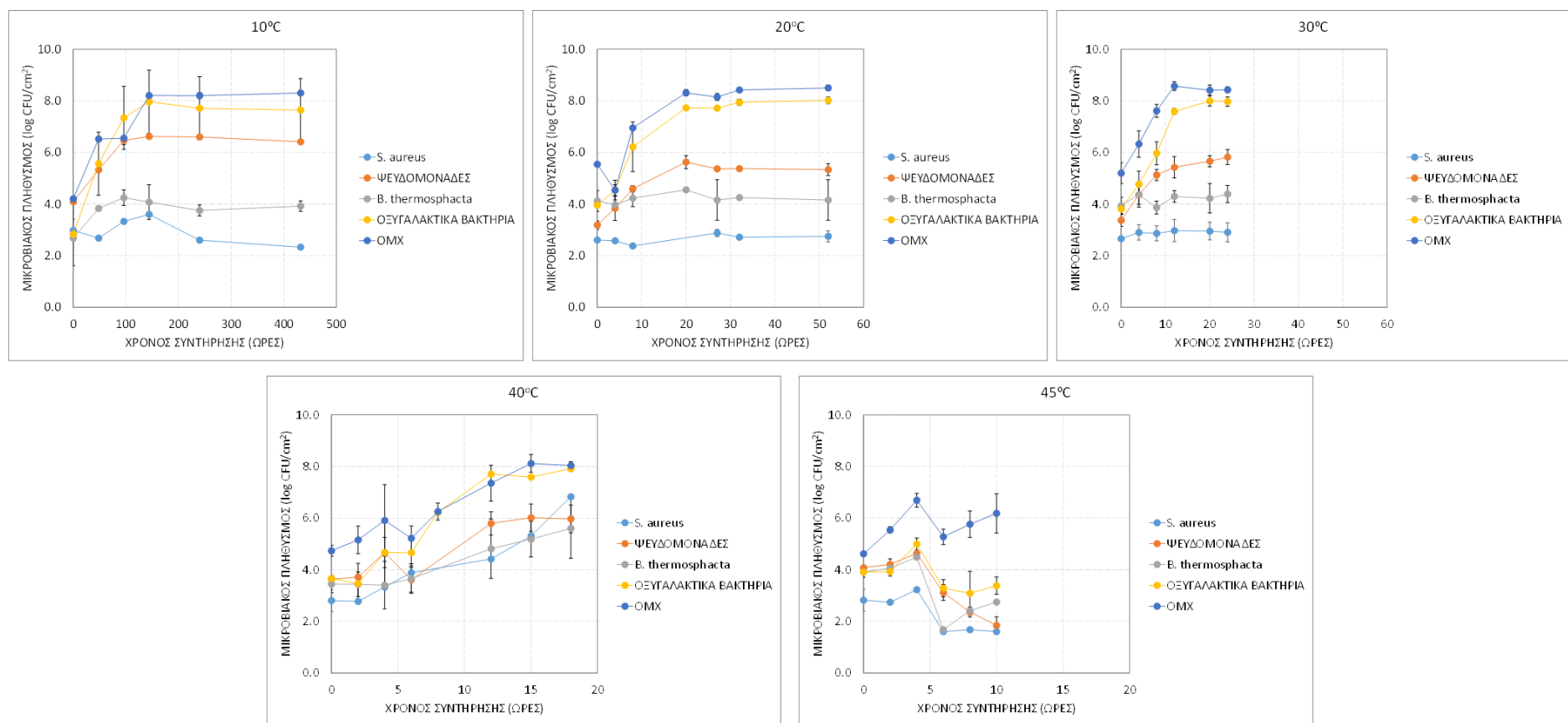
Κατά την μελέτη του δυναμικού αύξησης των επιλεγμένων παθογόνων μικροοργανισμών αλλά και της ενδογενούς μικροχλωρίδας του γύρου σε συνθήκες κενού, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα εμβολιασμένα τεμάχια γύρου επωάστηκαν σε θερμοκρασίες 10°C, 12°C, 20°C, 30°C, 40°C, και 45°C. Σε κάθε ένα από τα παραπάνω διαγράμματα (Διαγράμμα 3.2, 3.3, 3.4, 3.5) φαίνεται η αύξηση του εκάστοτε κατά περίπτωση μελέτη παθογόνου μικροοργανισμού αλλά και εκείνων που διαδραματίζουν ρόλο στην αλλοίωση του κρέατος (*Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta* και οξυγαλακτικά βακτήρια) αλλά και της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (O.M.X.) για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη ξεχωριστά.



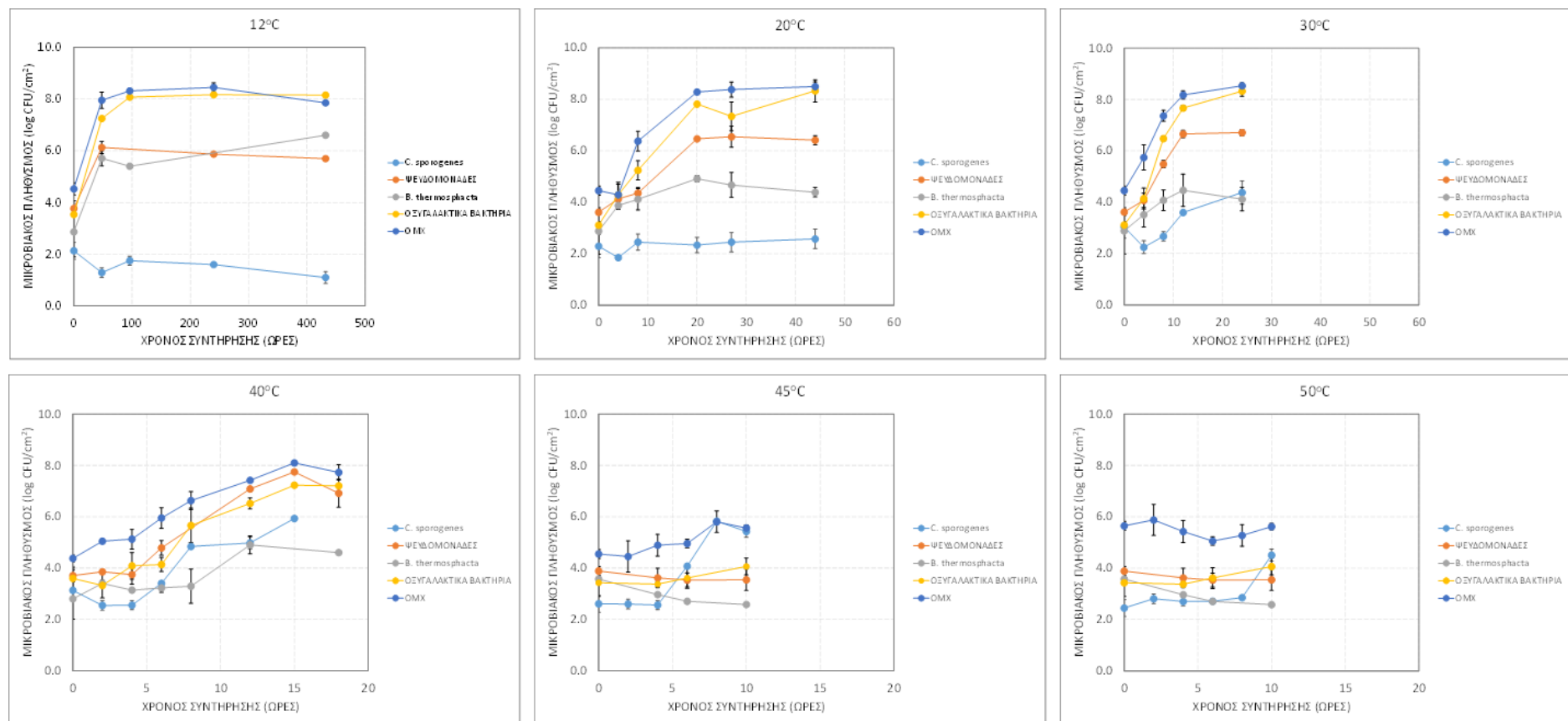
Γράφημα 3.2 Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *Salmonella* spp. μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 10, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού (n=4) συναρτήσει αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX.



Γράφημα 3. 3. Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *E. coli* O157:H7 μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 10, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού (n=4) συναρτήσεως αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX.



Γράφημα 3. 4. Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *Staph. aureus* μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 10, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού (n=4) συναρτήσεως αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX.



Γράφημα 3.5. Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *C. sporogenes* μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 12, 20, 30, 40, 45 και 50°C υπό συσκευασία κενού (n=4) συναρτήσει αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX.

Σε καθένα από τα παραπάνω διαγράμματα (Γραφήματα 3.2, 3.3, 3.4 και 3.5), ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο σε ώρες και ο κατακόρυφος το λογάριθμο του πληθυσμού των μικροβιακών κυττάρων που βρίσκονται ανά cm^2 , με εφαρμογή του μοντέλου Baranyi. Παρατηρείται ότι το δυναμικό ανάπτυξης των υπό μελέτη παθογόνων αυξήθηκε καθώς η θερμοκρασία συντήρησης αυξανόταν από τους 10°C στους 40°C για *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *Staph. aureus*, και από τους 12°C στους 45°C για το *C. sporogenes*, ενώ σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 40°C και 45°C , αντίστοιχα, η ανάπτυξη περιορίστηκε σημαντικά (Γραφήματα 3.2, 3.3, 3.4 και 3.5). Ανάμεσα στους μελετώμενους παθογόνους, η σαλμονέλα υπέδειξε το μεγαλύτερο δυναμικό αύξησης ($y_{\max}=3,7-7,1$ και $m_{\max}=0.085-0.466$), ανεξαρτήτως της θερμοκρασίας συντήρησης, ακολούθησε το *C. sporogenes*, το *E. coli* O157:H7 και ο *Staph. aureus*. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά στον *Staph. aureus* παρατηρήθηκε ανάπτυξη μόνο κατά την περίπτωση συντήρησης στους 40°C , δηλαδή κοντά στην άριστη (37°C), ενώ στις θερμοκρασίες 10 , 20 και 30°C παρατηρήθηκε καθοριστική αναστολή της αύξησης και στους 45°C μείωση (Γράφημα 3.4).

Όσον αφορά την αλλοιογόνο ενδοχλωρίδα, οι μικροοργανισμοί που μελετήθηκαν σε όλα τα πειράματα ηθελημένου εμβολιασμού των παθογόνων μικροοργανισμών ήταν οι ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX. Από τη μικροβιακή χλωρίδα του κρέατος, εστιάζοντας στην μεταβολή της O.M.X, τα οξυγαλακτικά βακτήρια ταυτοποιήθηκαν ως κύρια αλλοιογόνος μικροχλωρίδα, αποτέλεσμα το οποίο οφείλεται στον μικροαερόφιλο χαρακτήρα τους και της συσκευασίας υπό κενό που αποθηκευτήκαν τα δείγματα νωπού χοιρινού γύρου καθ' όλη την συντήρηση (Mataragas *et al.* 2002). Οι ψευδομονάδες λόγω του αερόβιου χαρακτήρα τους και ο *B. thermosphacta* έπαιξαν δευτερεύοντα ρόλο ως προς την συνεισφορά τους στην αλλοίωση του νωπού γύρου στις διαφορετικές θερμοκρασίες (Γραφήματα 3.2, 3.3, 3.4 και 3.5). Έτσι, επιβεβαιώνεται η επιλογή της ταυτόχρονης παρακολούθησης της ανάπτυξης τόσο των μελετώμενων παθογόνων όσο και της ενδογενούς αλλοιογόνου χλωρίδας. Συγκεκριμένα, ο γύρος λόγω των πολλαπλών μεταχειρίσεων που επιδέχεται κατά την ετοιμασία (τεμαχισμός και μαρινάρισμα) είχε υψηλή αρχική ενδογενή μικροχλωρίδα (OMX κυμάνθηκε $4.5 - 5.5 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$), παρεμποδίζοντας την αύξηση των παθογόνων μικροοργανισμών. Επιπλέον, τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η αλλοίωση του κρέατος φαίνεται να προηγείται της αύξησης των μελετώμενων παθογόνων, άρα και της υποβάθμισης του κινδύνου της ασφάλειας του προϊόντος (Γραφήματα 3.2, 3.3, 3.4 και 3.5).

Οι παραπάνω παρατηρήσεις αυτές αντανακλούν τη σημαντικότητα του παράγοντα θερμοκρασία ως παράγοντα στη μικροβιακή αύξηση και κατ' επέκταση και της μεθόδου έψησης του γύρου.

3.2.1. Προσδιορισμός των κινητικών παραμέτρων της ενδογενούς μικροχλωρίδας

Στη συνέχεια της μελέτης αυτής πραγματοποιήθηκε ανάλυση των δεδομένων με στόχο τη μελέτη της κινητικής των παθογόνων μικροοργανισμών και των μικροοργανισμών που σχετίζονται με την αλλοίωση του κρέατος και κατ' επέκταση την ανάπτυξη ενός μοντέλου πρόρρησης της επίδρασης του παράγοντα της θερμοκρασίας στην αύξηση των μικροοργανισμών στο χοιρινό γύρο. Τα πειραματικά δεδομένα αύξησης της ενδογενούς χλωρίδας, τα οποία προέκυψαν όπως έχει αναφερθεί από την διατήρηση των εμβολιασμένων τεμαχίων γύρου σε ισόθερμες συνθήκες ανάπτυξης σε διαφορετικές κατά περίπτωση θερμοκρασίες, προσαρμόστηκαν στο πρωτογενές μοντέλο Baranyi και Roberts (1994) για τον υπολογισμό των κινητικών παραμέτρων.

Η απεικόνιση της προσαρμογής των δεδομένων παρουσιάζεται στον πίνακα όπου παρουσιάζεται ο αρχικός πληθυσμός (Y_0), ο τελικός πληθυσμός (Y_{max}), η φάση προσαρμογής (λ), ο μέγιστος ειδικός ρυθμός της αύξησης ($\mu_{max} (h^{-1})$).

Πίνακας 3.1. Κινητικές παράμετροι (Y_0 (log CFU/cm²); Y_{max} (log CFU/ cm²); μ_{max} (h⁻¹); λ (h)) των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *S. aureus*, (*C. sporogenes*), και του κυρίαρχου αλλοιογόνου (οξυγαλακτικά βακτήρια) οι οποίες προκύπτουν από την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στο πρωτογενές μοντέλο των Baranyi and Roberts κατά την συντήρηση τεμαχίων χοιρινού γύρου (διαστάσεις: 5 x 5 cm) στους 10 ή 12, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού (n=4).

ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (°C)	Y_0 (log CFU/cm ²)	Y_{max} (log CFU/cm ²)	μ_{max} (h ⁻¹)	λ (h)
<i>Salmonella</i> spp.	10	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	20	2.3 ± 0.1	4.0 ± 0.5	0.085 ± 0.014	—
	30	1.9 ± 0.1	5.3 ± 0.3	0.272 ± 0.008	—
	40	2.3 ± 0.2	7.1 ± 0.1	0.466 ± 0.087	2.5 ± 0.9
	45	2.6 ± 0.1	3.7 ± 0.1	0.176 ± 0.064	—
<i>E. coli</i> 0157:H7	10	2.6 ± 0.2	5.6 ± 0.3	0.034 ± 0.006	—
	20	2.6 ± 0.2	5.4 ± 0.0	0.122 ± 0.094	—
	30	2.8 ± 0.3	4.6 ± 0.1	0.195 ± 0.020	—
	40	2.8 ± 0.3	4.7 ± 0.2	0.563 ± 0.213	3.1 ± 0.5
	45	2.6 ± 0.1	3.6 ± 0.0	0.208 ± 0.055	—
<i>S. aureus</i>	10	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	20	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	30	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	40	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	0.404 ± 0.186	Δ.Π.Α.
	45	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
<i>C. sporogenes</i>	12	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	20	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	30	2.1 ± 0.4	—	0.181 ± 0.101	—
	40	2.9 ± 0.2	—	0.268 ± 0.042	2.5 ± 0.1
	45	2.1 ± 0.2	—	0.391 ± 0.147	4.7 ± 0.0
	50	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ	10	2.7 ± 0.2	7.6 ± 0.2	0.062 ± 0.008	—
	20	3.6 ± 0.2	8.0 ± 0.4	0.222 ± 0.053	3.5 ± 0.7
	30	3.6 ± 0.5	8.0 ± 0.1	0.327 ± 0.036	—
	40	3.7 ± 0.6	13.0 ± 9.3	0.253 ± 0.027	—
	45	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.

Δ.Π.Α.: Δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη.

Σύμφωνα με τους Taoukis *et al.*, 1999, η χρήση του μοντέλου Baranyi για το προσδιορισμό του μέγιστου ειδικού ρυθμού αύξησης μ_{max} αποτρέπει την υπερεκτίμηση του καθώς και το γεγονός ότι δίνει αυτό το μοντέλο καλούς στατιστικούς δείκτες στη προσαρμογή (R^2 : 0,80 έως 0,99) το εν λόγω μοντέλο κρίνεται ως κατάλληλο για τη περιγραφή της κινητικής της Ο.Μ.Χ.. η οποία όπως αποδείχτηκε στο προηγούμενη παράγραφο συσχετίζεται με τη μεταβολή των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

3.2. Αποτελέσματα προσομοίωσης της αύξησης των εξεταζόμενων παθογόνων μικροοργανισμών έναντι αλλοιογόνων μικροοργανισμών κατά την έψηση νωπού και κατεψυγμένου χοιρινού γύρου σε διαφορετικά θερμοκρασιακά προφίλ με την χρήση μαθηματικών μοντέλων

Από τους παθογόνους που μελετήθηκαν, σε αυτό το στάδιο μοντελοποιήθηκαν οι *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7 και *C. sporogenes*, δεδομένου ότι παρουσίασαν υψηλό δυναμικό αύξησης, ενώ από τους αλλοιογόνους επιλέχθηκαν τα οξυγαλακτικά βακτήρια καθώς αποτελούν την κυρίαρχος αλλοιογόνο χλωρίδα. Η μοντελοποίηση πραγματοποιήθηκε σε 2 στάδια: αρχικά το πρωτογενές μοντέλο του Baranyi προσαρμόστηκε στις καμπύλες αύξησης των μικροοργανισμών ανά θερμοκρασία ώστε να προσδιοριστούν οι κινητικές παράμετροι Y_0 (log CFU/cm²), Y_{max} (log CFU/ cm²), μ_{max} (h⁻¹) και λ (h) και στην συνέχεια ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης μοντελοποιήθηκε δευτερογενώς συναρτήσει της θερμοκρασίας. Όσον αφορά στην πρωτογενή μοντελοποίηση, οι κινητικές παράμετροι που προσδιορίστηκαν αναφέρονται στον Πίνακα 3.1, ενώ ο δείκτης R^2 κυμάνθηκε από 0.880 – 0.966, υποδεικνύοντας καλή προσαρμογή του πρωτογενούς μοντέλου Baranyi στα πειραματικά δεδομένα ανεξαρτήτως παθογόνου μικροοργανισμού και θερμοκρασία συντήρησης.

Οι παράμετροι και τα στατιστικά στοιχεία για τα δευτερογενή μοντέλα του Rosso που περιγράφουν την εξάρτηση του ρυθμού ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *S. aureus* και *C. sporogenes* από την θερμοκρασία σε τεμάχια χοιρινού γύρου συσκευασμένου σε κενό παρουσιάζονται στον Πίνακα 9. Προκειμένου να αξιολογηθεί η απόδοση των δευτερογενών μοντέλων χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης RMSE, του οποίου οι χαμηλές τιμές υποδεικνύουν την καλύτερη προσαρμογή της καμπύλης του μοντέλου. Συγκεκριμένα, οι τιμές RMSE για τα δευτερογενή μοντέλα *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *C. sporogenes* και οξυγαλακτικά βακτήρια ήταν 0.045, 0.051, 0.019 και 0.030, αντίστοιχα (Πίνακας 3.2).

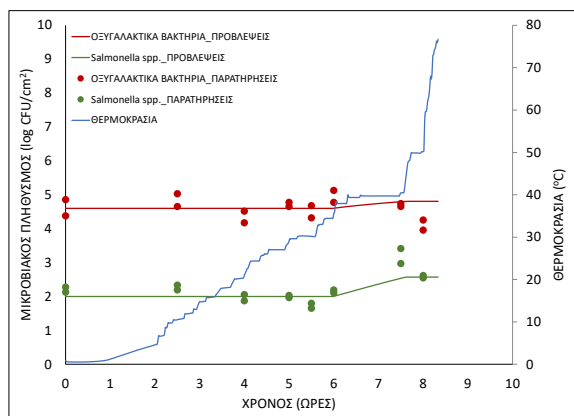
Τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν τόσο για τους παθογόνους *Salmonella* spp. και *C. sporogenes* όσο και για τα οξυγαλακτικά βακτήρια επικυρώθηκαν μέσω πειραμάτων προσομοίωσης ρεαλιστικών σεναρίων έψησης, τόσο σε νωπό όσο και σε κατεψυγμένο γύρο, όπως αναλυτικά περιγράφηκε στην μεθοδολογία. Για να αποτυπωθεί η παρεμποδιστική δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων στην ανάπτυξη του παθογόνου, στο δευτερογενές μοντέλο του Rosso ενσωματώθηκε η εξίσωση του Jameson effect. Συγκεκριμένα, η εν λόγω

εξίσωση αποτυπώνει την ικανότητα της ενδογενούς μικροχλωρίδας του τροφίμου να αναστέλλει την ανάπτυξη του παθογόνου με τον ίδιο τρόπο που αναστέλλει και την δική της, και η αύξηση του παθογόνου να σταματήσει όταν η κυρίαρχη μικροχλωρίδα φτάσει τον μέγιστο πληθυσμό της (Cornu *et al.* 2011, Møller *et al.* 2013).

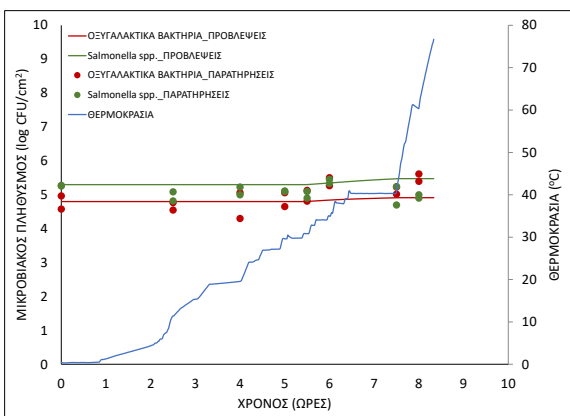
Πίνακας 3.2. Παράμετροι και στατιστικά για τα δευτερογενή μοντέλα Rosso περιγραφής της θερμοκρασίας στον ρυθμό ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *S. aureus* και *C. sporogenes* σε τεμάχια χοιρινού γύρου (διαστάσεις: 5 x 5 cm) ενοφθαλμισμένου με 2.5-3.0 log CFU/cm² και συσκευασμένου σε κενό (n=4).

Μικροοργανισμός	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ								RMSE
	T _{min} (°C)		T _{max} (°C)		T _{opt} (°C)		μ _{opt} (h ⁻¹)		
	M.T. ± T.A.*	p-value	M.T. ± T.A.	p-value	M.T. ± T.A.	p-value	M.T. ± T.A.	p-value	
<i>Salmonella</i> spp.	8.02 ± 4.18	0.07	45.42 ± 0.52	0.00	40.97 ± 2.18	0.00	0.495 ± 0.040	0.00	0.045
<i>E. coli</i> 0157:H7	6.22 ± 6.04	0.30	47.98 ± 0.35	0.00	38.99 ± 1.03	0.00	0.311 ± 0.026	0.00	0.051
<i>S. aureus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>C. sporogenes</i>	14.25 ± 2.76	0.00	50.54 ± 1.00	0.00	47.66 ± 1.72	0.00	0.349 ± 0.049	0.00	0.019
ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ	4.24 ± 2.84	0.10	49.82 ± 2.42	0.00	30.76 ± 0.82	0.00	0.327 ± 0.013	0.00	0.030

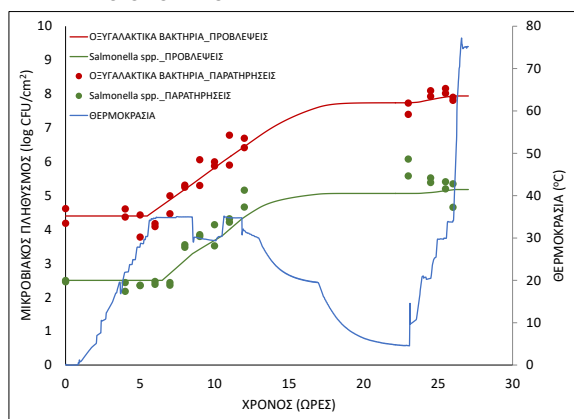
ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



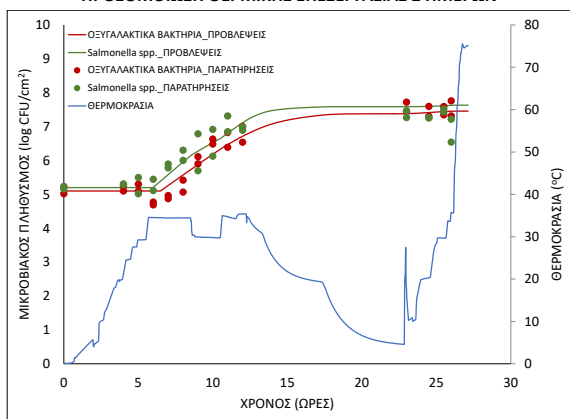
ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

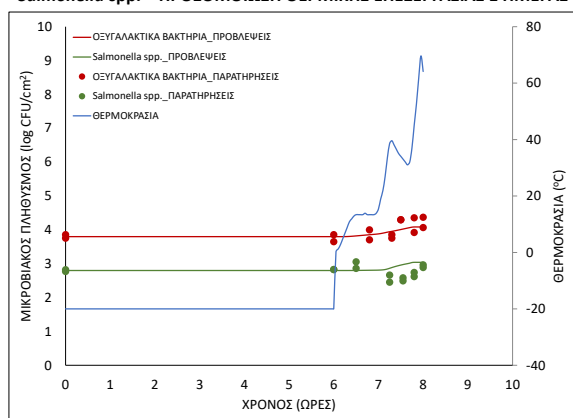


ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

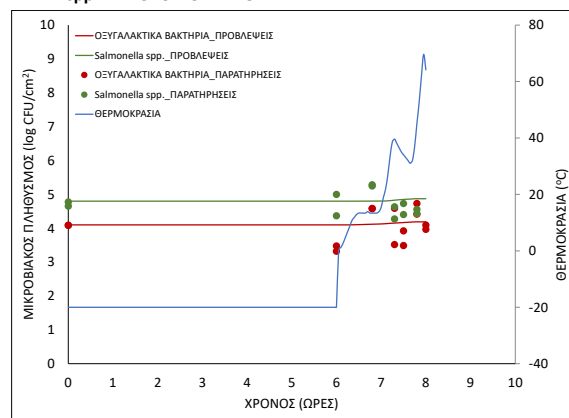


Γράφημα 3.6. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *Salmonella* spp. (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε νωπό χοιρινό γύρο.

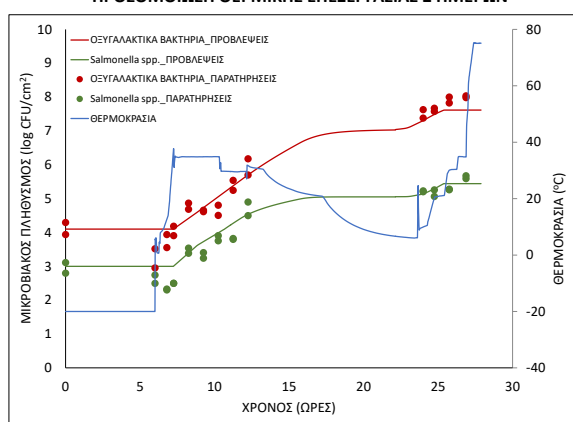
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



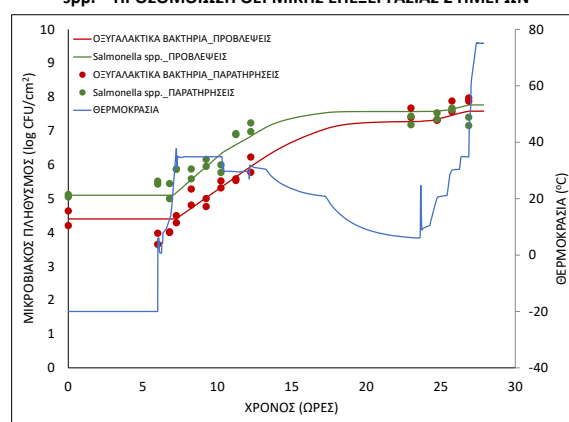
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

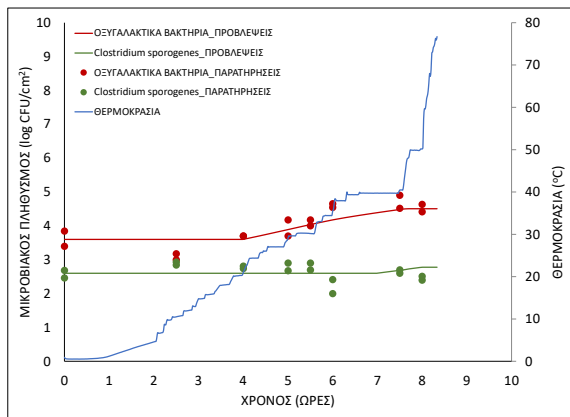


ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

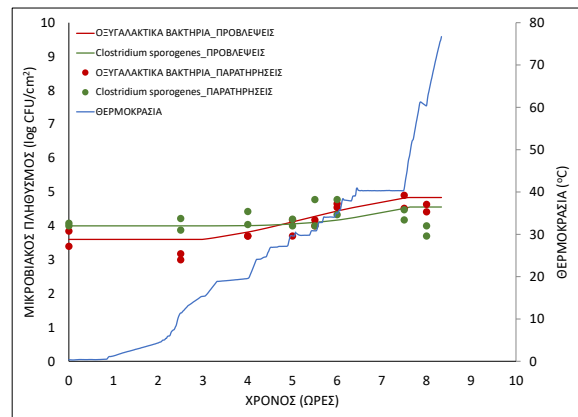


Γράφημα 3.7. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *Salmonella* spp. (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε κατεψυγμένο χοιρινό γύρο.

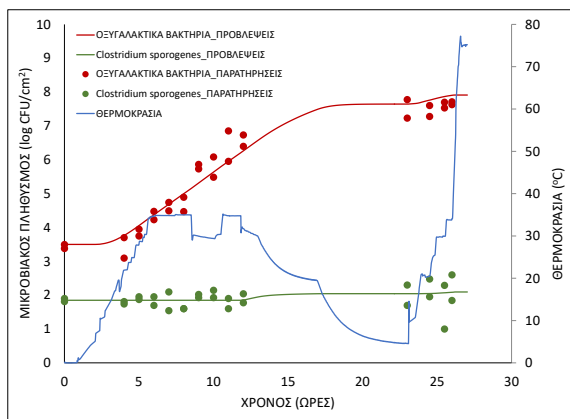
**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ**



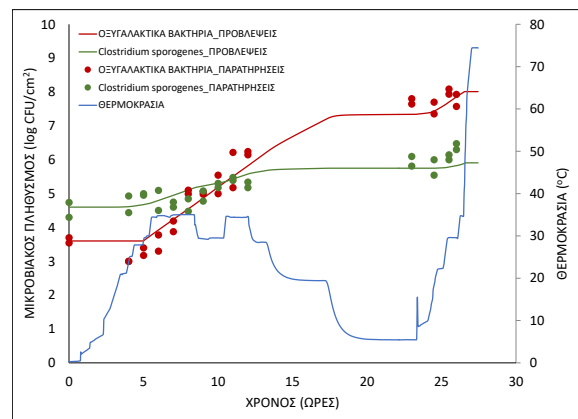
**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ**



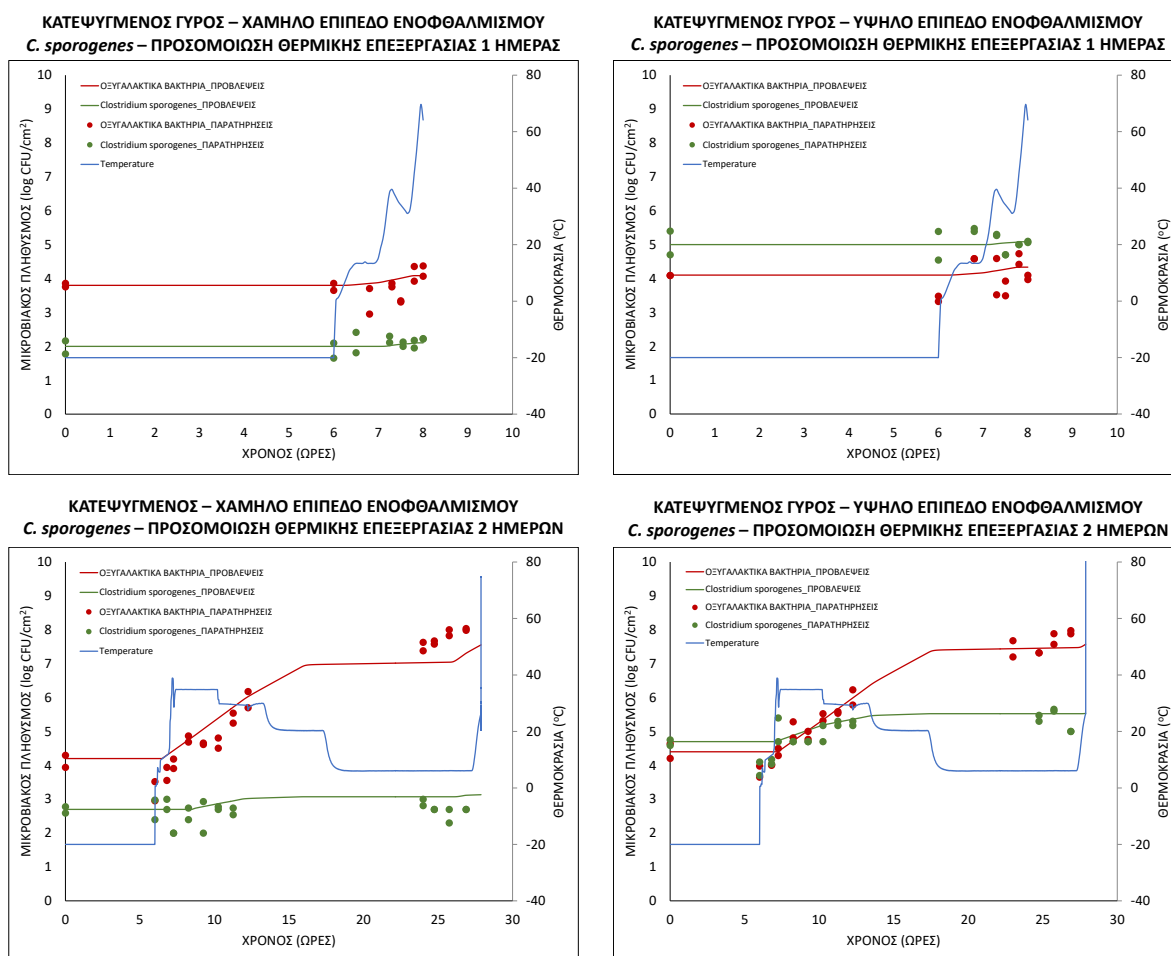
**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ**



**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ**



Γράφημα3.8. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *C. sporogenes* (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε νωπό χοιρινό γύρο.



Γράφημα 3.9. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *C. sporogenes* (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε κατεψυγμένο χοιρινό γύρο.

Στα παραπάνω γραφήματα (Γραφήματα 3.6, 3.7, 3.8 και 3.9) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επικύρωσης των μαθηματικών μοντέλων. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα τόσο στον νωπό όσο και στον κατεψυγμένο γύρο φαίνεται ότι το σύνολο των πειραματικών παρατηρήσεων βρίσκεται σε συμφωνία με τις προβλέψεις των αναπτυχθέντων μαθηματικών μοντέλων ανάπτυξης των δύο παθογόνων μικροοργανισμών έναντι των οξυγαλακτικών βακτηρίων (κυρίαρχος αλλοιογόνος χλωρίδα) σε όλα τα πειραματικά σενάρια που μελετήθηκαν. Η ικανοποιητική αυτή συμφωνία μεταξύ προβλέψεων και παρατηρήσεων επιβεβαιώνεται και από τις τιμές των συντελεστών ακριβείας και μεροληψίας (accuracy and bias factors) οι οποίοι κυμάνθηκαν κοντά στο 1 (Ross, 1996). Συγκεκριμένα, οι συντελεστές ακριβείας (Af) ήταν 1.02 – 1.11, 1.04 – 1.09, 1.05 – 1.10 και μεροληψίας (Bf) ήταν 0.93 –

1.06, 0.98 – 1.03, 0.98 – 1.05 για *Salmonella* spp., *C. sporogenes*, τα οξυγαλακτικά βακτήρια, αντίστοιχα.

Αξιοσημείωτο είναι ότι κατά την προσομοίωση του θερμοκρασιακού σεναρίου μεταχείρισης και έψησης συνολικής διάρκειας 2 ημερών ευνοήθηκε σημαντικά η αύξηση του παθογόνου *Salmonella* spp. τόσο στον νωπό (αύξηση περίπου 2.5 λογαρίθμους) όσο και στον κατεψυγμένο (αύξηση περίπου 2.0 λογαρίθμους) συγκριτικά με το σενάριο της 1 ημέρας όπου η αύξηση των παθογόνων μικροοργανισμών φαίνεται να αναστέλλεται σημαντικά (Γραφήματα 3.6 και 3.7). Παρόμοιο δυναμικό αύξησης του παθογόνου έναντι των οξυγαλακτικών βακτηρίων παρατηρήθηκε και στα 2 επίπεδα ενοφθαλμισμού που μελετήθηκαν. Στο κλωστρίδιο παρατηρήθηκε σημαντικά μικρότερο δυναμικό ανάπτυξης (αύξηση 0.5 – 1.0 λογάριθμο) συγκριτικά με την σαλμονέλα ακόμα και στο σενάριο θερμοκρασιακής προσομοίωσης μεταχείρισης και έψησης νωπού γύρου διάρκειας δύο ημερών (Γραφήματα 3.8 και 3.9). Το ιδιαίτερο αποτέλεσμα στην περίπτωση του *C. sporogenes* είναι ότι ακόμα και στην περίπτωση που ο παθογόνος ενοφθαλμίστηκε σε ψηλότερα ή ίδια πληθυσμιακά επίπεδα σε σχέση με τα ήδη υπάρχοντα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οξυγαλακτικά υπέδειξαν σημαντικό δυναμικό αύξησης τόσο στον νωπό όσο και στον κατεψυγμένο γύρο αναστέλλοντας σημαντικά την ανάπτυξη του κλωστριδίου (Γραφήματα 3.8 και 3.9). Συνολικά, τα διαγράμματα της επικύρωσης έρχονται να επιβεβαιώσουν την αρχική υπόθεση ότι η αλλοίωση του γύρου ενδέχεται να προηγηθεί της μικροβιολογικής ασφάλειας του προϊόντος (χαμηλός ενοφθαλμισμός με παθογόνο) λόγω της παρουσίας υψηλού πληθυσμού ενδογενούς μικροχλωρίδας, η οποία θα δράσει παρεμποδιστικά στην ανάπτυξη των παθογόνων. Η μόνη περίπτωση που μπορεί αλλοίωση και ασφάλεια να συνυπάρξουν περιγράφεται από τα πειράματα επικύρωσης με αρχικό ενοφθάλμιση του της *Salmonella* spp. υψηλό, γεγονός που είναι μη ρεαλιστικό.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, συμπεραίνουμε ότι τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν στο παρούσα μελέτη είναι δυνατόν να προβλέψουν με μεγάλη ακρίβεια την αύξηση των *Salmonella* spp. και *C. sporogenes* έναντι των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε διαφορετικά σενάρια προσομοίωσης τόσο του επιπέδου επιμόλυνσης όσο και της θερμοκρασιακής μεταχείρισης και έψησης του χοιρινού γύρου ξεκινώντας από διαφορετικές καταστάσεις όπως νωπό και κατεψυγμένο. Παρόλα αυτά, η παρουσία της ενδογενούς μικροχλωρίδας και μάλιστα σε πληθυσμούς $> 4.0 \log \text{ CFU/g}$ περιορίζει σημαντικά το δυναμικό αύξησης των παθογόνων, καθιστώντας το προϊόν ασφαλές τουλάχιστον όσον αφορά στην παρακολούθηση πιθανής επιμόλυνσης του «ψυχρότερου σημείου».

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η καταγραφή εξαιρετικά υψηλών θερμοκρασιών στην επιφάνεια του γύρου επιβεβαιώνει ότι η ανησυχία ως προς την ασφάλεια του προϊόντος έγκειται στα εσωτερικά «ψυχρότερα σημεία» όπου και καταγράφονται επικίνδυνες για την αύξηση θερμοκρασίες. Στις περιπτώσεις νωπού γύρου καταγράφηκε η μεγαλύτερης διάρκειας έκθεση στις θερμοκρασίες αυτές συγκριτικά με τις περιπτώσεις του κατεψυγμένου γύρου όπου η αρχική χαμηλή θερμοκρασία του κρέατος παρεμποδίζει την εισχώρηση της θερμότητας στο εσωτερικό μειώνοντας ή/ και ελαχιστοποιώντας την διάρκεια παραμονής του «ψυχρότερου σημείου» του γύρου στην επικίνδυνη θερμοκρασιακά ζώνη (5 – 60°C).

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν πως η υψηλή αρχική ενδογενής χλωρίδα του γύρου παρεμποδίζει την αύξηση των παθογόνων και ωθεί την αλλοίωση του προϊόντος να προηγείται της αύξησης αυτών. Επιπλέον, συγκρίνοντας τα υπάρχοντα μοντέλα πρόρρησης της συμπεριφοράς των παθογόνων της βιβλιογραφίας, φάνηκε η σύγκριση να μην είναι ικανοποιητική δεδομένου ότι δεν λαμβάνεται υπόψιν η εν δυνάμει παρεμποδιστική δράση της ενδογενούς μικροχλωρίδας. Επομένως λόγω των ιδιαιτεροτήτων του προϊόντος κρίθηκε απαραίτητη η ανάπτυξη εξειδικευμένων μαθηματικών μοντέλων για την πρόβλεψη της ασφάλειας ή/και της αλλοίωσης του νωπού έναντι του κατεψυγμένου χοιρινού γύρου συναρτήσει της θερμοκρασίας μεταχείρισής και έψησης.

Τα αποτελέσματα τόσο στον νωπό όσο και στον κατεψυγμένο γύρο βρίσκονται σε συμφωνία με τις προβλέψεις των αναπτυχθέντων μαθηματικών μοντέλων ανάπτυξης των δύο παθογόνων μικροοργανισμών έναντι της κυρίαρχου αλλοιογόνου μικροχλωρίδας σε όλα τα πειραματικά σενάρια που μελετήθηκαν και έρχονται να επιβεβαιώσουν την αρχική υπόθεση ότι η αλλοίωση του γύρου ενδέχεται να προηγηθεί της μικροβιολογικής ασφάλειας του προϊόντος λόγω της παρουσίας υψηλού πληθυσμού ενδογενούς μικροχλωρίδας, η οποία θα δράσει παρεμποδιστικά στην ανάπτυξη των παθογόνων

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ambrossiadis, J., Soultos, N., Varletzis, K., & Georgakis, S. (1998). Nitrites on sensory quality of poultry meat cooked hams. *Bulletin of the Hellenic Venerinary Medical Society*, 49(3), 223-229.
- Ayto, J. (2002). *An A-Z of Food and Drink* (1 εκδ.). Oxford: Oxford University Press.
- Baird-Parker, T. (2000). *Staphylococcus aureus*. Στο B. Lund, Baird-parker, & G. Gould, *The microbiological safety and quality of foods* (Τόμ. 2). Gaithersburg: Aspen Publishers.
- Baranyi, J., Roberts, T., & McClure, P. (1993). A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. *Food Microbiology*, 10, 43-59.
- Baranyi, J. (2002). Stochastic modeling of bacterial lag phase. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 203-206.
- Bem, Z., Hechelmann, H., & Leistner, L. (1976). Mikrobiologie des DFD-fleisches (The bacteriology of DFD meat). *Fleischwirtschaft*, 56, 985-987.
- Berends, B., Van Knapen, F., Snijders, J., & Mosel, D. (1997). Identification and quantification of risk factors regarding Salmonella spp., on pork carcasses. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 199-206.
- Biesalski, H. K. (2005). Meat as a component of a healthy diet - are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Science*, 70(3), 509-524.
- Boleman, S. J., Boleman, S. L., Bidner, J. D., Mc Millin, K. W., & Monlezun, C. J. (1995). Effects of postmortem time of calcium chloride injection on beef tenderness and drip, cooking and total loss. *Meat Science*, 39, 35-41.
- Borch, E., & Molin, G. (1988). Numerical taxonomy of psychrotropic lactic acid bacteria from prepacked meat and meat products. *Antonie van Leeuwenhoek*, 54, 301-323.
- Bryan, F. L., Standley, R. S., & Henderson, W. C. (1980, May). Time-Temperature Conditions of Gyros. *Journal of Food Protection*, 43(5), 346-353.
- Buchanan, R., Whiting, R., & Damert, W. (1997). When is simple good enough: a comparison of the Gombertz, Baranyi and three-phase lean models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiology*, 14, 313-326.
- Buchanan, R., & Doyle, M. (1997). Foodborne disease significance of Escherichia coli O157:H7 and other enterohemorrhagic E.coli. *Journal of Food Technology*, 51(10), 69-76.
- Buzdy, J. R. (1996, February). Bacterial foodborne disease: Medical costs and productivity losses.
- Cassens, G. R., Greaser, M. L., Ito, T., & Lee, M. (1979). Reactions of nitrite in meat. *Food Technology*(33), σσ. 46-48.
- Cassens, G. R., Ito, T., Lee, M., & Buege, D. (1978, October). The use in nitrite in meat. *Bioscience*, 28(10), σσ. 633-637.
- Chart, H. (2000). VTEC enteropathogenicity. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 12S-23S.

- Chung, K., & Goepfert. (1970). Growth of Salmonella at low pH. *Journal of Food Science*, 35, 3256-3328.
- Clifford, W. A. (1999). *A Mediterranean Feast: The Story of the Birth of the Celebrated Cuisines of the Mediterranean from the Merchants of Venice to the Barbary Corsairs, with More than 500 Recipes*. New York: William Morrow.
- Cornu, M., Billoir, E., Bergis, H., & Beaufort, A. (2011). Modeling microbial competition in food: Application to the behavior of *Listeria monocytogenes* and lactic acid flora in pork meat products. *Food Microbiology*, 28(4), 639-647.
- Cosgrove, M., Flynn, A., & Kiely, M. (2007). Consumption of red meat, white meat and processed meat in Irish adults in relation to dietary quality. *The British Journal of Nutrition*, 93(06), 933.
- Curing, W. F. (1987). Color formation and color retention in frankfurter type sausages. *Fleischwirtschaft*(2), 3-5.
- Dainty, R., & Mackey, B. (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology, Symp.Supp.* 73, 103S-114S.
- Dalgaard, P. (2002). Modeling and prediction the self-life of seafood. Στο *Safety and Quality Issues in Fish Processing* (σσ. 191-219). Cambridge, England: Woodhead Publishing.
- D'Aoust, J.-Y. (2000). Salmonella. Στο B. Lund, T. Baird-Parker, & G. Gould, *The microbiological safety and quality of food* (σσ. 1233-1299). Maryland, USA: Aspen Publishers.
- Dave, D., & Ghaly, A. (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486-510.
- Davidson, A. (2006). *Oxford Companion to Food* (2 εκδ.). Oxford: Oxford University Press.
- D'Evoli, L., Salvatore, P., Lucarini, M., Nicoli, S., Aguzzi, A., Gabrielli, P., & al., e. (2009). Nutritional value of traditional Italian meat-based dishes: influence of cooking methods and recipe formulation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(Suppl.5), 38-49.
- Diğrak, M., Gür, S., & Özçelik, S. (1995). Elazığ'da tüketime sunulan dönerlerin mikrobiyolojik kalitesi (Microbiological quality of döner kebab consumed in Elazığ). *Kükem Dergisi*, 18(2), 76-79.
- Doyle, M., Beuchat, L., & Montville, T. (2001). *Food microbiology, Fundamentals and frontiers* (2nd Edition εκδ.). Washington DC: ASM Press.
- Duffy, G., Walsh, C., Blair, I., & McDowell, D. (2006). Survival of antibiotic and antibiotic sensitive strains of *E.coli* O157 AND *E.coli* O26 in food matrices. *International Journal of Food Microbiology*, 109, 179-186.
- EFSA. (2007). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. *The EFSA Journal*, 98, 1-85.
- EFSA. (2013, November 13). Assessment of one published review on health risks associated with phosphate additives in food. *EFSA Journal*.

- FAO. (1992). *Meat and meat products in human nutrition in developing countries*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) .
- Garcia-Lopez, M., Prieto, M., & Otero, A. (1998). The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. Στο A. Davies, & R. Board, *The Microbiology of Meat and Poultry* (σσ. 1-34). London: Blackie Academic & Professional.
- Garthright, J. W. (1997). Three phase linear model for bacterial growth: a response. *Food Microbiology*, 14(4), 395-397.
- Geissler, C., & Singh, M. (2011). Iron, meat and health. *Nutrients*, 3(3), 283-316.
- Genigeorgis, C. (2005). Αιτήσια έκθεση αποτελεσμάτων ερευνητικού προγράμματος SMAS.
- Genigeorgis, C., & Koutsoumanis, K. (2005, January). Microbiology and safety of meat and meat products. *Meat and meat products*, 780-843.
- Genigeorgis, C., & Sofos, J. (1999). Inactivating human pathogens by processing and packaging . *International Conference on "Veterinary Aspect of Meat Production, Processing and Inspection"* (σσ. 195-231). Utrecht: ECCEAMST.
- Gerber, N., M.R.L, S., & Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science*, 81(1), 148-154.
- Gerber, N., Sceder, M., & Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat rimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science*, 81(1), 148-154.
- gfb. (2000). *gbg20*.
- Gill, C. (1998). Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, shepp and pigs. *The microbiology of Meat and Poultry*, 118-157.
- Grau, H. F. (1986). Microbial ecology of meat and poultry. *Advances in Meat Research*, 2, 1-47.
- guf. (n.d.).
- Hallberg, L., & Hulthén, L. (2000). Prediction of dietary iron absorption and bioavailability of dietary iron. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 1147-1160.
- Harries, J., Hubbard, A. W., Alder, F., & Kay, M. (1968). studies on the composition of food. 3. The nutritive value of beef from intensively reared animals. *British Journal of Nutrition*(22), 21-31.
- Higgs, J. D. (2000, March). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11(3), 58-89.
- Hills, J. B., & Wright, J. K. (1994). A new model for bacterial growth in heterogenous systems. *Journal of Theoretical Biology*, 168, 31-41.
- Hitchener, B., Egan, A., & Rogers, P. (1982). Characteristics of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged beef. *Journal of Applied Bacteriology*, 52, 31-37.
- ICMSF. (1996). *Microorganisms in foods. 5. Characteristics of microbial pathogens*. Gaithersburg MP: Aspen Publishers Inc.
- ICMSF. (1996). *Microorganisms in foods. Characteristics of microbial pathogens. 5.*

- ICMSF. (1998). *Microorganisms in foods 6. Microbial ecology of food commodities*. Gaithersburg MD: Aspen Publishers Inc.
- ICMSF. (1998). *Microorganisms in foods. 6. Microbial ecology of food commodities*. Gaithersburg MP: Aspen Publishers Inc.
- ICMSF. (2002). *Microorganisms in foods. 7. Microbiological testing in food safety management*. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers.
- INSRJ. (2006). *Tabela da Composição de Alimentos*. Lisbon.
- Jöckel, J., & Stengel, G. (1984). Döner Kebab"; Untersuchung und Beurteilung einer türkischen Spezialität. *Fleischwirtsch*, 64(5), 527-540.
- Kanne, J. (1979). S-nitrosocysteine (RSMO), an effective antioxidant in cured meat. *Journal American Oil Chemical Society*(56), 74-77.
- Karmas, E., & Harris, R. (1988). Nutritional Evaluation of Food Processing. *VNR*.
- Kayisoglou, S., Yilmaz, I., Demirci, M., & Yetim, H. (2003, October). Chemical composition and microbiological quality of the doner kebabs sold in Tekirdag market. *Food Control*, 14, σσ. 469-474.
- Kemp, C., Sensky, P., Bardsley, R., Buttery, P., & Parr, J. (2010). Tenderness-An enzymatic view. *Meat Science*, 84, 248-256.
- Kenneth, K. F. (2000). *Cambridge World History of Food* (Τόμ. 2). Cambridge: Cambridge University Press.
- Kochilas, D. (2004). *Street Food*. Αθήνα: Μοτίβο.
- Kończak, T. (2000). Influence postmortem factors on meat tenderness. *Gosp.mięsa*, 5, 28-31.
- Kongkachuichai, R., Napatthalung, P., & Charoensiri, R. (2002). Heme and nonheme iron content of animal products commonly consumed in thailand. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(4), 389-398.
- Koohmaraie, M. (1988). The role of endogenous proteases in meat tenderness. *Proceeding of 41st Annual Reciprocal Meat Conference*, 89-100.
- Koohmaraie, M. (1992). The role of Ca²⁺ dependent proteases (calpains) on post mortem proteolysis and meat tenderness. *Biochimie*, 74, 239-245.
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74, 34-43.
- Korzeniowski, W., Nowak, D., & Ostojka, H. (1998). The role of proteolytic enzymes to improve the meat tenderness. *Gosp.mięsa*, 8, 40-43.
- Kremezi, A., & Helou, A. (2010, October 7). What's in a food name. *Food and Language (Proceedings of the Oxford Symposium on Food and Cookery)*, σ. 204.
- Krüger, J., Schulz, V., & Kuntzer, J. (1993). öner kebab- Untersuchungen zum Handelsbrauch. *Fleischwirtschaft*, 73(11), σσ. 1242-1248.

- Kupeli, V. (1996). Yaprak Donerin Kimyasal Bilesimi ve Mikrobiyolojik Kalitesi.
- Lawrie, R. (1991). *Meat Science* (5th Edition εκδ.). Oxford: Pergamon.
- Limpitakis, N., Genigeorgis, C., Abraham, A., Leontidis, L., Gratarakis, S., & Iosifidou, E. (1999). Post harvest epidemiology of Salmonella enteritica in pork. Prevalence in the environment, carcasses and by-products in two slaughter houses in Greece. *Proceedings 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*, (σσ. 140-150). Washington DC. USA.
- Limpitakis, N., Leontides, L., & Genigeorgis, C. (2001). Critical control points for pig-carcass contamination in 2 Greek slaughterhouses. *Proceedings, 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in pork*, (σσ. 307-309). Leipzig.
- Lombardi-Boccia, G., Ginerva, L., & Aguzzi, A. (2005). Aspects of meat quality: Trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), 39-46.
- Lombardi-Boccia, G., Martinez-Dominguez, B., & Aguzzi, A. (2002). Total heme and non-heme iron in raw and cooked meats. *Journal of Food Science*, 67(5), 1738-1741.
- Lund, B., Baird-Parker, T., & Gould, G. (2000). *The microbiological safety and quality of food* (Τόμ. 2). Gaithersburg: Aspen Publishers Inc.
- Mann, J., Smith, L., & Brashears, M. (2004). Validation of time and temperature values as critical limits for Salmonella and background flora during production of fresh ground and boneless pork products. *Journal of Food Protection*, 67(7), 1389-1393.
- Mariani, J. F. (1999). *Oxford Companion to Food*. New York: Lebbar-Friedman :New York.
- Mataragas, M., Metaxopoulos, J., & Drosinos, E. (2002, August 12). Microbial interaction in cooked cured meat products under vacuum or modified atmosphere at 4°C. *Journal of Applied Microbiology*, 93(3), 363-373.
- McCance, & Widdowson. (1991). *The Composition of Foods*. Cambridge, U.K: 5th Ed. Holland, B. Welch, AA., Unwin, I.D., Buss, D.H., Paul, AA. and Southgate, D.A.T. Royal Society of Chemistry,.
- McClure, P., Baranyi, J., Boogard, E., & Kelly, T. (1993). A predictive model for the combined effect of pH, sodium chloride and storage temperature on the growth of *Brochothrix thermosphacta*. *International Journal of Food Microbiology*, 19(3), 161-178.
- McKellar, R. (1997). A heterogeneous population model for the analysis of bacterial growth kinetics. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 179-186.
- McKellar, R., & Lu, X. (2019). *Modelling microbial responses in foods*. Florida: CRC Press LLC.
- McLure, P. (2000). Survival of *Escherichia coli* in foods. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 61S-70S.
- McMeekin, T., Olley, J., Rosst., & Rakowsk. (1993). *Predictive Microbiology: Theory and Application*. New York: Research Studies Press Ltd.
- Mead, P. S. (1999, September-October). Food-related illness and death in the United States, Emerging infectious diseases. *EID Journal*, 5(5), 607-625. doi:10.3201/eid0505.990502
- Miller, M. F., Carr, M. F., Ramsey, C. B., Crockett, K. L., & Hoover, L. C. (2001). Consumer threshold for establishing the value of beef tenderness. *Journal of Animal Science*, 79, 3062-3068.

- Møller, C., Ilg, Y., Aabo, S., Christensen, B., Dalgaard, P., & Hansen, T. (2013). Effect of natural microbiota on of Salmonella spp. in fresh pork: A predictive microbiology approach. *Food Microbiology*, 2, 284-295.
- Molotsky, I. (1978, June 9). oys of Greece at L. I. Fair. *New York Times*(C), 21.
- Neath, K., Del Barrio, A., Lapitan, R., Herrera, J., Cruz, L., Fujihara, T., . . . Kanai, Y. (2007). Protease activity higher in postmortem water buffalo meat than Brahman beef. *Meat Science*, 77, 389-396.
- Newton, K., & Rigg, W. (1981). The effect of film permeability on the storage life and mivrobiology of vacuum-packed meat. *Journal of Applied Bacteriology*, 47, 433-441.
- Nicol, D., Shaw, M., & Ledward, D. (1970). Hydrogen sulphide production by bacteria and sulfmyoglobin formation in prepacked chilled beef. *Journal of Applied Microbiology*, 19, 937-939.
- Nottingham, P. (1982). Microbiology of carcass meat. *Meat Microbiology*, MH Brown ed., 1365.
- Nowak, P. (2011). Enzymes in Tenderization of Meat-The system of Calpains and other Systems- a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61(4), 231-237.
- Nuernbeg, K., Dannenberger, D., Nuernbeg, G., Ender, K., Voigt, J., Scollan, N., & al., e. (2005). Effect of a cross-based and a concentrate feeding system on meat quality characheristicsand fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science*, 94(1-2), 137-147.
- Nuernbeg, K., Fischer, K., Nuernbeg, G., Kuechenmeister, U., Klosowska, D., & al., e. (2005). Effects of dietary olive and linseed oil in lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. *Meat Science*, 70(1), 63-74.
- Ocherman, H. W. (1975). Chemistry of muscle and major organs. *Meat Hygiene*, 4th Edition.
- Oscar, T. (2009, February). Predictive Model for Survival and Growth of Salmonella Typhimurium DT104 on Chicken Skin during Temperature Abuse. *Journal of Food Protection*, 72(2), 304-314.
- Otten, J., Heelwing, & Meyers, L. (2006). Dietary reference intakes: The essential guide to nutrient requirements. *The National Academies Press*.
- Pellet, P., & Young, V. (1990). *Role of meat as a source of protein and essential amino acids in human nutrition*.
- Pence, J., Miller, R., Dutcher, R., & P.T., Z. (1945). Storage of thiamine in pork muscle. *Journal American Science*(4), 141-145.
- Pereira, P. M., & Vicente, A. F. (2013). Meat nutritional composition and nitrite role in the human diet. *Meat Science*(93), σσ. 586-592.
- Perigo, J. A., & Roberts, T. A. (1968, June). Inhibition of clostridia by nitrite. *International Journal of Food Science and Technology*, 3(2), 9194.
- Pestefanis, G., Brugiapaglia, A., Barge, M. T., & Dal Morin, E. (2008). Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shera force. *Meat Science*, 78, 153-156.

- Razavilar, V., & Genigeorgis, C. (1992). Probability of *Listeria* spp. as affected by species, pH, acids, temperature and storage time in a model broth. *3rd World Congress Foodborne Infections & Intoxication*, 1, σσ. 334,355-357. Bernir.
- Realini, M., Duckett, S., Brito, G., Dalla Rizza, M., & De Mattos, P. (2004). Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science*, 66(3), 567-577.
- Roberts, T., & Baranyi, J. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23, 277-294.
- Robin C. McKellar, X. L. (2004). *Modeling Microbial Responses in Food*. Canada: CRC Press.
- Ross, T. (1996, November). Indices for performance evaluation of predictive models on food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology*, 81(5), 501-508.
- Ross, T., Baranyi, J., & McMeekin, T. (1999). Predictive microbiology and Food Safety. Στο R. Batt, C. Pate, & P. Robison, *Encyclopedia of Food Microbiology* (σσ. 1699-1710). London: Academic London Press.
- Ross, T., Dalgaard, P., & Tienungoon. (2000, December 20). Predictive modeling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. *International Journal of Food Microbiology*, 62(3), 231-245.
- Rowbury, R. (1995). An assessment of environment factors influencing acid tolerance and sensitivity in *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and other enterobacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 20, 333-337.
- Russo, G., C., M., & F., F. (2006). Effect of cooking on the concentration of Vitamins B in fortified meat products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1592-1595.
- Sawyer, R. (1975). The Composition of Meat; Analytical Aspects. *Meat*, 287-301.
- Schmidt, P., O' Connor, A., Mc Kean, J., & Hurd, H. (2004). The association between cleaning and disinfection of lairage pens and the prevalence of *Salmonella enterica* in swine at harvest. *Journal of Food Protection*, 67, 1384-1388.
- Sentandreu, M., Coulis, G., & Ouali, A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends Food Science & Technology*, 13, 400-421.
- Sharma, M., Richards, G., & Beuchat, L. (2004). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in roast beef and salami after exposure to alkaline cleaner. *Journal of Food Protection*, 67, 2107-2116.
- Sofos, J. (1994). Microbial growth and its control in meat poultry and fish. *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*, 359-403.
- Stolle, A., Eisgruber, H., Kerschhofer, D., & Krause, G. (1993). The Gyros study on variation of the Doner kebab and Microbiological and Hygiene Aspects in Munich. *Fleischwirtschaft*, 834-837.
- Swan, B., & Harding, C. (1984). A numerical taxonomic study of lactic acid bacteria from vacuum-packed beef, pork, lamb and bacon. *Journal of Applied Bacteriology*, 56, 25-40.
- Swan, B., Harding, C., & Taylor, A. (1980). The microbiology and storage stability of vacuum packed lamb. *Journal of Food Technology*, 15, 397-405.

- Synnott, M., Morse, D., Maguire, H., & Cowden, J. (1993). An outbreak of *Salmonella mikawasima* associated with doner kebabs. *Epidemiology Infection Journal*, 111, 473-481.
- Takahashi, K. (1996). Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Science*, 43, 67-80.
- Taoukis, P., Koutsoumanis, K., & Nychas, G.-J. E. (1999). Use of time temperature integrator and predictive modeling for shelf control of chilled fish under dynamic storage conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 53, 21-31.
- Taylor, A., & Shaw, B. (1977). The effect of meat pH and package permeability on putrefaction and greening in vacuum packed beef. *Journal of Food Technology*, 12, 515-521.
- Taylor, R., Geesing, G., Thompson, V., Koohmaraie, M., & Goll, D. (1995). Is Z-disk degradation responsible for post mortem tenderization? *Journal of Animal Science*, 73, 1351-1367.
- Todd, E. C., Szabo, R., & Spiring, F. (1986, May). Donairs (Gyros)- Potential Hazards and Control. *Journal of Food Protection*, 49(5), σσ. 369-377.
- Toldrá, F. (2009). *Safety of meat and processed meat*. Valencia, Spain: Springer.
- Toldrá, F., Aristoy, M., & Flores, M. (2009). Relevance of nitrate and nitrite in dry-cured ham and their effects on aroma development. σσ. 291-296.
- Tornberg, E. (1996). Biophysical aspects of meat tenderness. *Meat Science*, 43, 175-191.
- USDA. (2011). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24.
- USDA. (April 1995- March 1996). *Nationwide pork microbiological baseline data collection program: Market hogs`*. Washington, DC: United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection.
- Vazgecer, B., Ulu, H., & Oztan, A. (2003). Microbiological and chemical qualities of chicken doner kebab related on Turkish restaurants. *Food Control*.
- Williams, P. (2007, September). Nutritional composition of red meat. *Nutrition and Dietetics Journal of Dietitians Australia*, 64(s4), S113-S119.
- Willshaw, G., Chaesty, J., & Smith, H. (2000). Στο B. Lund, T. Baird-Parker, & G. Gould, *The microbiological safety and quality of food*. Gaithersburg: Aspen Publishers.
- Wu, G. (2009, March 20). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Journal of Amino Acids*(39), 1-17.
- Yang, J., & Science, N. (1994). Sensory qualities and nutrient retention of beef strips prepared by different household cooking techniques. *Journal of American Dietetic Association*, 94(2), 2-5.
- Zor, K., Ortiz, R., Saatci, E., Bardsley, R., Parr, T., Csoregi, E., & Nistor, M. (2009). Label free capacitive immunosensor for detecting calpastatin-a meat tenderness biomarker. *Bioelectrochemistry*, 76, 93-99.
- Αρβανιτόγιαννης, Σ. Ι., Σάνδρου, Δ., & Κούρτης, Λ. (2001). *Ασφάλεια Τροφίμων:Εφαρμογή της ανάλυσης επικινδυνότητας και κρίσιμων σημείων ελέγχου HACCP στις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών*. Θεσσαλονίκη: University Studio Press.
- Αργυράκος, Α. (2011). *Τα πρόσθετα των τροφίμων*. Αθήνα: Ελίνακρον.

- Διαμαντίδης, Γ. Χ. (1994). *Εισαγωγή στην Βιοχημεία* (2η εκδ.). Θεσσαλονίκη: UNIVERSITY STUDIO PRESS.
- Θωμόπουλος, Δ. (2006). *Μαθαίνοντας τι είναι οι τροφες*. Παπασωτηρίου.
- Καραουλάνης, Γ. (1995). *Η χρήση των πρόσθετων ουσιών στην Βιομηχανία Τροφίμων*. Θεσσαλονίκη.
- Μπαλατσούρας, Γ. (2006). *Μικροβιολογία Τροφίμων*. Αθήνα : Έμβρυο.
- Μπόσκου, Γ. (2004). *Χημεία Τροφίμων* (5η εκδ.). Θεσσαλονίκη: Γαρταγάνη.
- Μπόσκου, Δ. (2004). *Χημεία Τροφίμων* (5η εκδ.). Θεσσαλονίκη : Γαρταγάνη.
- Πεξάρá, Α. Σ. (2005). *Νέα Τεχνολογία Παρασκευής "Γύρου" και Μελέτη των Παραγόντων που Επιδρούν στα Ποιοτικά Χαρακτηριστικά του Παραγόμενου Προϊόντος*. Θεσσαλονίκη.
- Τούνα, Ε. (2015, Ιούλιος/Αύγουστος). Βιομηχανίες γύρου: Αναπτύσσονται δυναμικά εντός και εκτός συνόρων . *Ψητό*(60). Ανάκτηση από <https://www.forummagazines.gr/psito/articles/biomixanies-gyroy-anaptyssontai-dynamika-entos-kai-ektos-synoron>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1. Βασικά χημικά συστατικά νωπού γύρου και τα επιτρεπόμενα όρια.

Περιεκτικότητα σε:	Επιτρεπόμενα όρια	Συνήθης όρια
Λιπαρές Ύλες	<30%	15-20%
Άλας	1%-1,4%	1,2%
Πρωτεΐνες	14% (v/v)	15-17%
Νερό*	25%*	10-12%
NaCl*	1-1,6%*	
Ph	>4,0	6,0-7,0

*Εκφράζεται ως ποσοστό της ολικής μάζας

Πηγή: Προδιαγραφές γύρου ΕΠΠ, Κώδικας Τροφίμων και Ποτών

Πίνακας 1.2. Επιτρεπόμενα βασικά βοηθητικά συστατικά του νωπού γύρου

Επιτρεπόμενα βοηθητικά συστατικά γύρου	Μέγιστα όρια
Άμυλο	<2%
Πρωτεΐνες	<2%
Φυτικές ίνες	<1%
Σάκχαρα	<1%

Πηγή: Κώδικας Τροφίμων και Ποτών

Πίνακας 1.3. Η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης και του λίπους σε προϊόντα χοιρινού κρέατος grams/caput/day (ranges in brackets) 1990

	Developing countries		Developed countries	
	Protein	Fat	Protein	Fat
Total	6.1	10.4	27.4	33.9
Pig meat	2.3	6.8	8.1	15.3

Πηγή: FAO, 1992

Πίνακας 1.4. Σύσταση των διαφορετικών κομματιών βόειου, χοιρινού και αρνίσιου κρέατος

	Cut of meat	Protein (%)	Moisture (%)	Pat (%)	Ash (%)	Cal/100 g
BEEF	Chuck	18.6	65	16	0.9	220
	Flank	19.9	61	18	0.9	250
	Loin	16.7	57	25	0.8	290
	Rib	17.4	59	23	0.8	280
	Topside	19.5	69	11	1.0	180
	Rump	16.2	55	28	0.8	320
PORK	Ham	15.2	53	31	0.8	340
	Loin	16.4	58	25	0.9	300
	Shoulder	13.5	49	37	0.7	390
	Spare rib	14.6	53	32	0.8	350
LAMB	Breast	12.8	48	37	0.7	380
	Leg	18.0	64	18	0.9	240
	Loin	18.6	65	16	0.7	220
	Rib	14.9	52	32	0.8	360
	Shoulder	15.6	58	25	0.8	300

Πηγή: Sawyer, 1975

Πίνακας 1.5. Η σύσταση των μυϊκών πρωτεϊνών, των πρωτεϊνών του συνδετικού ιστού και ορισμένων πρωτεϊνών προϊόντων κρέατος σε αμινοξέα (ma αμινοξέων/g πρωτεΐνης).

	Pork	Cured Processed Meats	MDM*	Actin	Myosin	Tropomyosin	Bovine Collagen	Bovine elastin
Aspartic acid	89	91	88	107	115	117	43	9
Threonine	51	49	32	77	54	31	18	9
Serine	40	42	38	58	41	40	35	7
Glumatic acid	145	129	142	140	229	320	99	19
Proline	46	52	61	50	25	6	114	106
Glycine	61	80	82	43	26	9	187	189
Alanine	63	64	67	58	59	89	74	158
Valine	50	52	61	49	47	29	23	140
Methionine	25	22	28	42	33	25	8	Tr
Cystine	13	15	15	12	11	9	-	-

Total SAA	38	37	43	43	54	44	34	8
Isoleucino	49	49	39	84	55	39	15	31
Leucine	75	74	80	82	108	121	28	72
Tyrosine	30	29	25	67	33	29	67	13
Phenylalanino	41	40	43	48	47	9	21	52
Total aromatic amino acids	71	69	68	115	80	38	88	65
Histidine	32	28	30	27	24	10	8	1
Lysine	78	74	78	70	146	184	30	4
Arginine	64	66	77	74	79	75	75	11
Tryptophan	13	10	5	20	9	-	-	-

*MDM : Mechanically Deboned Meat

Πηγή: Pellet *et al.*, 1990

Πίνακας 1.6. Η περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων στο λίπος χοιρινού κρέατος.

	Total fat (%)	Per cent of total fat		
		SFA	MUFA	PUFA
Pork Fat	71	37%	41%	15%

Πηγή: FAO,1992

SFA - Saturated Fatty Acids

MUFA - Monounsaturated Fatty Acids

PUFA - Polyunsaturated Fatty Acids

Πίνακας 1.7. Η περιεκτικότητα σε βιταμίνες και μέταλλα στο λίπος και στο άπαχο χοιρινό κρέας.

	Fe (mg)	Cu	Zn (mg)	A (mg)	D (mg)	E (mg)	B1 (mg)	B2 (mg)	Niacin (mg)	B6 (mg)	B12 (mg)	Folate (μg)	Pantothenate (μg)	Biotin(μg)
Λίπος	0.7	0.1	0.4	Tr	Tr	0.03	-	-	-	-	Tr	-	-	Tr
Άπαχο κρέας	0.9	0.15	2.4	Tr	tr	0	0.9	0.95	6	0.45	3	5	1	3

Πηγή: McCance *et al.*, 1990

Πίνακας 1.8. Όρια ορισμένων ενδογενών και εξωγενών παραγόντων παραγόντων ανάπτυξης ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών.

Παθογόνος μικροοργανισμός	Θερμοκρασία (°C)	pH	Άλμη(%)*	a _w	Ρυθμιστής a _w
<i>E.coli</i> O157:H7	4-46	4-9	<8	0,94-0,95	NaCl
<i>Salmonella spp.</i>	4-45	3,6-8,8	8	0,92-0,95	NaCl
<i>B.cereus</i>	4-49	4,35-9,3	7,5	0,92-0,94	NaCl glycerol
<i>Cl. Perfigens</i>	6,5-50	5-9	<7	0,93-0,95	
<i>S.aureus</i>	6,7-47	4-9,8 (+ O ₂) 4,7-8,8(-O ₂)	16-18(+ O ₂) 14-16(- O ₂)	0.83-0.86 (+O ₂)	

*Άλμη % = (%NaCl (w/v)*100)/(%NaCl + % water)

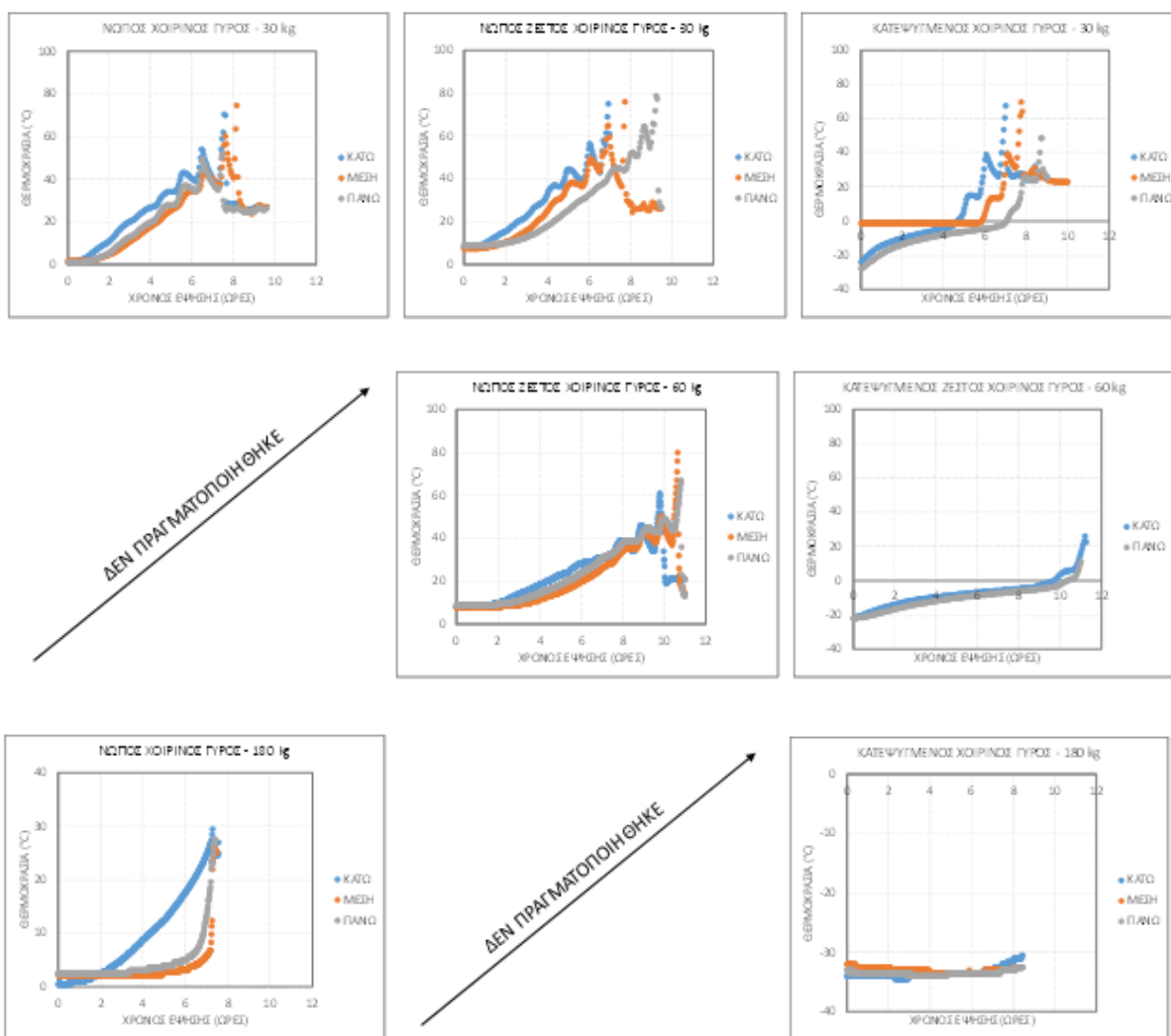
Πηγή: Προσαρμογή δεδομένων από ISMSF, 1996; 1998; 2002; Lund *et al.*, 2000; Doyle *et al.*, 2001

Πίνακα 2.1. Πειραματικές περιπτώσεις που μελετήθηκαν με στόχο προσομοίωση της αύξησης των παθογόνων *Salmonella* spp. και *C. sporogenes* έναντι των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την εψηση νωπού και κατεψυγμένου χοιρινού γύρου.

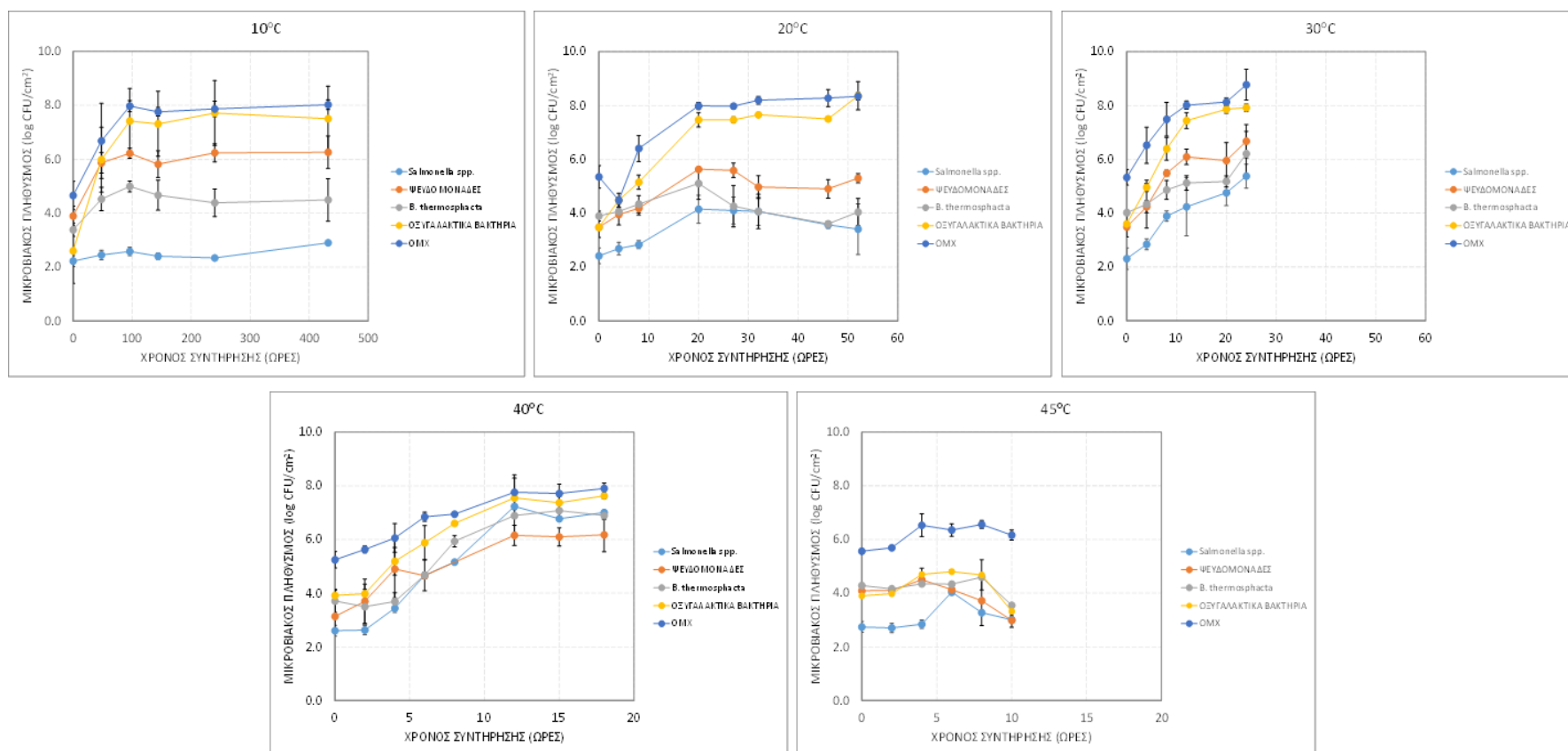
ΧΟΙΡΙΝΟΣ ΓΥΡΟΣ	ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΑΤΟΣ *	ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ
			ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΚΗΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ **
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΝΩΠΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>Salmonella</i> spp.	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΝΩΠΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	1 ΗΜΕΡΑΣ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΧΑΜΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ	<i>C. sporogenes</i>	ΥΨΗΛΟ	2 ΗΜΕΡΩΝ

* ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ: 2.5-3.0 log CFU/cm² & ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ: 4.5-5.0 log CFU/cm²

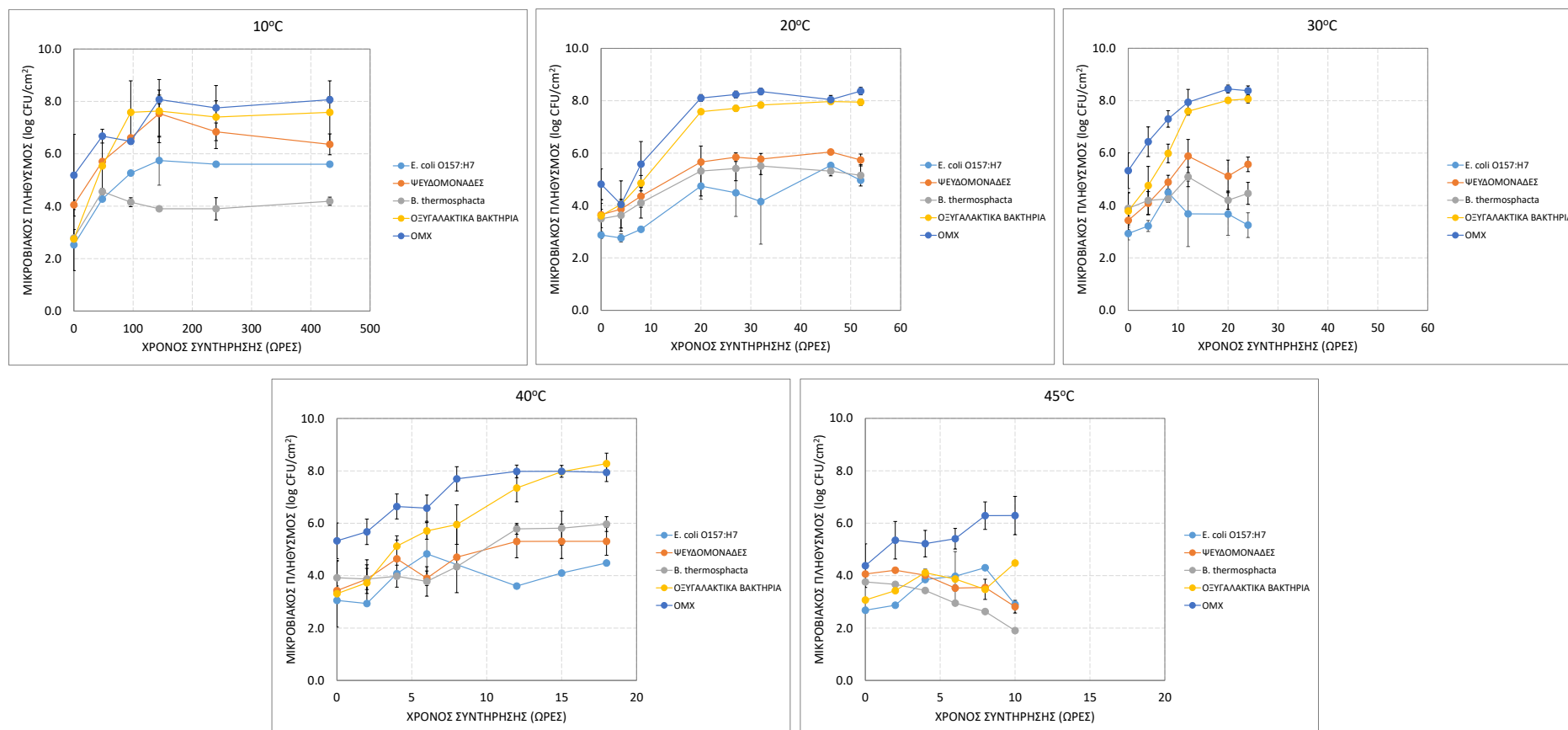
** 1 ΗΜΕΡΑΣ: 7-8 ΩΡΕΣ ΣΥΝΕΧΟΜΕΝΗΣ ΕΨΗΣΗΣ & 2 ΗΜΕΡΩΝ: 7-8 ΩΡΕΣ ΕΨΗΣΗΣ, ΕΝΔΙΑΜΕΣΗ ΠΑΡΑΜΟΝΗ ΓΙΑ 12 ΩΡΕΣ ΥΠΟ ΨΥΞΗ ΚΑΙ ΕΚ ΝΕΟΥ ΕΨΗΣΗ ΓΙΑ 4 ΩΡΕΣ.



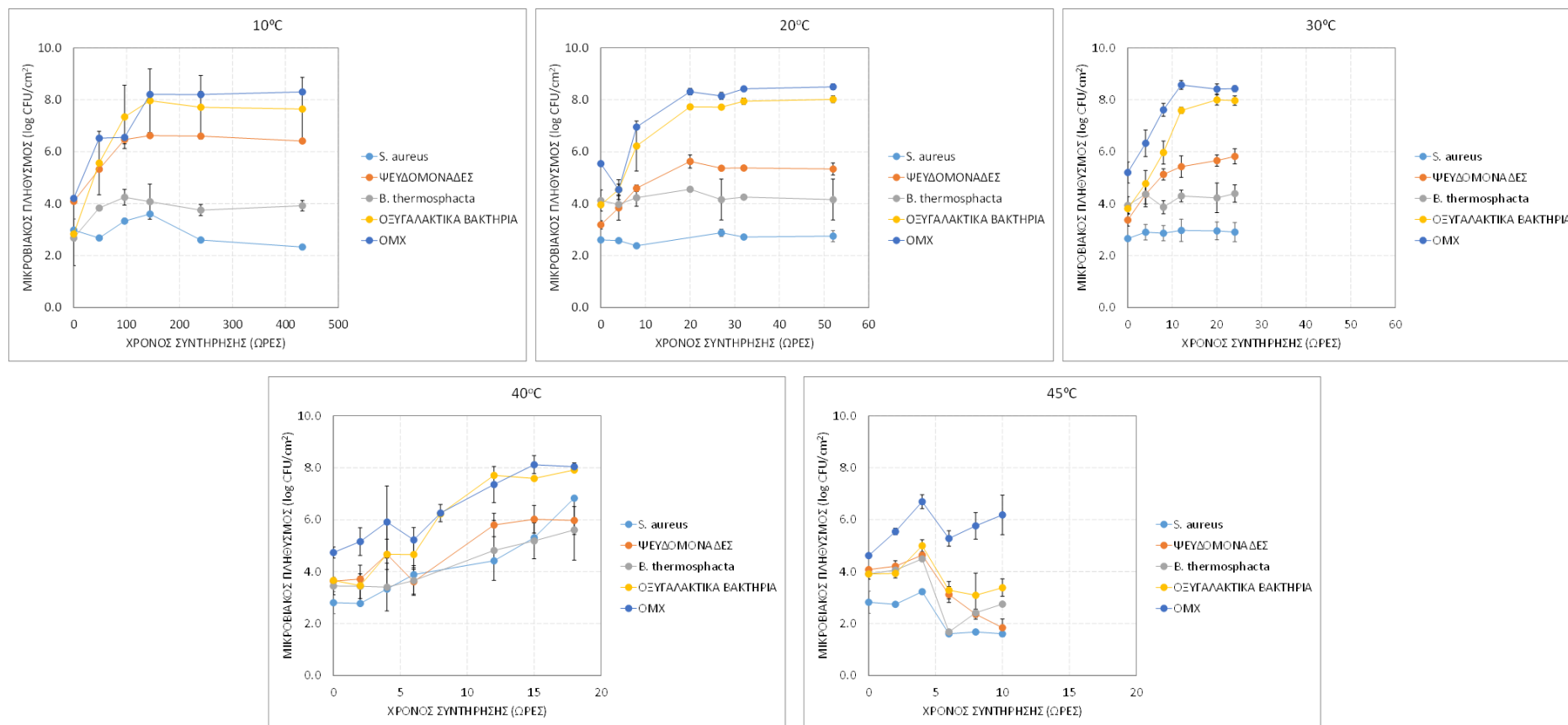
Γράφημα 3.1 Η μεταβολή της θερμοκρασίας σε συνάρτηση του χρόνου έψησης, σε νωπό, σε νωπό ζεστό και σε κατεψυγμένο γύρο χοιρινό διαφορετικών μεγεθών (30, 60 και 180 kg) και σε διαφορετικά ύψη του γύρου (πάνω και κάτω μέρος και στη μέση).



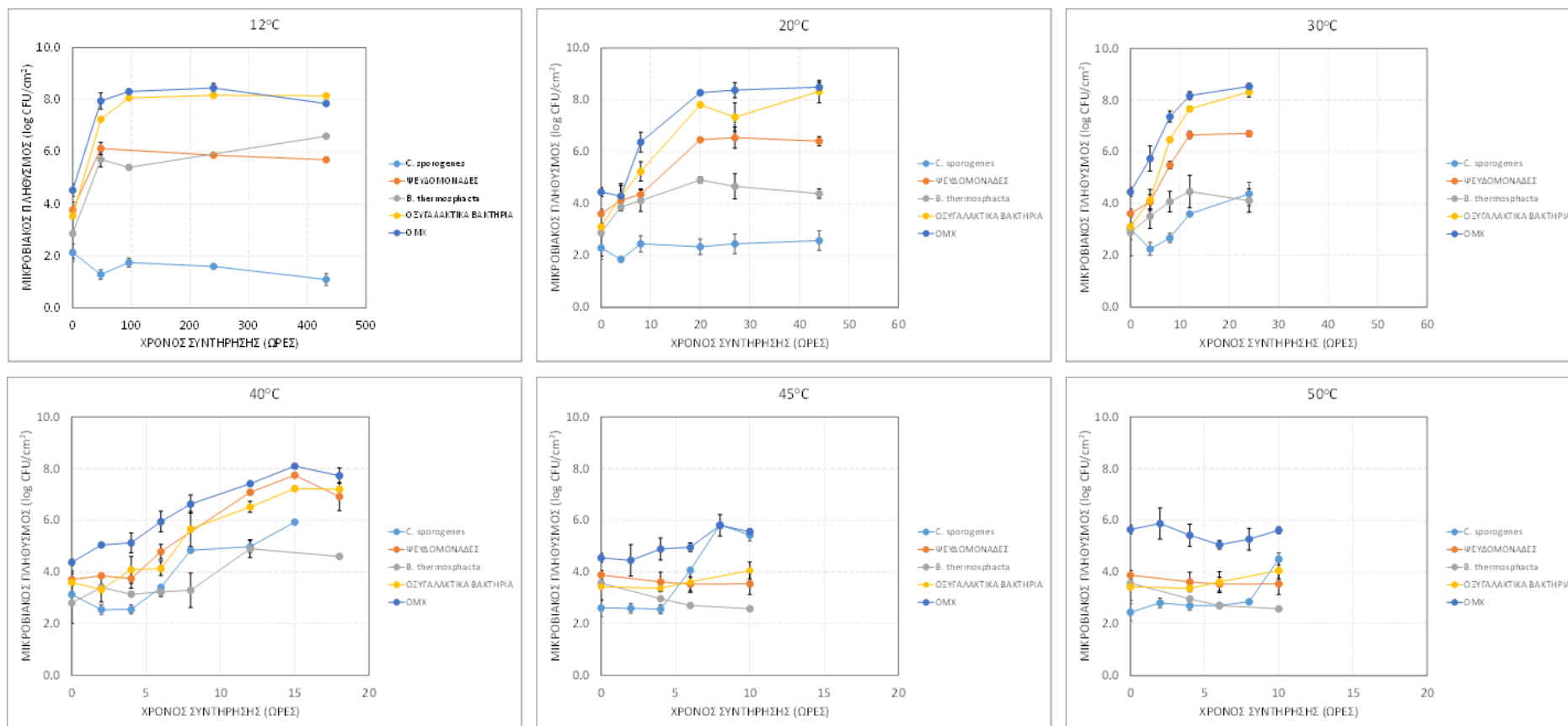
Γράφημα 3.2 Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *Salmonella* spp. μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 10, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού (n=4) συναρτήσει αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX.



Γράφημα 3. 3. Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *E. coli* O157:H7 μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 10, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού ($n=4$) συναρτήσει αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX.



Γράφημα 3. 4. Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *Staph. aureus* μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 10, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού (n=4) συναρτήσει αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX



Γράφημα 3.5. Καμπύλες αύξησης του παθογόνου *C. sporogenes* μετά από ενοφθαλμισμό τεμαχίων (διαστάσεις: 5 x 5 cm) νωπού χοιρινού γύρου με 2.5 – 3.0 log CFU/cm² και μετέπειτα συντήρηση στους 12, 20, 30, 40, 45 και 50°C υπό συσκευασία κενού (n=4) συναρτήσεως αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, *B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια και OMX.

Πίνακας 3.1. Κινητικές παράμετροι (Y_0 (log CFU/cm²); $Y_{\max}$ (log CFU/ cm²); $\mu_{\max}$ (h⁻¹); λ (h)) των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *S. aureus*, (*C. sporogenes*), και του κυρίαρχου αλλοιογόνου (οξυγαλακτικά βακτήρια) οι οποίες προκύπτουν από την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στο πρωτογενές μοντέλο των Baranyi and Roberts κατά την συντήρηση τεμαχίων χοιρινού γύρου (διαστάσεις: 5 x 5 cm) στους 10 ή 12, 20, 30, 40 και 45°C υπό συσκευασία κενού (n=4).

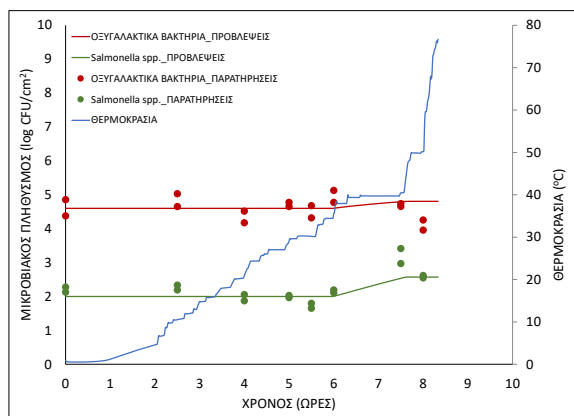
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (°C)	Y_0 (log CFU/cm ²)	$Y_{\max}$ (log CFU/cm ²)	$\mu_{\max}$ (h ⁻¹)	λ (h)
<i>Salmonella</i> spp.	10	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	20	2.3 ± 0.1	4.0 ± 0.5	0.085 ± 0.014	—
	30	1.9 ± 0.1	5.3 ± 0.3	0.272 ± 0.008	—
	40	2.3 ± 0.2	7.1 ± 0.1	0.466 ± 0.087	2.5 ± 0.9
	45	2.6 ± 0.1	3.7 ± 0.1	0.176 ± 0.064	—
<i>E. coli</i> 0157:H7	10	2.6 ± 0.2	5.6 ± 0.3	0.034 ± 0.006	—
	20	2.6 ± 0.2	5.4 ± 0.0	0.122 ± 0.094	—
	30	2.8 ± 0.3	4.6 ± 0.1	0.195 ± 0.020	—
	40	2.8 ± 0.3	4.7 ± 0.2	0.563 ± 0.213	3.1 ± 0.5
	45	2.6 ± 0.1	3.6 ± 0.0	0.208 ± 0.055	—
<i>S. aureus</i>	10	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	20	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	30	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	40	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	0.404 ± 0.186	Δ.Π.Α.
	45	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
<i>C. sporogenes</i>	12	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	20	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
	30	2.1 ± 0.4	—	0.181 ± 0.101	—
	40	2.9 ± 0.2	—	0.268 ± 0.042	2.5 ± 0.1
	45	2.1 ± 0.2	—	0.391 ± 0.147	4.7 ± 0.0
	50	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.
ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ	10	2.7 ± 0.2	7.6 ± 0.2	0.062 ± 0.008	—
	20	3.6 ± 0.2	8.0 ± 0.4	0.222 ± 0.053	3.5 ± 0.7
	30	3.6 ± 0.5	8.0 ± 0.1	0.327 ± 0.036	—
	40	3.7 ± 0.6	13.0 ± 9.3	0.253 ± 0.027	—
	45	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.	Δ.Π.Α.

Δ.Π.Α.: Δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη.

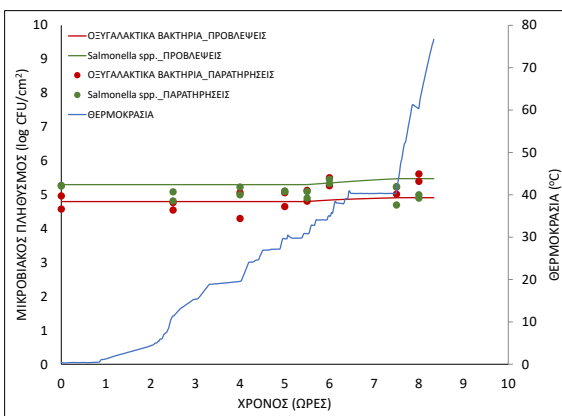
Πίνακας 3.2. Παράμετροι και στατιστικά για τα δευτερογενή μοντέλα Rosso περιγραφής της θερμοκρασίας στον ρυθμό ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών *Salmonella* spp., *E. coli* 0157:H7, *S. aureus* και *C. sporogenes* σε τεμάχια χοιρινού γύρου (διαστάσεις: 5 x 5 cm) ενοφθαλμισμένου με 2.5-3.0 log CFU/cm² και συσκευασμένου σε κενό (n=4).

Μικροοργανισμός	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ								RMSE
	T _{min} (°C)		T _{max} (°C)		T _{opt} (°C)		μ _{opt} (h ⁻¹)		
	M.T. ± T.A.*	p-value	M.T. ± T.A.	p-value	M.T. ± T.A.	p-value	M.T. ± T.A.	p-value	
<i>Salmonella</i> spp.	8.02 ± 4.18	0.07	45.42 ± 0.52	0.00	40.97 ± 2.18	0.00	0.495 ± 0.040	0.00	0.045
<i>E. coli</i> 0157:H7	6.22 ± 6.04	0.30	47.98 ± 0.35	0.00	38.99 ± 1.03	0.00	0.311 ± 0.026	0.00	0.051
<i>S. aureus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>C. sporogenes</i>	14.25 ± 2.76	0.00	50.54 ± 1.00	0.00	47.66 ± 1.72	0.00	0.349 ± 0.049	0.00	0.019
ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ	4.24 ± 2.84	0.10	49.82 ± 2.42	0.00	30.76 ± 0.82	0.00	0.327 ± 0.013	0.00	0.030

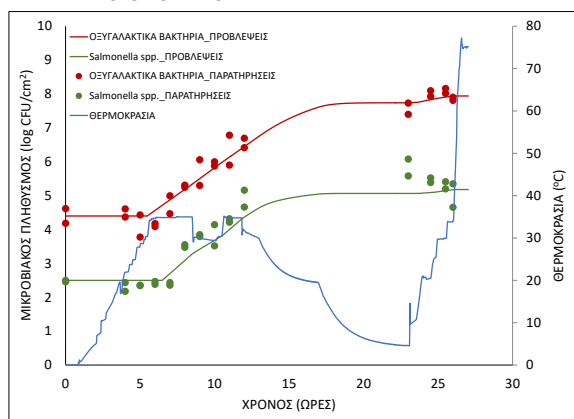
ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



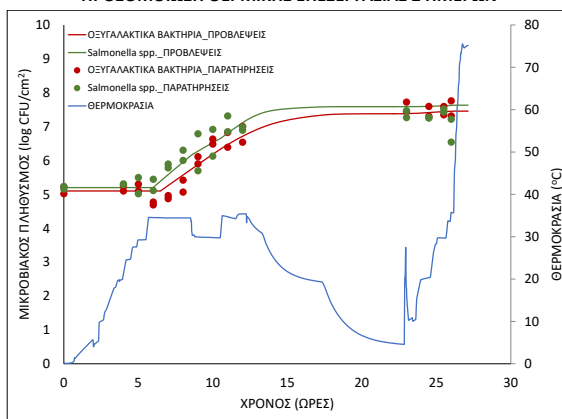
ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

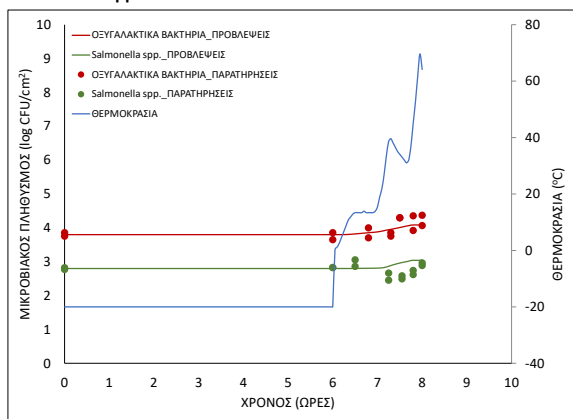


ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

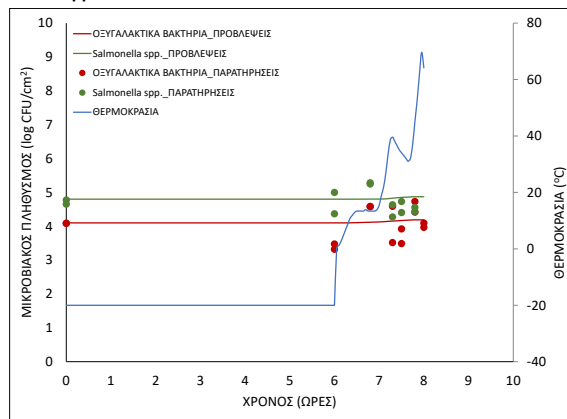


Γράφημα 3.6. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *Salmonella* spp. (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε νωπό χοιρινό γύρο.

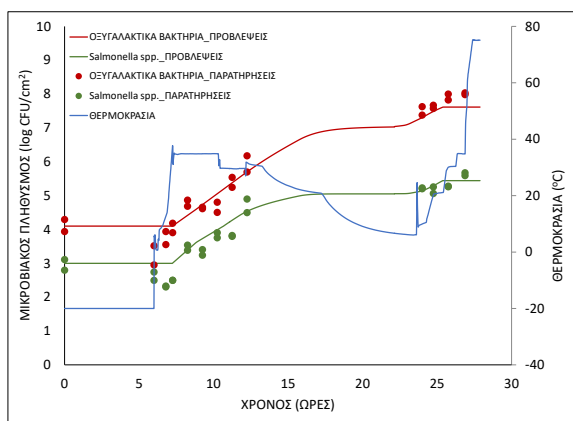
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



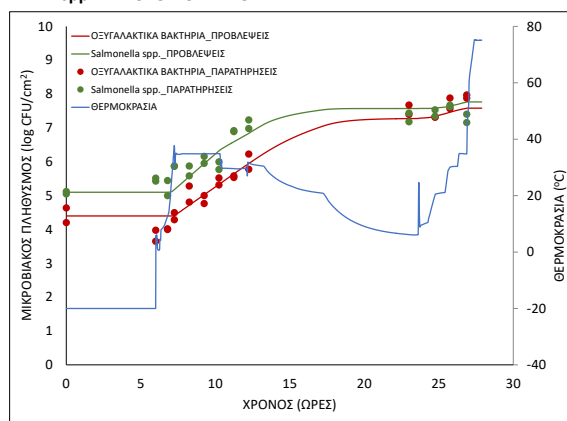
ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ



ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

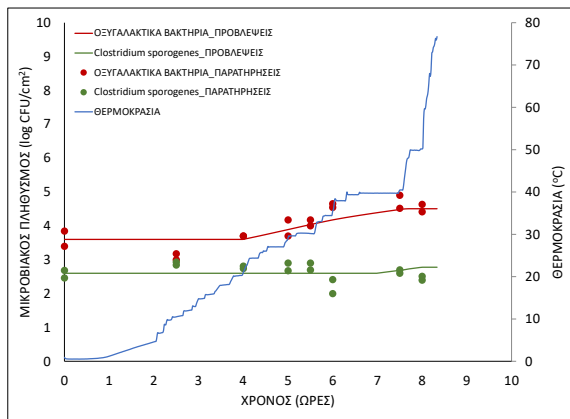


ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *Salmonella* spp. – ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ

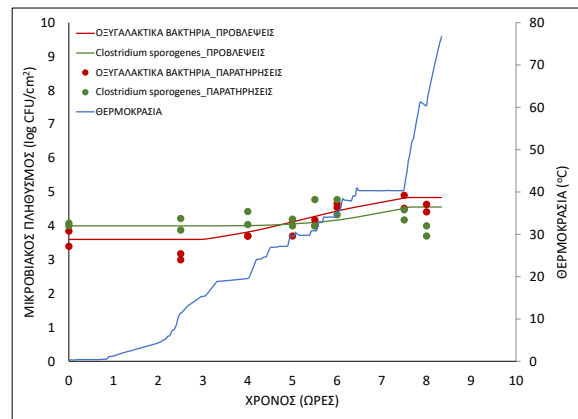


Γράφημα 3.7. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *Salmonella* spp. (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε κατεψυγμένο χοιρινό γύρο.

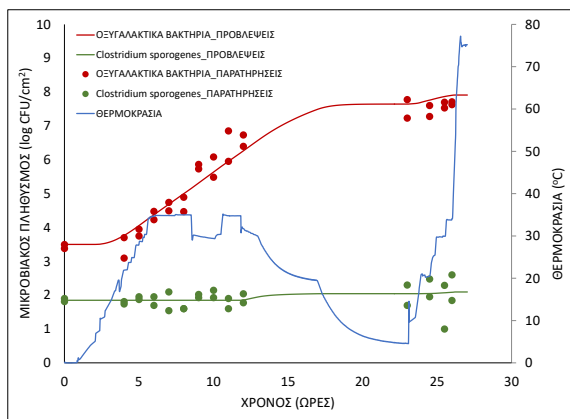
**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ**



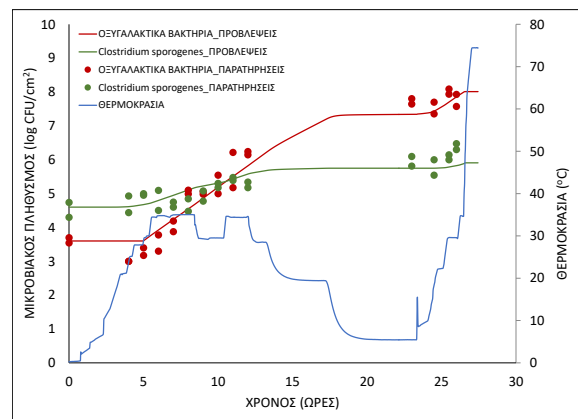
**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 1 ΗΜΕΡΑΣ**



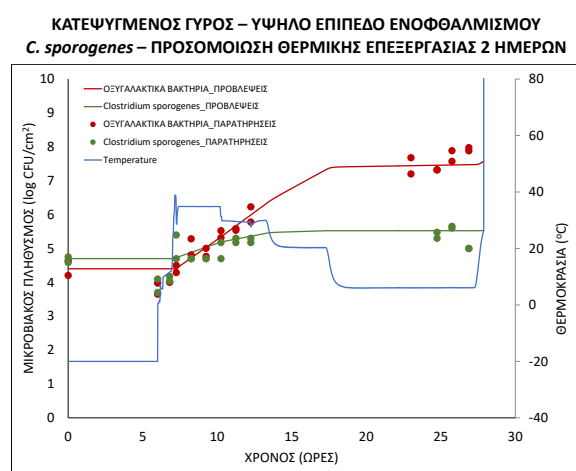
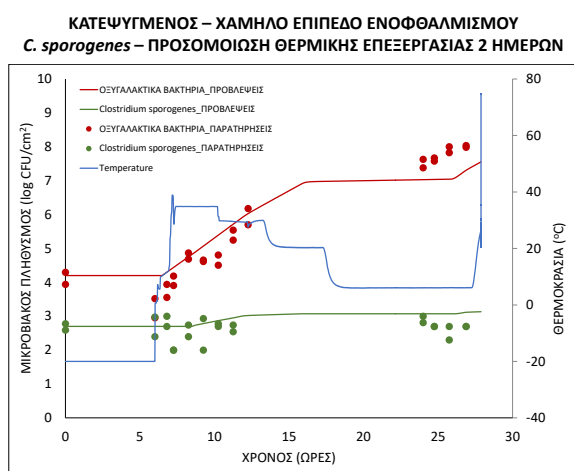
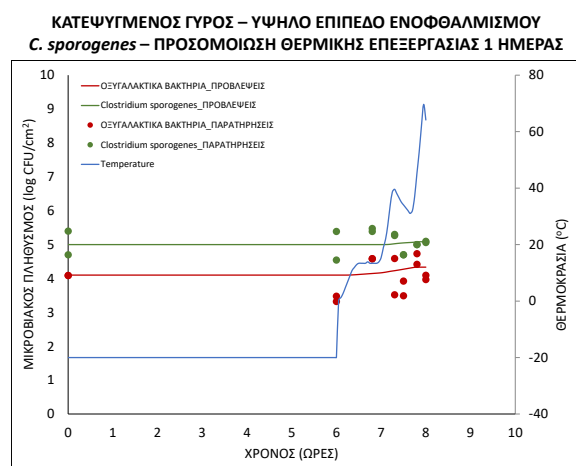
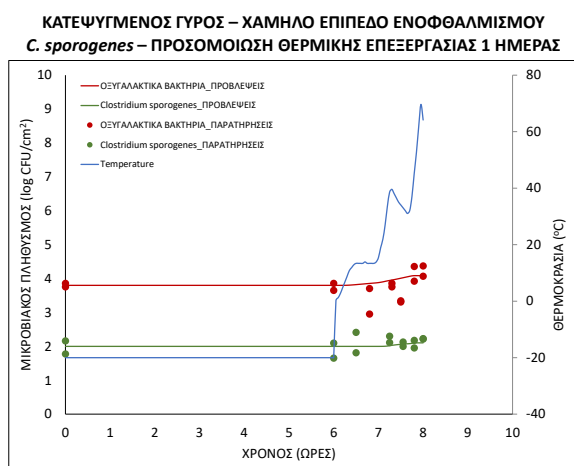
**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΧΑΜΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ**



**ΝΩΠΟΣ ΓΥΡΟΣ – ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΥ *C. sporogenes*
– ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ 2 ΗΜΕΡΩΝ**



Γράφημα3.8. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *C. sporogenes* (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε νωπό χοιρινό γύρο.



Γράφημα 3.9. Διαγράμματα επικύρωσης των δευτερογενών μοντέλων αύξησης του παθογόνου *C. sporogenes* (χαμηλό και υψηλό επίπεδο ενοφθαλμισμού) και των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την προσομοίωση θερμικής επεξεργασίας 1 ημέρας & 2 ημερών σε κατεψυγμένο χοιρινό γύρο.