



ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των κολοβακτηριοειδών και της *E.coli* σε νωπά μη συσκευασμένα και συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους στους +5°C .

Γεροπούλου Ευαγγελία – Κουκουλίδου Όλγα

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2014

**Μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των κολοβακτηριοειδών και της *E.coli* σε
νωπά μη συσκευασμένα και συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου κατά τη
διάρκεια της συντήρησής τους στους +5°C .**

Γεροπούλου Ευαγγελία – Κουκουλίδου Όλγα

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ΑΤΕΙ), Τμήμα
Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη ΤΘ 141

Υποβολή πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή
του πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

**Μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των κολοβακτηριοειδών και της *E.coli* σε
νωπά μη συσκευασμένα και συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου κατά τη
διάρκεια της συντήρησής τους στους +5°C.**

Γεροπούλου Ευαγγελία – Κουκουλίδου Όλγα

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ΑΤΕΙ), Τμήμα
Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη ΤΘ 141,

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η μεταβολή του αριθμού των κολοβακτηριοειδών και της *E.coli* σε συσκευασμένα και μη συσκευασμένα τεμάχια νωπού κοτόπουλου κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους στους +5°C και μετά από συντήρηση 0, 5 και 10 ημερών.

Κατά την ημέρα σφαγής, η καταμέτρηση των coliforms στα συσκευασμένα και μη συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (0.5-1.0 log). Αυτή η πολύ μικρή διαφορά αφορούσε στα συσκευασμένα τεμάχια και μπορεί να εξηγηθεί με την περαιτέρω μόλυνση που συμβαίνει κατά τη συσκευασία.

Κατά την 5^η ημέρα συντήρησης ενώ το μπούτι και η κοιλιακή κοιλότητα, σε σύγκριση με την ημέρα σφαγής (ημέρα 0), παρουσίασαν οριακή ή καμία στατιστικά σημαντική αύξηση των coliforms, στο στήθος διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση που αποδίδεται στη διαφορετική δομική συγκρότηση του κρέατος του στήθους σε σχέση με τα άλλα τεμάχια. Στα δείγματα της 5^{ης} ημέρας συντήρησης παρατηρήθηκαν ορισμένες ανεπιθύμητες μεταβολές στα χαρακτηριστικά του κρέατος, δηλ. ελαφριά οσμή ξινίλας και ελαφρές μεταβολές στο χρώμα του κρέατος.

Κατά τη 10^η ημέρα συντήρησης ο αριθμός των coliforms έφθασε σε επίπεδο 5.0-5.5 log. Παρατηρήθηκε έντονα δυσάρεστη οσμή, γλοιώδες στρώμα, εκτεταμένες ανεπιθύμητες μεταβολές του χρώματος και αλλοίωση της συνοχής του κρέατος.

Η παρουσία της *E.coli* κυμάνθηκε σε επίπεδο χαμηλότερο των 2.0 log με πτωτική τάση μετά από συντήρηση 5 ημερών. Αυτό φανέρωσε το μη ψυχρότροφο χαρακτήρα του βακτηρίου και έδειξε την πολύ περιορισμένη σημασία της *E.coli* ως μέλος της αλλοιογόνου μικροβιοχλωρίδας στα τεμάχια νωπού κοτόπουλου.

Λέξεις κλειδιά: πουλερικά, coliforms, *E.coli*

1. Εισαγωγή	1
2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	2
2.1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των πουλερικών	2
2.2 Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά των πουλερικών	2
2.3 Τρόποι μόλυνσης των πουλερικών και των σφαγείων	3
2.4 Μικροοργανισμοί αλλοίωσης των νωπών κοτόπουλων	5
3. Σκοπός εργασίας	12
4. Υλικά και μέθοδοι	13
4.1 Δείγματα- Δειγματοληψία	13
4.2 Ομογενοποίηση- Παρασκευή διαδοχικών αραιώσεων	14
4.3 Καταμέτρηση των coliforms	14
4.4 Αρίθμηση της <i>E.coli</i>	15
4.5 Στατιστική ανάλυση	15
5. Αποτελέσματα	16
5.1 Καταμέτρηση των coliforms στα συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου	17
5.1.1 Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο μπούτι.	17
5.1.2 Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο στήθος.	18
5.1.3 Πληθυσμός των coliforms σε νωπή συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.	19
5.2 Καταμέτρηση της <i>E.coli</i> στα συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου.	20
5.2.1 Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπό συσκευασμένο μπούτι.	20
5.2.2 Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπό συσκευασμένο στήθος.	21
5.2.3 Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπή συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.	22
5.3 Καταμέτρηση των coliforms στα μη συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου.	23
5.3.1 Πληθυσμός των coliforms σε νωπό μη συσκευασμένο μπούτι.	23
5.3.2 Πληθυσμός των coliforms σε νωπό μη συσκευασμένο στήθος.	24

5.3.3	Πληθυσμός των coliforms σε νωπή μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.	25
5.4	Καταμέτρηση της <i>E.coli</i> στα μη συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου.	26
5.4.1	Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπό μη συσκευασμένο μπούτι.	26
5.4.2	Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπό μη συσκευασμένο στήθος.	27
5.4.3	Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπή μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.	28
5.5	Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των coliforms μεταξύ συσκευασμένου και μη συσκευασμένου τεμαχίου νωπού κοτόπουλου.	29
5.5.1	Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο μπούτι.	29
5.5.2	Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο στήθος.	30
5.5.3	Πληθυσμός των coliforms σε νωπή συσκευασμένη και σε μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.	31
5.6	Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού της <i>E.coli</i> μεταξύ συσκευασμένου και μη συσκευασμένου τεμαχίου νωπού κοτόπουλου.	32
5.6.1	Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο μπούτι.	32
5.6.2	Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο στήθος.	33
5.6.3	Πληθυσμός της <i>E.coli</i> σε νωπή συσκευασμένη και σε μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.	34
6.	Συζήτηση- Συμπεράσματα	35
6.1	Οπτικός έλεγχος.	35
6.2	Αρίθμηση των coliforms.	36
7.	Βιβλιογραφία	38

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ραγδαία αύξηση του πληθυσμού στον πλανήτη μας και η βελτίωση του βιοτικού επιπέδου του ανθρώπου δημιούργησε την ανάγκη να παράγονται όλο και μεγαλύτερες ποσότητες τροφίμων. Μεταξύ αυτών το κρέας αποτελεί ένα σημαντικό μέρος μιας υγιεινής και ισορροπημένης διατροφής. Ειδικά το κρέας των πουλερικών καταναλώνεται σε μεγάλες ποσότητες. Εκτιμάται ότι παγκοσμίως παράγονται 55.000.000 τόνοι πουλερικών ετησίως (Brown, 1993). Στις ΗΠΑ και στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης το 70-80% των πουλερικών είναι κοτόπουλα και το 19% γαλοπούλες (Anonymous, 1993). Άλλα πουλερικά, όπως χήνες, πάπιες, ινδιάνοι, φασιανοί και περιστέρια, παράγονται επίσης σε μεγάλες ποσότητες σε ορισμένα μέρη του πλανήτη μας. Η χώρα με τη μεγαλύτερη παραγωγή πουλερικών είναι η Κίνα. Ακολουθούν οι ΗΠΑ με αριθμό σφαγίων περίπου 8,5 εκατομμύρια (USDA, 2013), η Ινδονησία, η Βραζιλία και η Ινδία, ενώ σημαντική βιομηχανία παραγωγής πουλερικών υπάρχει και στην Τουρκία, τη Ρωσία και τη Γαλλία (FAO, 2007). Υπολογίζετε ότι διεθνώς το 10% περίπου της παραγωγής κρέατος πουλερικών διακινείται εμπορικά μεταξύ διαφόρων κρατών. Οι κύριες εξαγωγικές χώρες είναι οι ΗΠΑ (20%), η Γαλλία (18%), η Ολλανδία (15%), η Βραζιλία (11%), η Ουγγαρία (6%), η Ταϊλάνδη (6%) και η Κίνα (4%) (ICMSF, 1998).

Η μικροβιολογία των πουλερικών είναι παρόμοια με εκείνη των ερυθρών κρεάτων. Όπως για τα ερυθρά κρέατα, έτσι και για τα πουλερικά σημασία παρουσιάζουν το ύψος του μικροβιακού φορτίου και η παρουσία παθογόνων βακτηρίων (Gill and Badoni, 2004). Υψηλό μικροβιακό φορτίο σε νωπά πουλερικά αποτελεί δείκτη κακής υγιεινής κατά τη σφαγή (Sofos, 1994). Ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζουν τα παθογόνα βακτήρια. Τα νωπά προϊόντα πουλερικών συχνά είναι μολυσμένα με παθογόνα, όπως *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni* και *Yersinia enterocolitica*. Έτσι πολλές φορές τα πουλερικά έχουν ενοχοποιηθεί ως μέσο διάδοσης γαστρεντερίτιδων από *E.coli*, σαλμονελάσεων, σταφυλοκοκκικών τροφοτοξινώσεων και άλλων εντερικών νοσημάτων (Grau, 1986; Mead, 1982).

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των πουλερικών

Το κρέας των πουλερικών αποτελείται από μυικό ιστό, δέρμα, συνδετικό ιστό και τα εδώδιμα όργανα. Έχει περιεκτικότητα νερού 71%, πρωτεΐνης 20% και λίπους περίπου 3% (Lambert et al., 1991). Το λίπος μάλιστα βρίσκεται κάτω από το δέρμα και την κοιλιακή κοιλότητα σε αντίθεση με το κόκκινο κρέας που το λίπος του βρίσκεται μέσα στους ιστούς. Επίσης περιέχει υδατάνθρακες, μη πρωτεϊνικές διαλυτές οργανικές και ανόργανες ουσίες και δευτερεύοντα συστατικά όπως βιταμίνες, χρωστικές και αρωματικές ουσίες (Lawrie, 1991).

Η ενεργότητα νερού είναι 0,98-0,99% και το pH, που αλλάζει με βάση το μέρος του σώματος των πουλερικών, είναι 5,7-5,9 στο στήθος, 6,4-6,7 στο μπούτι και περίπου 7 στο δέρμα (Adamcic and Clark, 1970).

2.2 Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά των πουλερικών

Η ασφάλεια όλων των τροφίμων που προορίζονται για κατανάλωση εξαρτάται κυρίως από το μικροβιακό τους φορτίο. Το κρέας αποτελεί ιδανικό υπόστρωμα ανάπτυξης για πολλούς μικροοργανισμούς λόγω της υψηλής υγρασίας, των αζωτούχων ενώσεων, του λίπους, των υδατανθράκων, των ανόργανων αλάτων και των παραγόντων ανάπτυξης που περιέχει. Επίσης, η έκταση της επιφάνειας του κρέατος, που ευνοεί τη γρήγορη αλλοίωση του, το pH του που είναι κατάλληλο για τους πιο πολλούς μικροοργανισμούς, το οξυγόνο που ευνοεί τα αερόβια βακτήρια στην επιφάνεια του και η θερμοκρασία διατήρησής του είναι άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροβίων (Παπαντωνίου, 2011).

Η μικροχλωρίδα των πουλερικών αποτελείται από μικροοργανισμούς μεσόφιλους αερόβιους, ψυχρότροφους, της οικογένειας των Enterobacteriaceae και Micrococcaceae, κολοβακτηρίδια και εντερόκοκκους (Rio et al, 2006).

Πιο συγκεκριμένα τα πιο σημαντικά βακτήρια είναι *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Shigella*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Alcaligenes*, *Sarcina* κα. Από τις ζύμες τα σημαντικότερα γένη είναι

Trichosporon, *Torulopsis*, *Candida* και *Rhodotorula*, οι πιο σημαντικοί μύκητες είναι *Penicillium*, *Aspergillus* και *Geotrichum* (ICMSF, 1998).

Κύριοι μικροοργανισμοί δείκτες της υγιεινής κατάστασης των πουλερικών, που εξετάζονται και στην παρούσα εργασία, είναι τα κολοβακτηρίδια (coliforms) που ανήκουν στην οικογένεια των Enterobacteriaceae και η *E.coli* που αποτελεί δείκτη σίγουρης εντερικής προέλευσης (Elnawawi et al, 2012).

2.3 Τρόποι μόλυνσης των πουλερικών και των σφαγείων

Κατά τη διαδικασία παραγωγής, ανάπτυξης και σφαγής των πουλερικών υπάρχει μεγάλος κίνδυνος μόλυνσής τους λόγω των κακών συνθηκών του περιβάλλοντος. Η μόλυνση των πουλερικών διακρίνεται σε ενδογενή και σε εξωγενή μόλυνση.

Ενδογενής μόλυνση

Η ενδογενής μόλυνση γίνεται από το εσωτερικό του αυγού μέσα από τις ωθήκες ή τις σάλπιγγες, όπου αναπτύσσεται το αυγό ή αργότερα με τη διείσδυση μικροοργανισμών μέσω του κελύφους. Συγκεκριμένα μερικοί μικροοργανισμοί, όπως *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* κτλ, περνούν από τις ωθήκες στο ωάριο και από τις σάλπιγγες στον κρόκο, στο λεύκωμα και τις μεμβράνες κατά το σχηματισμό του αυγού με αποτέλεσμα να γεννιούνται άρρωστα πουλερικά που είναι δυνατό να μολύνουν και άλλα. Όλα τα πτηνοτροφεία πλέον εγγυώνται την απομάκρυνση των άρρωστων πτηνών από τα σμήνη ή τη θεραπεία αυτών, για να μην αποτελούν πηγή παθογόνων μικροοργανισμών για τα άλλα πουλερικά και για τον άνθρωπο (Edel, 1994). Παρόλα αυτά τα εκκολαπτήρια δεν παύουν να αποτελούν πηγή μολύνσεων, αφού τα αυγά έρχονται σε επαφή με απόβλητα, κόπρανα και χνούδια που είναι μικροβιολογικά επιβαρυνμένα και είναι εύκολο να επιμολυνθούν. Έχουν λοιπόν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι για την προστασία τους, όπως η απολύμανση με φορμαλδεΰδη ή ακόμα εμβάπτιση ή εμβολιασμός με αντιβιοτικά πριν την εκκόλαψη (Bayley et al., 1994).

Η τροφή και το νερό που καταναλώνουν τα πουλερικά είναι επίσης σημαντική πηγή παθογόνων μικροοργανισμών. Λόγω των συστατικών ζωικής προέλευσης, όπως τα ιχθυάλευρα, υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης με σαλμονέλα, ενώ το νερό το οποίο είναι

εκτεθειμένο σε σκόνη, σκουπίδια, τροφή, πούπουλα και κόπρανα συχνά αποτελεί εστία σοβαρών παθογόνων μικροοργανισμών (Patterson and Gibbs, 1977). Το έδαφος και ο αέρας στους χώρους παραμονής των πουλερικών αποτελούν πηγές επιμόλυνσης. Όσο επικρατεί υγρασία σε έδαφος, απόβλητα και τροφή υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης μυκήτων και ζυμών (Turnbull and Snoeyenbos, 1973).

Εξωγενής μόλυνση

Η εξωγενής μόλυνση είναι πιο σημαντική από την ενδογενή γιατί αφορά την επιμόλυνση του σφαγίου κατά τη διάρκεια της σφαγής και μετά από αυτή. Μπορεί να προκληθεί από το εξωτερικό του ζώου, από τον γαστρεντερικό σωλήνα του ζώου, από το χώρο του σφαγείου (Bilgili, 1998; May and Deaton, 1989; Buhr et al., 1998) , από τα μέσα μεταφοράς (Stern et al., 1995; Slader et al., 2002; Herman et al., 2003; Rosschaert et al., 2007), τους χώρους συντήρησης, επεξεργασίας και πώλησης (May et al., 1988; May et al., 1990; Renwick et al., 1993), το προσωπικό που ασχολείται με το κρέας και τα υλικά που προστίθενται σε ορισμένα σκευάσματα.

Τα νωπά πουλερικά συχνά είναι μολυσμένα με παθογόνους μικροοργανισμούς όπως *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium*, *Campylobacter fetus* και *Yersinia enterocolitica* τους οποίους μεταφέρουν στους χώρους των καταναλωτών με αποτέλεσμα την πρόκληση σαλμονελλώσεων, σταφυλοκοκκικής τροφοδοξίνωσης και άλλων εντερικών νοσημάτων (Mead, 1982; Grau, 1986).

Πτηνοτροφεία- Πτηνοσφαγεία

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι χώροι παραμονής και σφαγής των πουλερικών αποτελούν σημαντική εστία μικροβίων. Τα πτηνοτροφεία ή ορνιθώνες είναι οι χώροι όπου παράγονται και παραμένουν τα πουλερικά ώσπου να μεταφερθούν στα σφαγεία. Η θέση των πτηνοτροφείων είναι πολύ σημαντική για τη διασφάλιση της καλής μικροβιακής κατάστασης, για αυτό συνήθως επιλέγονται χώροι σε αγροκτήματα μακριά από άλλες πτηνοτροφικές μονάδες ή άλλες εγκαταστάσεις- πηγές μόλυνσης, όπως εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων ή χώρους υγειονομικής ταφής κτλ, ενώ σε διαφορετική περίπτωση είναι απαραίτητο να τηρείται υψηλότερο επίπεδο προστασίας.

Εσωτερικά οι χώροι πρέπει να είναι φτιαγμένοι από ανθεκτικό σκληρό υλικό που καθαρίζεται και απολυμαίνεται εύκολα και αποτελεσματικά. Γύρω από το χώρο φύλαξης των πουλερικών απαιτείται περίφραξη και ορισμένες μόνο εισόδους από τις οποίες μόνο έμπειρο προσωπικό έχει τη δυνατότητα να περάσει. Οι εισοδοί επίσης πρέπει να διατηρούνται καθαρές (Bryan, 1980).

Σημαντικό είναι τέλος, και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται να είναι καθαρός και πάντα να πλένεται και να απολυμαίνεται πριν τη χρήση.

Στα σφαγεία, δηλαδή στις εγκαταστάσεις που χρησιμοποιούνται για τη σφαγή και τον καθαρισμό των ζώων, των οποίων το κρέας προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση (ΚΤΠ, 2009) ισχύουν οι ίδιοι κανόνες καθαριότητας και απολύμανσης όπως και παραπάνω, με τη διαφορά ότι εδώ τα μέτρα είναι περισσότερο αυστηρά.

2.4 Μικροοργανισμοί αλλοίωσης των νωπών κοτόπουλων

Η κύρια αιτία αλλοίωσης των κρεάτων και συγκεκριμένα των πουλερικών είναι τα βακτήρια. Αναπτύσσονται στην επιφάνεια του σφαγίου και τα προϊόντα της αποσύνθεσης μεταφέρονται αργά προς το εσωτερικό του κρέατος προκαλώντας αλλοιώσεις, όπως σχηματισμό γλοιώδους επιφάνειας, δυσάρεστες οσμές, αλλαγή του χρώματος κ.ά.

γ. *Pseudomonas*

Όπως σε όλα τα κρέατα έτσι και στα σφάγια των νωπών πουλερικών επικρατεί η μεσόφιλη μικροβιοχλωρίδα. Κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους στα ψυγεία (<5° C) η μικροβιοχλωρίδα μεταβάλλεται σε ψυχρότροφη. Σε αερόβιο περιβάλλον και σε χαμηλές θερμοκρασίες επικρατούν τα ψυχρότροφα, απόλυτα αερόβια, Gram- αρνητικά βακτήρια των γενών *Pseudomonas*, *Acinetobacter* και *Moraxella*. Ειδικά τα είδη *Ps.fluorescens*, *Ps.putida*, *Ps.fragii* και *Ps.lundensis* αναπτύσσονται γρηγορότερα από τα άλλα και προκαλούν τις αλλοιώσεις (Garcia- Lopez et al.,1998).

Στην αρχή όλα τα βακτήρια χρησιμοποιούν τη λιγοστή γλυκόζη του κρέατος σαν πηγή άνθρακα και ενέργειας και τα αμινοξέα για τη σύνθεση των πρωτεϊνών και για ανάπτυξη (Nychas et al., 1998). Όταν ο αριθμός των βακτηρίων της επιφάνειας του κρέατος

φτάσει το κρίσιμο όριο 10^6 - 10^7 cfu/cm² ή g, η γλυκόζη έχει εξαντληθεί και τα βακτήρια χρησιμοποιούν και τα αμινοξέα σαν πηγή άνθρακα. Κατά την αποδόμηση των αμινοξέων παράγονται μεταβολικά προϊόντα, που προσδίδουν ανεπιθύμητες οσμές. Η *Ps. fragii* είναι υπεύθυνη για την οσμή χαλασμένου φρούτου (fruity off odour). Η *Ps. fluorescens* αποδομεί τα θειούχα αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη. Από αυτά παράγονται υδρόθειο και διάφορα σουλφίδια που προσδίδουν δυσάρεστη οσμή (putrid odour). Αργότερα παράγονται μεταβολικά προϊόντα που χαρακτηρίζουν τη σήψη, δηλαδή αμμωνία, πτητικές αμίνες (πουτρεσκίνη, καδαβερίνη, αγματίνη κ.α.), μερκαπτάνες και ινδόλη. Το pH γίνεται αλκαλικό (pH ~ 8.0) και επιταχύνεται η αλλοίωση. Όταν το μικροβιακό φορτίο ανέλθει σε 10^8 cfu/cm² ή g, εμφανίζεται το γλοιώδες στρώμα (Garcia- Lopez et al., 1998).

Στα πουλερικά που έχουν συσκευαστεί σε αερόβιες συνθήκες ή σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας, διαπιστώθηκε ότι το είδος *Ps. fluorescens* παρουσιάζει 50% περισσότερες πιθανότητες να αναπτυχθεί σε σχέση με τα άλλα είδη ψευδομονάδων (Sundheim et al., 1998).

οικ. Enterobacteriaceae

Η οικογένεια Enterobacteriaceae είναι ομάδα βακτηρίων σημαντική για τα τρόφιμα. Ανήκει στα αρνητικά κατά Gram, που είναι προαιρετικά αναερόβια, ραβδόμορφα και ασπορογόνα. Αποτελείται από 34 γένη, 149 είδη και 21 υποείδη και τα πιο σημαντικά από αυτά είναι τα γένη *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia* και *Erwinia* (Brenner, 1992). Κοινό χαρακτηριστικό όλων των βακτηρίων της οικογένειας είναι η ικανότητά τους να ζυμώνουν τη γλυκόζη και να παράγουν οξύ και συχνά αέριο. Η οικογένεια ειδικότερα διαιρείται σε 5 μεγάλες ομάδες *Escherichiaceae*, *Klebsialleae*, *Proteae*, *Yersinieae* και *Erwinieae*.

Μορφολογικά τα βακτήρια είναι ίσια, ραβδόμορφα περίπου 0,3-1,8 μm (αν και κάποια γένη έχουν νηματοειδή μορφή ή αποκτούν τέτοια όταν βρεθούν σε ορισμένες συνθήκες περιβάλλοντος). Κάποια γένη είναι κινητά με περίτριχες βλεφαρίδες και κάποια είναι ακίνητα. Εκτός από ορισμένα στελέχη των γενών *Erwinia* και *Yersinia* τα βακτήρια ανάγουν τα νιτρικά σε νιτρώδη και όλα είναι οξειδάση αρνητικά. Οι άριστες συνθήκες

ανάπτυξης των βακτηρίων της οικ. Enterobacteriaceae είναι θερμοκρασία 37° C, ενεργότητα νερού (a_w) 0,94-1,0, αλατοανεκτικότητα 0,5-1.0 και pH 4,0-7,0.

Συναντώνται πιο συχνά στο έντερο των ανθρώπων και των ζώων και στο περιβάλλον, από όπου μπορούν να διασπείρονται πολύ εύκολα. Για αυτόν το λόγο η σημαντικότητα τους είναι μεγάλη αφού μολύνουν τα τρόφιμα και προκαλούν σοβαρές ασθένειες στους ανθρώπους και τα ζώα, όπως τυφοειδή και παρατυφοειδή πυρετό από τη *Salmonella*, πανώλη από τη *Yersinia pestis* στους ανθρώπους, ενώ εντεροπαθογόνα βακτήρια της *E.coli* προκαλούν κολιβακιλλώσεις στα ζώα και τα βακτήρια *Yersinia ruckeri* και *Edwardsiella* νοσήματα σε ιχθείς. Νοσήματα σε φυτά προκαλούν τα βακτήρια της *Erwinia* sp (Brenner, 1992).

Χαρακτηριστικά των εντεροβακτηριδίων είναι η ικανότητά τους να αναπτύσσονται εύκολα σε πολλά υποστρώματα και να χρησιμοποιούν υδατάνθρακες και άλλες οργανικές ενώσεις ως πηγή ενέργειας και απλές αζωτούχες ενώσεις ως πηγή αζώτου. Μπορούν και συνθέτουν τις περισσότερες από τις βιταμίνες που χρειάζονται. Επίσης έχουν την ικανότητα να ζυμώνουν τα ζάχαρα και να παράγουν οξύ και αέριο, να προκαλούν στα τρόφιμα δυσάρεστες οσμές και γλοιότητα (εξαιτίας της *Klebsiella* που παράγει έλυτρο). Η πλατιά διάδοση τους έχει όμως και σαν αποτέλεσμα την γρήγορη αλλοίωση των τροφίμων άμεσα ή έμμεσα (Δεληγκάρης, 1995).

Για την απομόνωση των βακτηρίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλά απλά στερεά υποστρώματα όπως ο θρεπτικός ζωμός και το θρεπτικό άγαρ, ενώ παράλληλα για την απομόνωση από τα κόπρανα αλλά και για τις αναλύσεις των τροφίμων χρησιμοποιούνται εκλεκτικά υποστρώματα. Αυτά περιέχουν ουσίες, όπως χολικά άλατα, deoxycholate, tetrathionate κτλ, που εμποδίζουν την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων εκτός από τα Enterobacteriaceae. Τέτοια υποστρώματα είναι Mac Conkey άγαρ, Bromothymol Blue άγαρ, Deoxycholate Citrate άγαρ, Violet Red Bile άγαρ κτλ (Παπαντωνίου, 2013).

Κολοβακτηρίδια ή coliforms

Τα κολοβακτηρίδια ή coliforms είναι μια από τις πιο σημαντικές ομάδες βακτηρίων της οικογένειας των Enterobacteriaceae αφού χρησιμοποιούνται σαν δείκτες εντερικής ρύπανσης των τροφίμων.

Τα γένη των βακτηρίων που αποτελούν την ομάδα είναι *Escherichia* (ειδικότερα *E.coli*),

Klebsiella, *Citrobacter* και *Enterobacter*. Το κοινό χαρακτηριστικό τους, που τα διαφοροποιεί από τα υπόλοιπα βακτήρια της οικογένειας, είναι ότι έχουν την ικανότητα να ζυμώνουν τη λακτόζη, παράγοντας οξύ και αέριο στους 37° C σε 48h.

Όπως αναφέρθηκε η παρουσία τους στα τρόφιμα δείχνει ότι έχουν μολυνθεί από κόπρανα για αυτό η σπουδαιότητα τους είναι μεγάλη για τη δημόσια υγεία. Η αξία των τεσσάρων βακτηρίων- δεικτών όμως δεν είναι ίδια, η *E.coli* είναι σίγουρης εντερικής προέλευσης, η *Klebsiella* είναι πιθανής εντερικής προέλευσης ενώ τα βακτήρια των γενών *Citrobacter* και *Enterobacter* είναι συνήθως φυτικής προέλευσης. Επομένως την ανίχνευση των coliforms πρέπει να ακολουθεί η πλήρης ταυτοποίησή τους (Roberts and Greenwood, 2003).

Τα κοπρανοειδή βακτηρίδια καταστρέφονται εύκολα στα τρόφιμα με τη θέρμανση και κατά τη διάρκεια της κατάψυξης. Η μόλυνση των τροφίμων από coliforms και κυρίως από *E.coli*, που αποτελεί τον κύριο δείκτη εντερικής προέλευσης, μπορεί να συνεπάγεται και μόλυνση τους από άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς του εντέρου (Montville & Matthews, 2005).

Escherichia coli

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα στελέχη της *E. coli* ανήκουν στην οικ. Enterobacteriaceae και συγκεκριμένα στην ομάδα των coliforms. Σχεδόν 100% των στελεχών του γένους προκαλούν ζύμωση της λακτόζης με παραγωγή οξέος και αερίου στους 44° C. Είναι βέβαιης εντερικής προέλευσης και έχει για βióτοπο το κατώτερο τμήμα του εντέρου των θερμόαιμων ζώων. Αν και τα περισσότερα στελέχη της είναι αβλαβή υπάρχουν αρκετά που είναι παθογόνα και προκαλούν τροφολοιμώξεις. Η παρουσία της *E.coli* σε ένα τρόφιμο σημαίνει τη βέβαια ρύπανσή του με κόπρανα άμεσα ή έμμεσα. Πολλά στελέχη της είναι ανθεκτικά σε όξινο περιβάλλον και στα αντιβιοτικά (Roberts and Greenwood, 2003).

Παρουσία της *E.coli* σε τρόφιμα, τα οποία έχουν δεχτεί κάποια θερμική επεξεργασία, σημαίνει, είτε ότι η θέρμανση δεν ήταν επαρκής, είτε ότι υπήρξε επιμόλυνση μετά την επεξεργασία. Πηγή μόλυνσης των θερμικά επεξεργασμένων τροφίμων είναι το περιβάλλον επεξεργασίας, ο ανεπαρκής έλεγχος των συνθηκών θερμοκρασίας- χρόνου και οι ακατάλληλες πρακτικές υγιεινής των χώρων (πχ εξοπλισμός, εργαλεία κτλ) και

των άμεσα εμπλεκόμενων κατά τη διαχείριση των τροφίμων (Παπαντωνίου, 2011).

γ. *Shewanella*

Το αερόβιο, Gram αρνητικό βακτήριο του γ. *Shewanella*, που παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα στα φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του με τα γένη *Pseudomonas* και *Alteromonas*, αποτελεί σημαντικό παράγοντα αλλοίωσης των πουλερικών (Garcia-Lopez et al., 1998).

Το σημαντικότερο είδος που προκαλεί την αλλοίωση του κρέατος είναι το *Shewanella putrefaciens*, το οποίο αν και αποτυγχάνει να αναπτύσσεται σε χαμηλό pH, παράγει H₂S χρησιμοποιώντας αμινοξέα που περιέχουν θείο όπως η κυστεΐνη και η κυστίνη ακόμα και αν η γλυκόζη είναι διαθέσιμη. Η παρουσία του H₂S στο κρέας συνοδεύεται από άσχημες οσμές και η αντίδραση του με τη μυογλοβίνη έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό σουλφιομυογλοβίνης που προκαλεί τον πράσινο χρωματισμό του κρέατος (Mead, 1982; Barnes and Impey, 1968).

γ. *Clostridium*

Τα ψυχρόφιλα ή ψυχρότροφα στελέχη των ειδών του σπορογόνου γένους *Clostridium*, αποτελούν σημαντικό παράγοντα αλλοίωσης του κρέατος που έχει συσκευαστεί σε κενό, αφού κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε θερμοκρασίες ψύξης φαίνεται να μην αναστέλλεται η εκβλάστηση των σπόρων των βακτηρίων του γ. *Clostridium*, με τα οποία έχει μολυνθεί το κρέας. Η αλλοίωση που προκαλείται (blown pack) γίνεται αντιληπτή με εμφάνιση αερίου, τυρώδη οσμή, πράσινο χρώμα λόγω σχηματισμού σουλφιομυογλοβίνης και αίσθηση θείου που γίνεται αντιληπτή κατά το άνοιγμα της συσκευασίας και οφείλεται στην παραγωγήθειούχων ενώσεων. Αναλύσεις που έγιναν στον αέρα του διάκενου έδειξαν την απουσία O₂, την παρουσία CO₂, H₂ και επιπλέον παραγωγή βουτυλεστέρων, βουτυρικού οξέος και κυρίως βουτανόλης, που είναι υπεύθυνη για την τυρώδη οσμή (Tomarkin, 1986).

Κυριότερος λόγος της παρουσίας των σπόρων των *Clostridium* στο κρέας είναι τα σωματίδια της σκόνης του εδάφους, που προσκολλώνται στα ζώα και αργότερα τα σπόρια εκβλαστάνουν στο κρέας μετά τη σφαγή του ζώου.

Τα είδη των βακτηρίων του γ.*Clostridium* είναι ανομοιογενή και παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ των ειδών του κρέατος αλλά και της γεωγραφικής περιοχής στην οποία βρίσκονται τα ζώα. Επίσης, αν και μοιάζουν στην παραγωγή βουτανόλης διαφέρουν στην ικανότητα ανάπτυξης σε χαμηλές θερμοκρασίες και στην ικανότητα διάσπασης των σακχάρων (Barnes, 1976).

Οξυγαλακτικά βακτήρια

Κρέατα ή κοτόπουλα συσκευασμένα υπό κενό ή σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα αλλοιώνονται επίσης από οξυγαλακτικά βακτήρια. Τα γένη *Lactobacillus*, *Leuconostoc* και *Carnobacterium* είναι οι κύριοι εκπρόσωποι των βακτηρίων αυτών (Bjorkroth and Holzapfel, 2003) ενώ δευτερεύουσας σημασίας είναι τα γένη *Weissella*, *Lactococcus*, *Enterococcus* και *Pediococcus* (Jones, 2004). Παραδείγματα ειδών αποτελούν τα ψυχρότροφα είδη *Lact. sakei*, *Leuc. gelidum* και *Leuc. carnosum* που ευκολότερα απομονώνονται στο σφάγιο και αναπτύσσονται κατά την αποθήκευση υπό ψύξη σε αναερόβιες συνθήκες, και τα *Carn. maltaromaticum* και *Carn. divergens* που απομονώνονται εύκολα από τα πουλερικά.

Κατά τη διάρκεια της συντήρησης, τα γαλακτικά βακτήρια του κρέατος που είναι συσκευασμένο σε κενό ή σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα ζυμώνουν τη γλυκόζη και παράγουν γαλακτικό οξύ και οξικό οξύ και το pH μειώνεται. Η ζύμωση έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση δυσάρεστης οσμής, λόγω των οξέων, αερίου και γλίτσας στη συσκευασία και πράσινο χρωματισμό στο κρέας, λόγω του H₂O₂ που σχηματίζεται με τη μεταβολική δραστηριότητα των βακτηρίων *Leuconostoc*, *Weissella*, *Lactobacillus* (Borch et al., 1996).

Ένας άλλος τύπος ζύμωσης που συμβαίνει στην αναερόβια συσκευασία από οξυγαλακτικά βακτήρια, όπως π.χ. *Lact. sakei* που παίζει σημαντικό ρόλο στην αλλοίωση του κρέατος, έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό H₂S που αντιδρά με το σίδηρο που περιέχεται στη μυογλοβίνη και προκαλεί την εμφάνιση δυσάρεστης οσμής και σχηματισμό μαύρων στιγμάτων στην επιφάνεια του κρέατος (Newton and Gill, 1980).

Ζύμες- μύκητες

Οι ζύμες και οι μύκητες αποτελούν το μικρότερο μέρος της ολικής μικροβιοχλωρίδας των πουλερικών παρόλο που πολύ εύκολα αναπτύσσονται σε αυτά και προκαλούν αλλοιώσεις (Samelis and Sofas, 2003b). Ιδιαίτερα οι ζύμες είναι ανθεκτικές σε ξηρό περιβάλλον με χαμηλή ενεργότητα νερού, σε χαμηλό pH, υψηλή οξύτητα και αλατοανεκτικότητα, στα συντηρητικά και στην ακτινοβολία. Επειδή απαιτούν οξυγόνο για βέλτιστη ανάπτυξη, δεν συναντώνται τόσο συχνά σε συσκευασίες κενού ή τροποποιημένης ατμόσφαιρας, όπως στις αερόβιες συσκευασίες. *Candida lipolytica*, *Candida zeylanoides* και *Yarrowia lipolytica* είναι σημαντικές ζύμες αλλοίωσης των κοτόπουλων. Όταν ένα τρόφιμο παρουσιάζει ανάπτυξη ζυμών εμφανίζεται γλοιώδη υγρό στην επιφάνεια του, οσμή και κηλίδες στην περιοχή της ανάπτυξης (Ismail et al., 2000).

Περιβάλλον μειωμένης υγρασίας στεγνώνει την επιφάνεια του κρέατος των σφαγίων που διατηρούνται σε θερμοκρασίες ψύξης και σε τιμές a_w μικρότερες από 95%. Οι συνθήκες αυτές δεν ευνοούν την ανάπτυξη των μυκήτων. Οι μύκητες που παρουσιάζουν ανάπτυξη σε σφάγια συσκευασμένα σε αερόβια συσκευασία είναι *Thamnidium*, *Mucor*, *Penicillium* και *Rhizopus* καθώς και οι *Cladosporidium herarum* και *Sporotorichum carnis* που εμφανίζουν μαύρα και άσπρα στίγματα αντίστοιχα (Mossel et al., 1995).

3. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της μεταβολής του αριθμού των κολοβακτηριοειδών και της *E.coli* σε συσκευασμένα και μη συσκευασμένα τεμάχια νωπού κοτόπουλου κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους στους 5°C και μετά από συντήρηση 0, 5 και 10 ημερών.

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Δείγματα- δειγματοληψία

Για τη μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των κολοβακτηριοειδών και της *E.coli* σε νωπά μη συσκευασμένα και συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους στους +5°C, αναλύθηκαν συνολικά 36 δείγματα. Τα 18 δείγματα ήταν μη συσκευασμένα τεμάχια και τα υπόλοιπα 18 ήταν συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου. Όλα τα δείγματα (συσκευασμένα και μη συσκευασμένα) προέρχονταν από την ίδια εταιρία εκτροφής και πάλησης πουλερικών και αγοράστηκαν από κρεοπωλείο της Σίνδου. Τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένους πλαστικούς περιέκτες (σακούλες), μεταφέρθηκαν γρήγορα υπό ψύξη στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων και αποθηκεύτηκαν στους +5°C. Ακολούθως 6 δείγματα, 3 δείγματα από κάθε ομάδα (1 μπουτί - 1 στήθος - 1 κοιλιακή κοιλότητα συσκευασμένου κοτόπουλου και 1 μπουτί - 1 στήθος - 1 κοιλιακή κοιλότητα μη συσκευασμένου κοτόπουλου) εξετάστηκαν μικροβιολογικά για coliforms και *E.coli* εντός 2 ωρών από την άφιξή τους στο εργαστήριο. Αυτά τα δείγματα στα σχήματα 1-18 χαρακτηρίζονται ως δείγματα 0 ημερών (0 days). Ομοίως άλλα 6 δείγματα (3 από κάθε ομάδα) αναλύθηκαν μετά από 5 ημέρες συντήρησης στους +5°C και στα σχήματα 1-18 χαρακτηρίζονται ως δείγματα 5 ημερών (5 days) και άλλα 6 δείγματα (3 από κάθε ομάδα) αναλύθηκαν μετά από 10 ημέρες συντήρησής τους στους +5°C και στα σχήματα 1-18 χαρακτηρίζονται ως δείγματα 10 ημερών (10 days). Οι παραπάνω αναλύσεις επαναλήφθηκαν για δεύτερη φορά 15 ημέρες αργότερα με 18 νέα δείγματα της ίδιας εταιρίας αγορασμένα από το ίδιο κρεοπωλείο. Σκοπός της επανάληψης ήταν, να γίνει η εκτίμηση των αποτελεσμάτων με τη μορφή στατιστικού ελέγχου.

Κατά την 5^η και 10^η ημέρα συντήρησης και πριν από την καταμέτρηση των coliforms έγινε οπτική αξιολόγηση των τεμαχίων του κοτόπουλου. Αυτή περιελάμβανε:

- μεταβολές του χρώματος
- διαπίστωση δυσάρεστης οσμής
- ανάπτυξη γλοιώδους στρώματος και
- αξιολόγηση της συνοχής (δηλαδή της σταθερότητας) του κρέατος.

4.2. Ομογενοποίηση- Παρασκευή διαδοχικών αραιώσεων

Η ομογενοποίηση σκοπεύει να καταλείψει τα μικρόβια όσο γίνεται πιο ομοιόμορφα μέσα στο δείγμα ώστε η ποσότητα που θα εξεταστεί να δώσει αντιπροσωπευτική εικόνα του πληθυσμού των μικροβίων που καταμετρώνται.

Με τη βοήθεια αποστειρωμένων μαχαιριών και αποστειρωμένων λαβίδων πάρθηκαν 10g από κάθε τεμάχιο συσκευασμένου και μη συσκευασμένου κοτόπουλου χωριστά. Τα 10g τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένες σακούλες και στη συνέχεια ομογενοποιήθηκαν με 90ml αραιωτικό (0,9g πεπτόνη, 0,8g NaCl, 90ml H₂O₂) στο bag mixer για 120s. Με αυτό τον τρόπο παρασκευάστηκε η αρχική αραιώση 1/10. Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν οι επόμενες δεκαδικές αραιώσεις (10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵) με τη μεταφορά 1ml σε δοκιμαστικό σωλήνα με 9ml αραιωτικό. Η παρακάτω διαδικασία επαναλήφθηκε για κάθε νωπό τεμάχιο συσκευασμένου και μη συσκευασμένου κοτόπουλου.

4.3 Καταμέτρηση των coliforms

Η καταμέτρηση των coliforms έγινε με την τεχνική των τρυβλίων στο υπόστρωμα Violet Red Bile Άγαρ (VRB- άγαρ). Ο ενοφθαλμισμός των τρυβλίων Petri έγινε με την τεχνική της ενσωμάτωσης. 1ml από κάθε δεκαδική αραιώση μεταφέρθηκε ασηπτικά σε κενό αποστειρωμένο τρυβλίο Petri (για κάθε δεκαδική αραιώση έγινε ενοφθαλμισμός δύο φορές). Σε κάθε τρυβλίο προστέθηκαν περίπου 15ml υποστρώματος VRB agar θερμοκρασίας 46°C. Η ανάμιξη του ενοφθαλμίσματος έγινε με ήπιες κυκλικές κινήσεις, έτσι ώστε να γίνει ομοιόμορφη διασπορά του ενοφθαλμίσματος στη μάζα του υποστρώματος. Μετά την πήξη του υποστρώματος τα τρυβλία τοποθετήθηκαν ανεστραμμένα σε κλίβανο επώασης θερμοκρασίας 37°C για 24 ώρες. Η μέτρηση των αποικιών έγινε μακροσκοπικά με τη βοήθεια μετρητή αποικιών. Για να διαπιστωθεί ο πληθυσμός των coliforms μετρήθηκαν οι κόκκινες αποικίες. Τα τρυβλία που συμπεριλήφθηκαν στον υπολογισμό των αποτελεσμάτων ήταν αυτά στα οποία ο αριθμός των αποικιών κυμαίνονταν από 25 έως 250.

4.4. Αρίθμηση της *E.coli*

Για την καταμέτρηση της *E.coli* εφαρμόστηκε η MPN- μέθοδος των 3 σωλήνων με McConkey- Broth για τη ζύμωση λακτόζης και ταυτόχρονα η ίδια τεχνική με πεπτονούχο νερό (peptone water) για τη δοκιμή της ινδόλης. 1ml από κάθε αραιώση μεταφέρθηκε ασηπτικά σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε ζωμό McConkey και ανεστραμμένο σωληνάκι Durham. Επίσης 1ml από κάθε αραιώση μεταφέρθηκε ασηπτικά σε δοκιμαστικό σωλήνα με πεπτονούχο νερό. Ο ενοφθαλμισμός έγινε σε τρεις δοκιμαστικούς σωλήνες με ζωμό McConkey και σε τρεις με πεπτονούχο νερό. Στη συνέχεια οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε επωαστικό κλίβανο θερμοκρασίας 44,5°C για 48 ώρες.

Η εκτίμηση των αποτελεσμάτων έγινε μακροσκοπικά ώστε να διαπιστωθεί εάν στους δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν ζωμό McConkey και ανεστραμμένο σωληνάκι Durham έχει παραχθεί οξύ και αέριο. Επιπροσθέτως στους δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν πεπτονούχο νερό προστέθηκε 1ml αντιδραστηρίου Kovacs, όπου η αντίδραση του με την ινδόλη (η *E.coli* είναι ινδόλη +) έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό κόκκινου δακτυλίου. Κατά την ανάγνωση των αποτελεσμάτων οι σωλήνες με McConkey- Broth που παρουσίασαν ζύμωση της λακτόζης σε οξύ και αέριο και ταυτόχρονα ήταν ινδόλη-θετικοί στο πεπτονούχο νερό, σήμαιναν την παρουσία της *E.coli* και συνεπώς εκτιμήθηκαν θετικοί.

4.5. Στατιστική ανάλυση

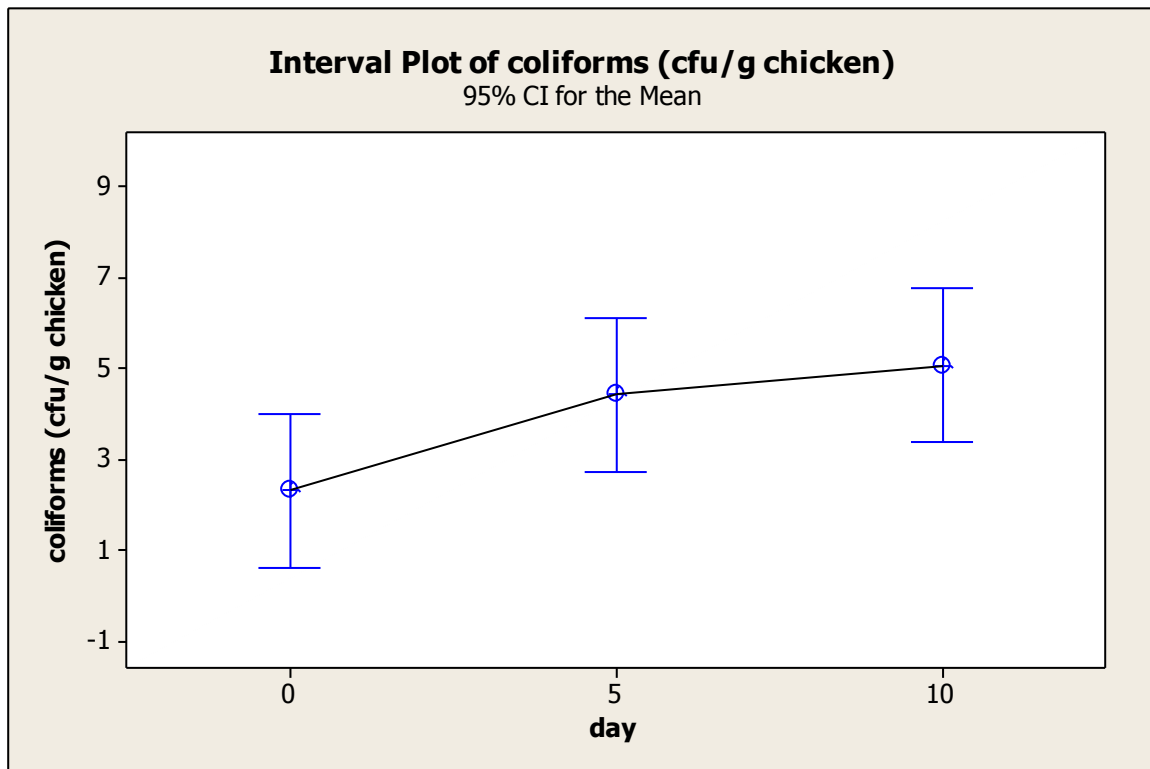
Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το Minitab Statistical Software, Release 16. Χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης πολλαπλών συγκρίσεων (ANOVA) μεταξύ των μέσων όρων και ο προσδιορισμός στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των δειγμάτων σε επίπεδο σημαντικότητας 95%.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η μεταβολή του πληθυσμού των coliforms και της *E.coli* σε νωπά μη συσκευασμένα και συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου κατά τη συντήρησή τους στους +5 °C. Συνολικά αναλύθηκαν 36 δείγματα (18 μη συσκευασμένα και 18 συσκευασμένα). Τα τεμάχια κοτόπουλου που αναλύθηκαν μικροβιολογικά ήταν μπούτι, στήθος και κοιλιακή κοιλότητα. Τα δείγματα αναλύθηκαν την ημέρα σφαγής (ονομάσθηκαν δείγματα 0 ημερών), την 5^η ημέρα και την 10^η ημέρα συντήρησής τους. Οι καταμετρήσεις των coliforms και της *E.coli* έγιναν εις διπλούν, με σκοπό η εκτίμηση των αποτελεσμάτων να γίνει με τη μορφή στατιστικού ελέγχου. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), που χρησιμοποιείται για τη σύγκριση δυο ή περισσότερων μέσων όρων δειγμάτων, τα οποία διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη μεταχείριση ενός ή περισσότερων παραγόντων. Τα αποτελέσματα των συγκρίσεων παρουσιάζονται στα σχήματα 1-18.

5.1 Καταμέτρηση των coliforms στα συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου.

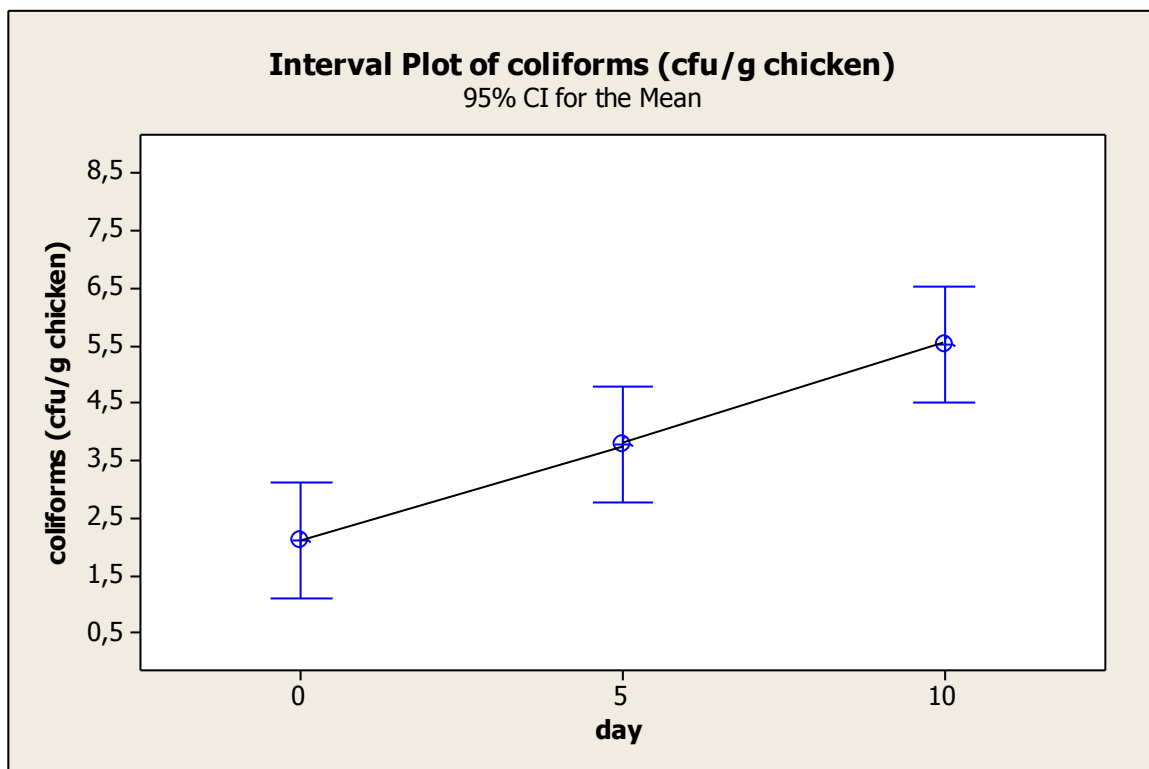
5.1.1. Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο μπούτι.



Σχήμα 1: Μεταβολή του πληθυσμού των coliforms σε νωπό συσκευασμένο μπούτι διατηρημένο στους 5°C.

Στο σχήμα 1 αποτυπώνεται η μεταβολή των μέσων όρων και των 95% ορίων εμπιστοσύνης του πληθυσμού των coliforms στο νωπό συσκευασμένο μπούτι κοτόπουλου, που συντηρήθηκε στους 5°C για 0, 5 και 10 ημέρες. Όπως φαίνεται στο σχήμα ο μέσος όρος των coliforms έχει τιμή 2,2 λογαρίθμων κατά την ημέρα σφαγής (ημέρα 0), ενώ μετά από 5 ημέρες στους 5 °C παρουσιάζει αυξητική τάση φτάνοντας την τιμή των 4,2 λογαρίθμων. Στο επόμενο χρονικό διάστημα συντήρησης, δηλαδή μεταξύ 5^{ης} και 10^{ης} ημέρας στους 5°C, το συσκευασμένο μπούτι παρουσίασε μια πολύ ελαφρά αυξητική τάση περίπου 0,5 λογαρίθμων, η οποία έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική αύξηση του πληθυσμού των coliforms μεταξύ της 5^{ης} και της 10^{ης} ημέρας συντήρησης.

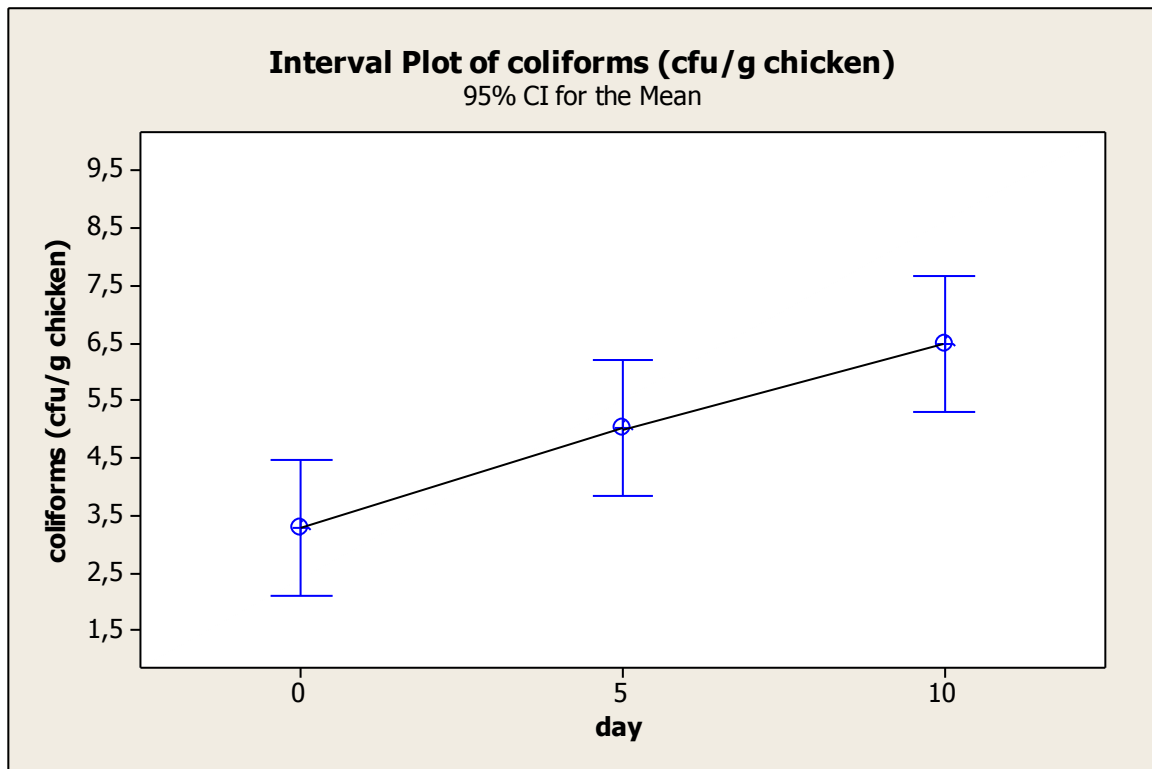
5.1.2 Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο στήθος.



Σχήμα 2: Μεταβολή του πληθυσμού των coliforms σε νωπό συσκευασμένο στήθος διατηρημένο στους 5°C.

Στο σχήμα 2 αποτυπώνεται η μεταβολή των μέσων όρων και των 95% ορίων εμπιστοσύνης του πληθυσμού των coliforms στο νωπό συσκευασμένο στήθος κοτόπουλου. Κατά την ημέρα σφαγής (ημέρα 0) ο μέσος όρος των coliforms στο συσκευασμένο στήθος ανέρχεται σε 2,1 log, δηλ. είναι ίδιος με το συσκευασμένο μπούτι. Μετά από 5 ημέρες συντήρησης τα coliforms παρουσίασαν οριακή στατιστικά σημαντική αύξηση κατά 1,5 log, ενώ η ίδια αυξητική τάση παρατηρείται μέχρι και τη 10^η ημέρα συντήρησης, κατά την οποία ο μέσος όρος των coliforms στο συσκευασμένο στήθος αυξήθηκε κατά 1,5log και έφθασε στην τιμή των 5,5 λογαρίθμων. Μεταξύ ημέρας σφαγής και 10^{ης} ημέρας συντήρησης σημειώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση 3,0-3,5log στο φορτίο των coliforms.

5.1.3 Πληθυσμός των coliforms σε νωπή συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.

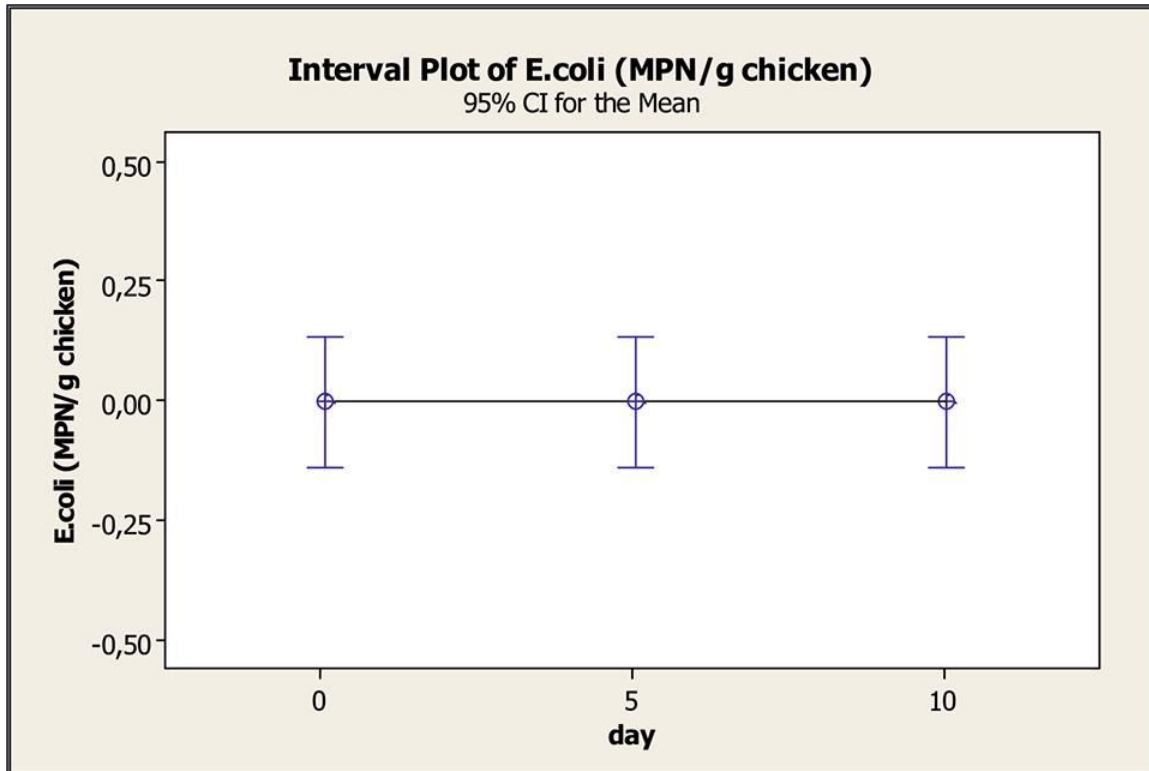


Σχήμα 3: Μεταβολή του πληθυσμού των coliforms σε νωπή συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα διατηρημένη στους 5°C.

Στο σχήμα 3 αποτυπώνεται η μεταβολή του αριθμού των coliforms της κοιλιακής κοιλότητας. Η καμπύλη φανερώνει μεταβολή πανομοιότυπη με την αντίστοιχη του συσκευασμένου στήθους. Η διαφορά τους συνίσταται στο αρχικό φορτίο των coliforms την ημέρα σφαγής (ημέρα 0) το οποίο ανέρχεται σε 3,2log, έναντι 2,2log του στήθους. Η διαφορά αυτή του ενός λογαρίθμου διατηρείται κατά την 5^η και 10^η ημέρα συντήρησης. Έτσι, παρατηρείται στατιστικά σημαντική αύξηση μεταξύ της ημέρας 0 και της 10^{ης} ημέρα συντήρησης.

5.2. Καταμέτρηση της *E.coli* στα συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου.

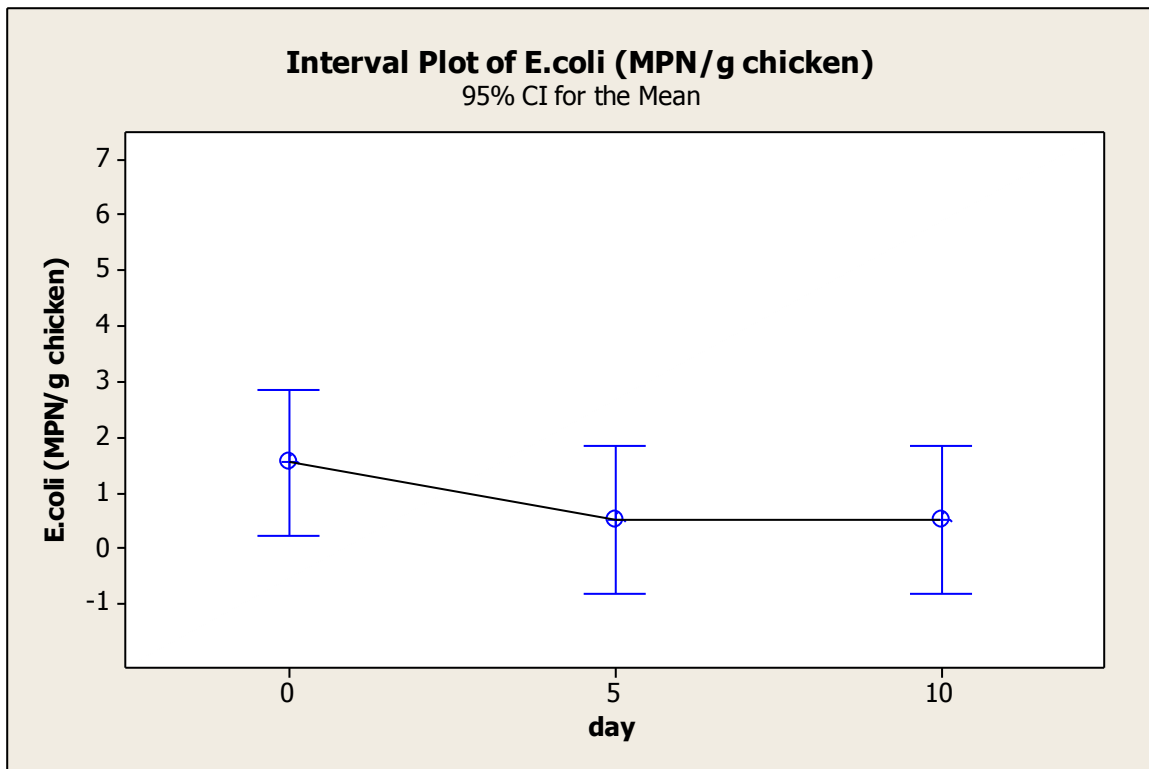
5.2.1. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπό συσκευασμένο μπούτι.



Σχήμα 4: Μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* σε νωπό συσκευασμένο μπούτι διατηρημένο στους 5°C.

Από το σχήμα 4 γίνεται φανερό ότι στο συσκευασμένο μπούτι κανένα δείγμα δεν βρέθηκε να είναι μολυσμένο με *E.coli*. Η διαπίστωση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο πληθυσμός των coliforms, που καταμετρήθηκαν στο συσκευασμένο μπούτι, (2,2-4,7log) ήταν κάποια είδη ενός ή περισσότερων γενών από τα υπόλοιπα coliforms, δηλ. *Klebsiella*, *Enterobacter* και *Citrobacter*. Στα πλαίσια αυτής της εργασίας δεν έγινε απομόνωση και ταυτοποίηση των coliforms.

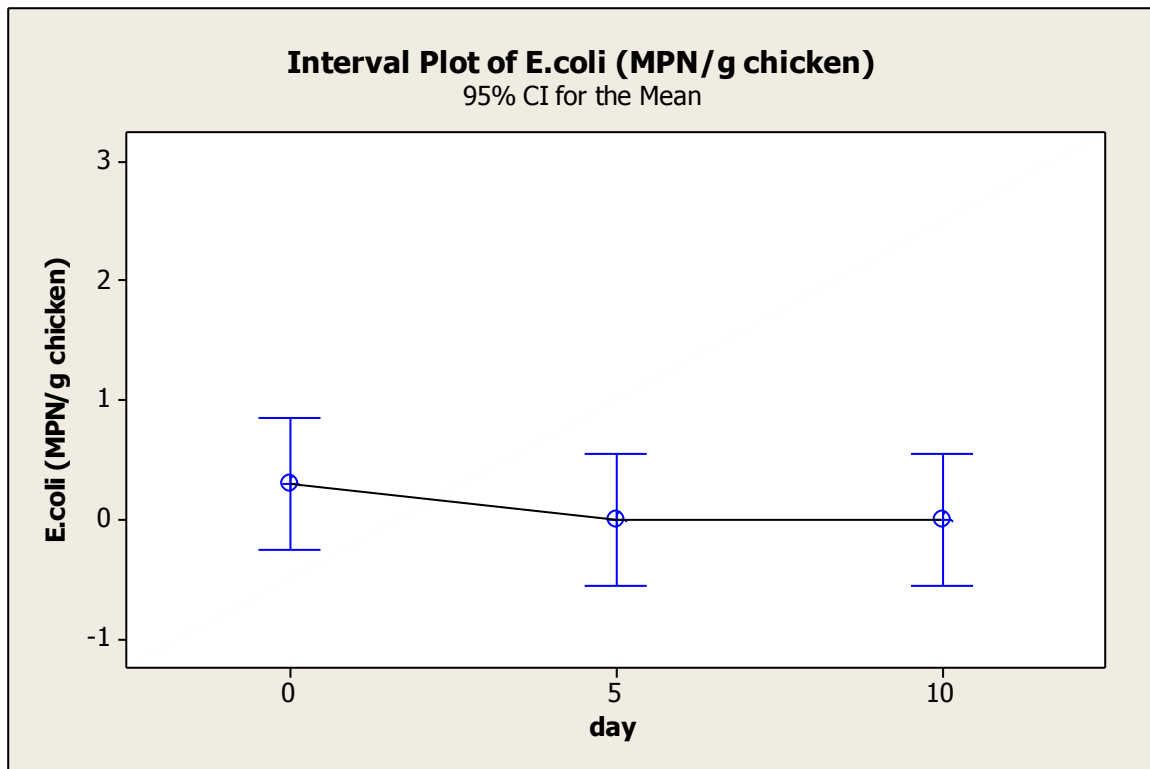
5.2.2. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπό συσκευασμένο στήθος.



Σχήμα 5: Μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* σε νωπό συσκευασμένο στήθος διατηρημένο στους 5°C.

Στο σχήμα 5 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* σε νωπό συσκευασμένο στήθος. Το συσκευασμένο στήθος παρουσίασε πληθυσμό της *E.coli* κυμαινόμενο από 1 έως 50 cfu/g. Από το σχήμα διαπιστώνουμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στον πληθυσμό της *E.coli* μεταξύ των καταμετρήσεων των 0, 5 και 10 ημερών. Η ελαφρά πτωτική τάση της καμπύλης υποδηλώνει ότι επρόκειτο για μη ψυχρότροφη *E.coli*.

5.2.3. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπή συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.

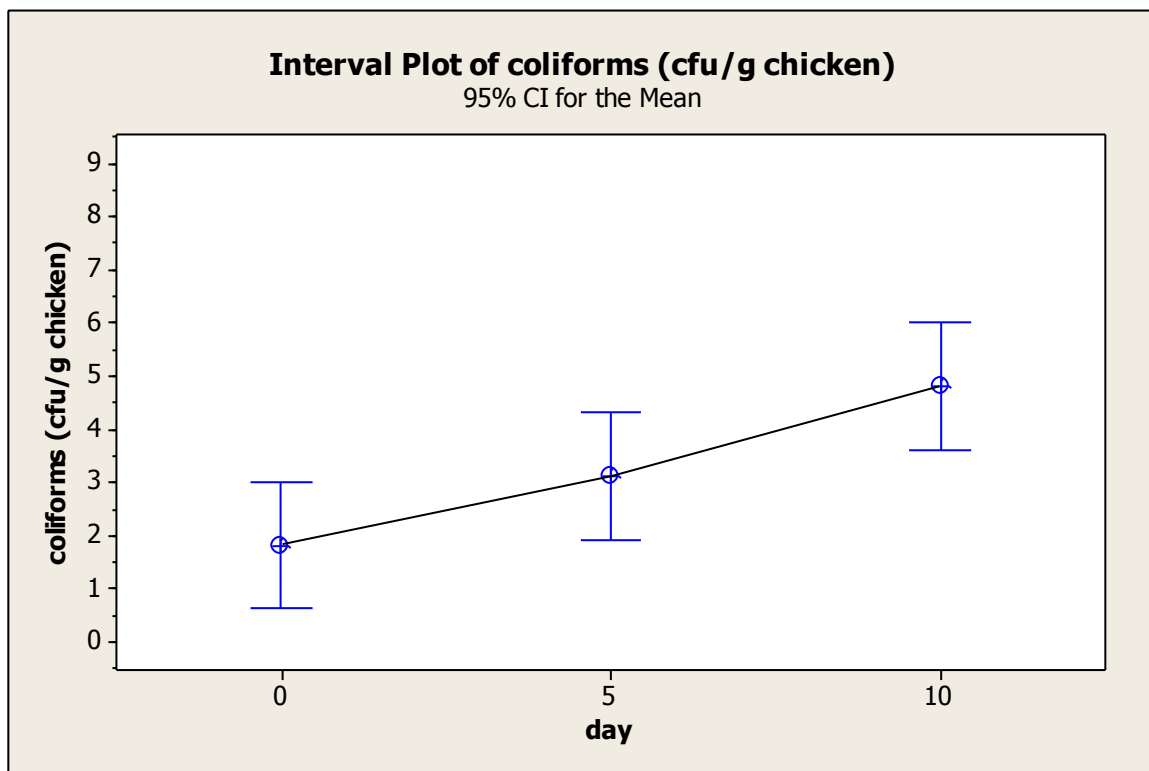


Σχήμα 6: Μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* σε νωπή συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα διατηρημένη στους 5°C.

Στο σχήμα 6 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* που καταμετρήθηκε στην κοιλιακή κοιλότητα συσκευασμένου τεμαχίου. Η *E.coli* καταμετρήθηκε σε αριθμούς < 5 cfu/g. Η καμπύλη είναι πανομοιότυπη με τις καμπύλες των προηγούμενων σχημάτων 4 και 5 και επιβεβαίωσε τις διαπιστώσεις που έγιναν για το συσκευασμένο στήθος και το συσκευασμένο μπούτι και αφορούν την *E.coli*, ότι δηλαδή τα συσκευασμένα τεμάχια είχαν ελάχιστο φορτίο *E.coli* ή δεν ήταν καθόλου μολυσμένα με *E.coli*.

5.3. Καταμέτρηση των coliforms στα μη συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου.

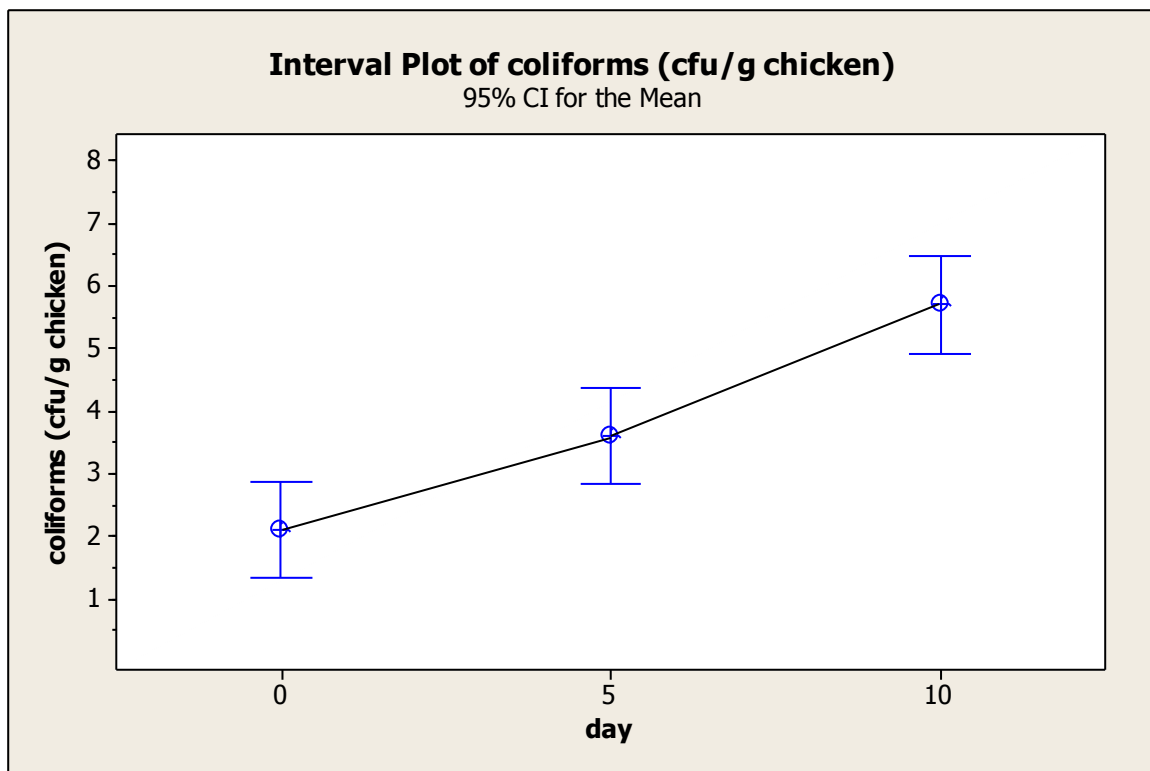
5.3.1. Πληθυσμός των coliforms σε νωπό μη συσκευασμένο μπούτι.



Σχήμα 7: Μεταβολή του πληθυσμού των coliforms σε νωπό μη συσκευασμένο μπούτι διατηρημένο στους 5°C.

Στο σχήμα 7 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού των coliforms στο νωπό μη συσκευασμένο μπούτι κοτόπουλου. Όπως φαίνεται στο σχήμα, κατά την ημέρα σφαγής, ο πληθυσμός των coliforms έχει μέση τιμή περίπου 2,0 log, ενώ μετά από 5 ημέρες στους 5°C παρουσιάζει αύξηση χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ημέρας 0 και 5^{ης} ημέρας και η ίδια αυξητική τάση παρατηρείται μέχρι και τη 10^η ημέρα. Από το σχήμα διαπιστώνουμε ότι μεταξύ 0 και 10^{ης} ημέρας συντήρησης υπάρχει στατιστικά σημαντική αύξηση του πληθυσμού των coliforms.

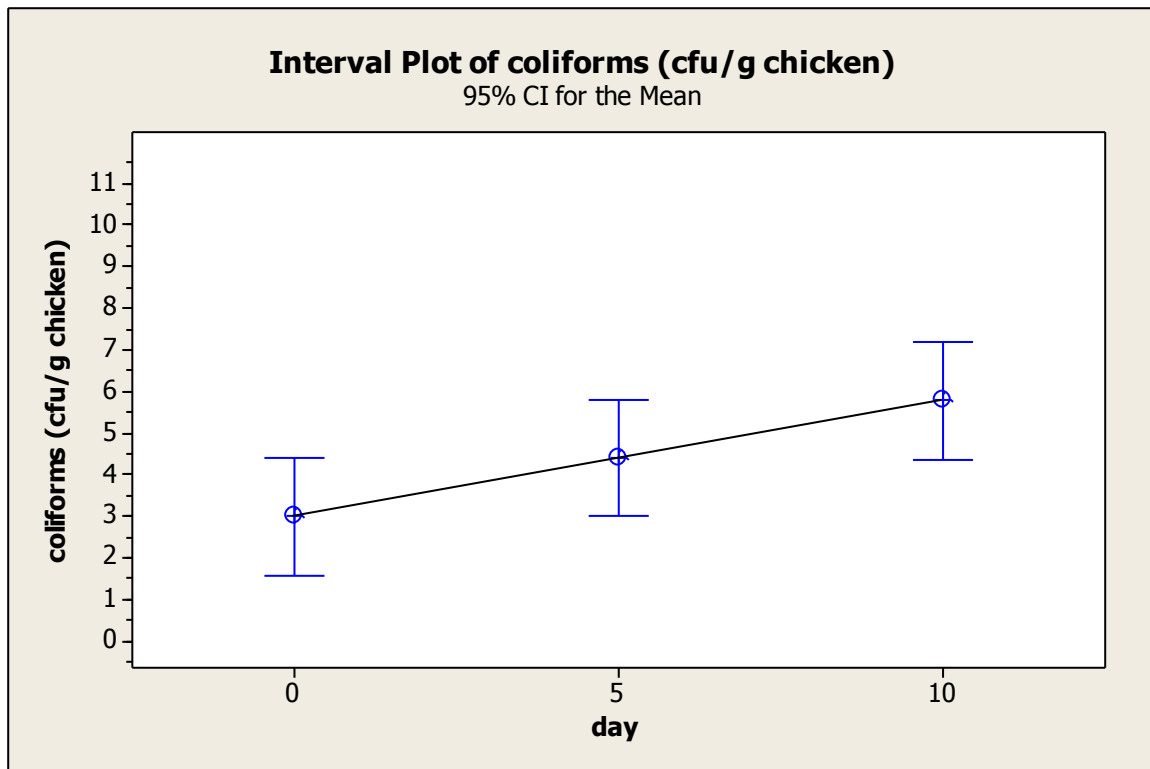
5.3.2. Πληθυσμός των coliforms σε νωπό μη συσκευασμένο στήθος.



Σχήμα 8: Μεταβολή του πληθυσμού των coliforms σε νωπό μη συσκευασμένο στήθος διατηρημένο στους 5°C.

Στο σχήμα 8 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού των coliforms στο νωπό μη συσκευασμένο στήθος κοτόπουλου. Διαπιστώνουμε ότι μεταξύ ημέρας 0 και 5^{ης} ημέρας υπάρχει οριακή στατιστικά σημαντική αύξηση του φορτίου των coliforms. Η αυξητική τάση συνεχίζεται μέχρι και τη 10^η ημέρα συντήρησης φτάνοντας κατά μέσο όρο την τιμή των 5,5 λογαρίθμων. Από το σχήμα γίνεται εμφανής η στατιστικά σημαντική αύξηση που υπάρχει μεταξύ της 10^{ης} ημέρας σε σχέση με την ημέρα σφαγής και την 5^η ημέρα συντήρησης.

5.3.3. Πληθυσμός των coliforms σε νωπή μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.

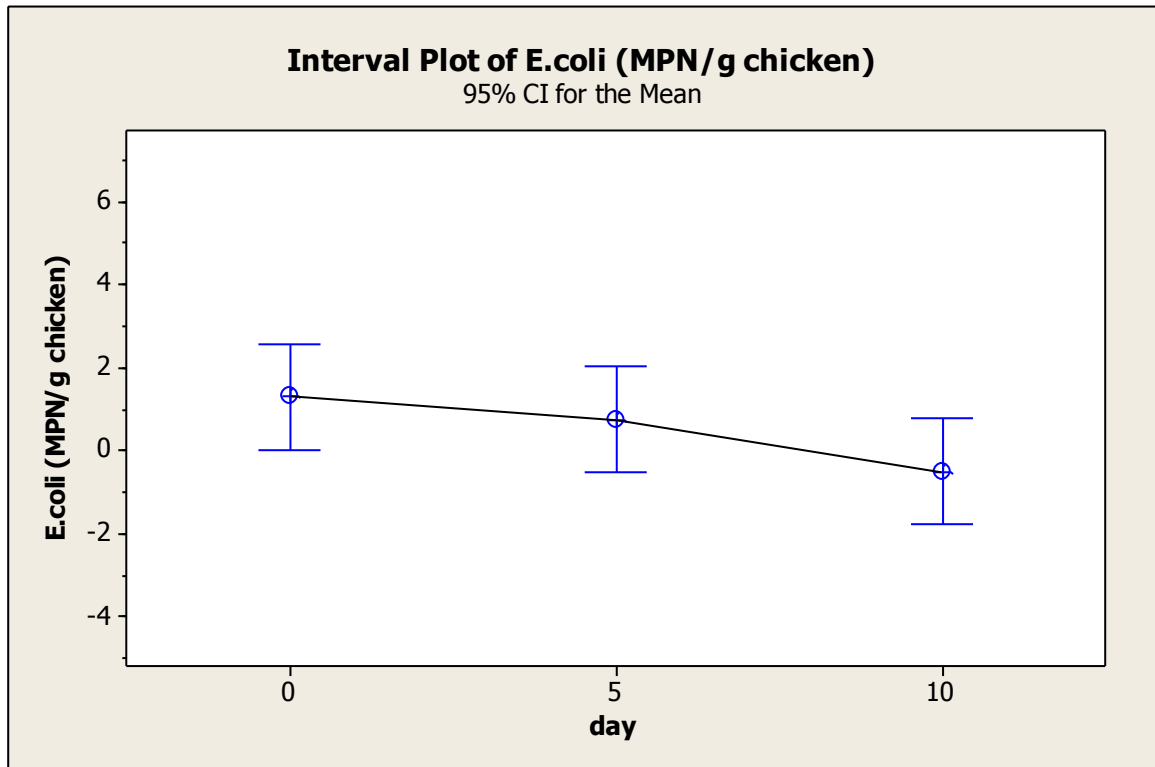


Σχήμα 9: Μεταβολή του πληθυσμού των coliforms σε νωπή μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα διατηρημένη στους 5°C.

Στο σχήμα 9 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού των coliforms σε νωπή μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα. Παρατηρείται σταδιακή αύξηση του φορτίου των coliforms μεταξύ της ημέρας σφαγής (3 λογάριθμοι), της 5^{ης} ημέρας (4,2 λογάριθμοι) και της 10^{ης} ημέρας συντήρησης (4,8 λογάριθμοι). Εν τούτοις στατιστικά σημαντική αύξηση παρατηρείται μόνο μεταξύ ημέρας 0 και 10^{ης} ημέρας συντήρησης.

5.4. Καταμέτρηση της *E.coli* στα μη συσκευασμένα τεμάχια κοτόπουλου.

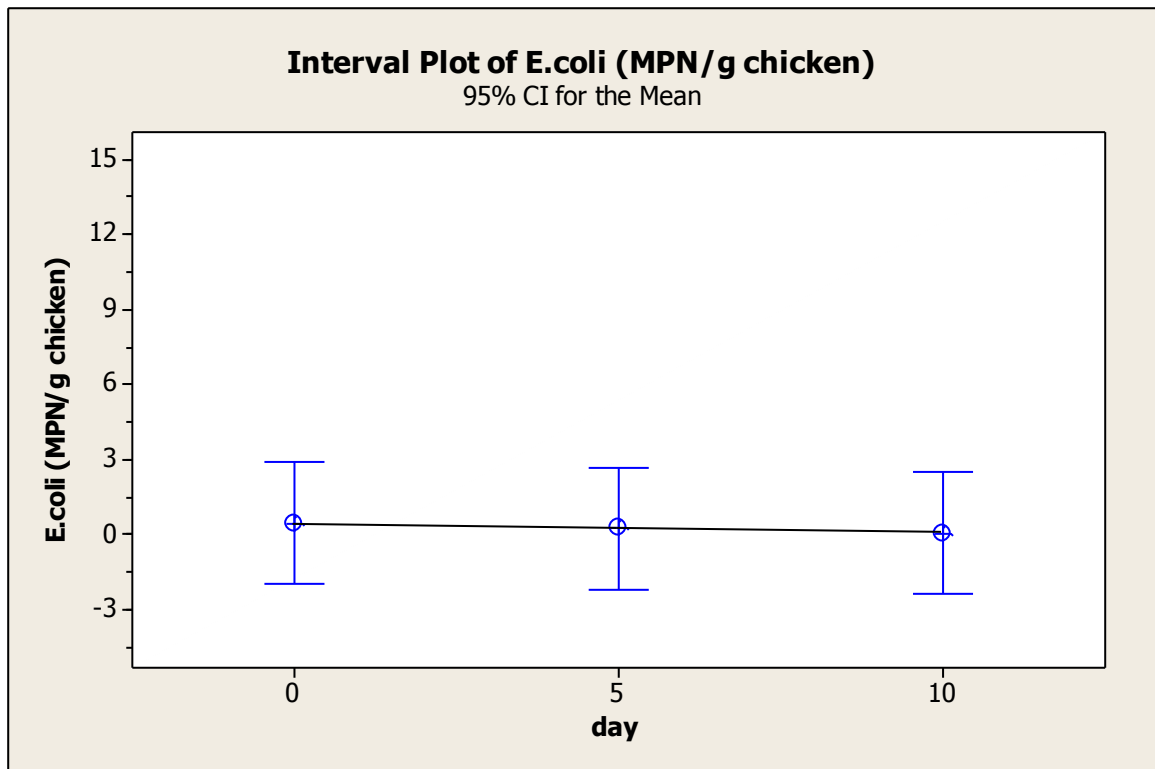
5.4.1. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπό μη συσκευασμένο μπούτι.



Σχήμα 10: Μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* σε νωπό μη συσκευασμένο μπούτι διατηρημένο στους 5°C.

Στο σχήμα 10 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* στο νωπό μη συσκευασμένο μπούτι. Το συσκευασμένο μπούτι παρουσίασε χαμηλό πληθυσμό *E.coli* κυμαινόμενο σε επίπεδο χαμηλότερο των 20 cfu/g. Από το σχήμα διαπιστώνουμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο φορτίο της *E.coli* μεταξύ των 0, 5 και 10 ημερών. Η ελαφρά πτωτική τάση της καμπύλης υποδηλώνει ότι επρόκειτο για μη ψυχρότροφη *E.coli*.

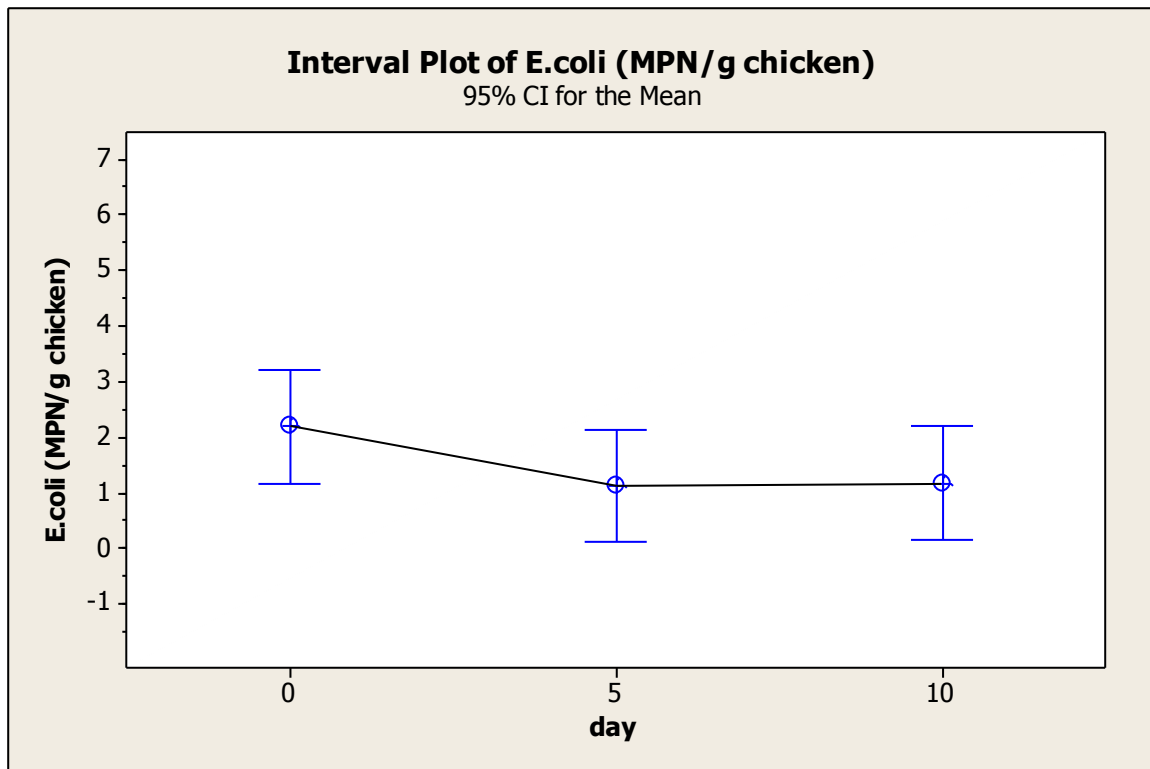
5.4.2. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπό μη συσκευασμένο στήθος.



Σχήμα 11: Μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* σε νωπό μη συσκευασμένο στήθος διατηρημένο στους 5°C.

Στο σχήμα 11 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* στο νωπό μη συσκευασμένο στήθος κοτόπουλου. Όπως γίνεται φανερό από το σχήμα, το φορτίο της *E.coli* ήταν πολύ χαμηλό (<10 cfu/g) και διατηρήθηκε στα ίδια επίπεδα σε όλη τη διάρκεια συντήρησης. Μεταξύ των ημερών 0, 5 και 10 δεν υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική διαφορά.

5.4.3. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπό μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.

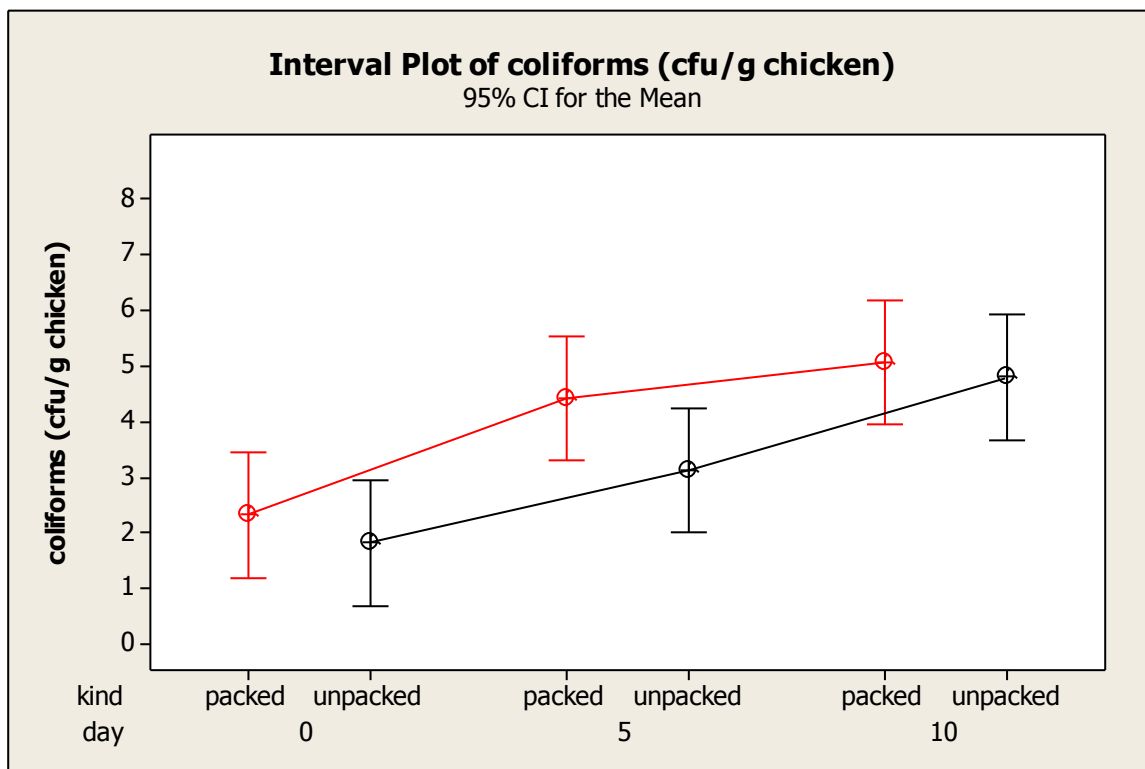


Σχήμα 12: Μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* σε νωπή μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα διατηρημένη στους 5°C.

Στο σχήμα 12 αποτυπώνεται η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* που καταμετρήθηκε στην κοιλιακή κοιλότητα μη συσκευασμένου τεμαχίου. Είναι φανερό ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική μεταβολή στον φορτίο της *E.coli* μεταξύ των 0, 5 και 10 ημερών συντήρησης. Η ελαφρά πτωτική τάση της καμπύλης επιβεβαίωσε για μια ακόμη φορά, ότι επρόκειτο για μη ψυχρότροφη *E.coli*.

5.5. Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των coliforms μεταξύ συσκευασμένων και μη συσκευασμένων τεμαχίων νωπού κοτόπουλου.

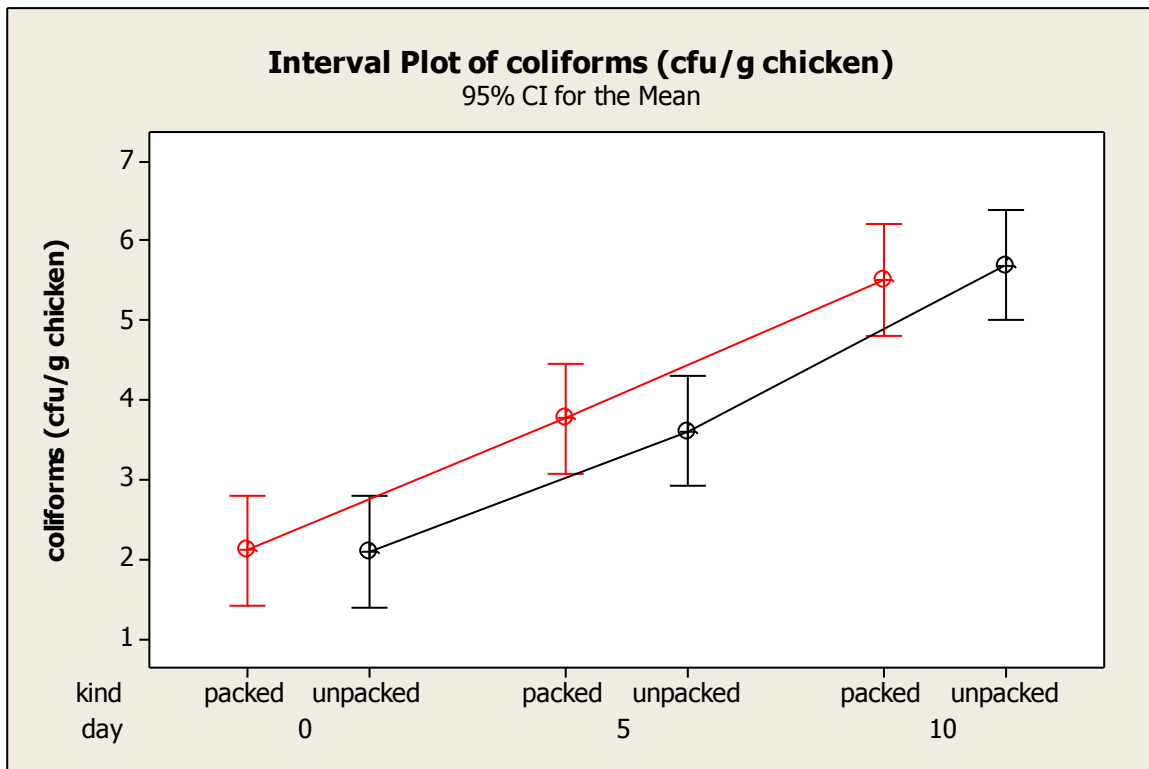
5.5.1. Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο μπουτί.



Σχήμα 13: Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των coliforms μεταξύ νωπού συσκευασμένου και μη συσκευασμένου μπουτιού.

Στο σχήμα 13 αποτυπώνεται συγκριτικά η μεταβολή του πληθυσμού των coliforms στο νωπό συσκευασμένο και μη συσκευασμένο μπουτί. Κατά την ημέρα σφαγής δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά του συσκευασμένου σε σχέση με το μη συσκευασμένο. Επίσης, την 5^η ημέρα συντήρησης του προϊόντος δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά του συσκευασμένου σε σχέση με το μη συσκευασμένο μπουτί. Η ίδια ακριβώς εικόνα παρατηρείται και κατά την 10^η ημέρα συντήρησης στους 5°C. Στατιστικά σημαντική αύξηση των coliforms σε αμφοτέρω τα νωπά προϊόντα παρατηρείται μόνο μεταξύ της ημέρας σφαγής και της 10ης ημέρας συντήρησης.

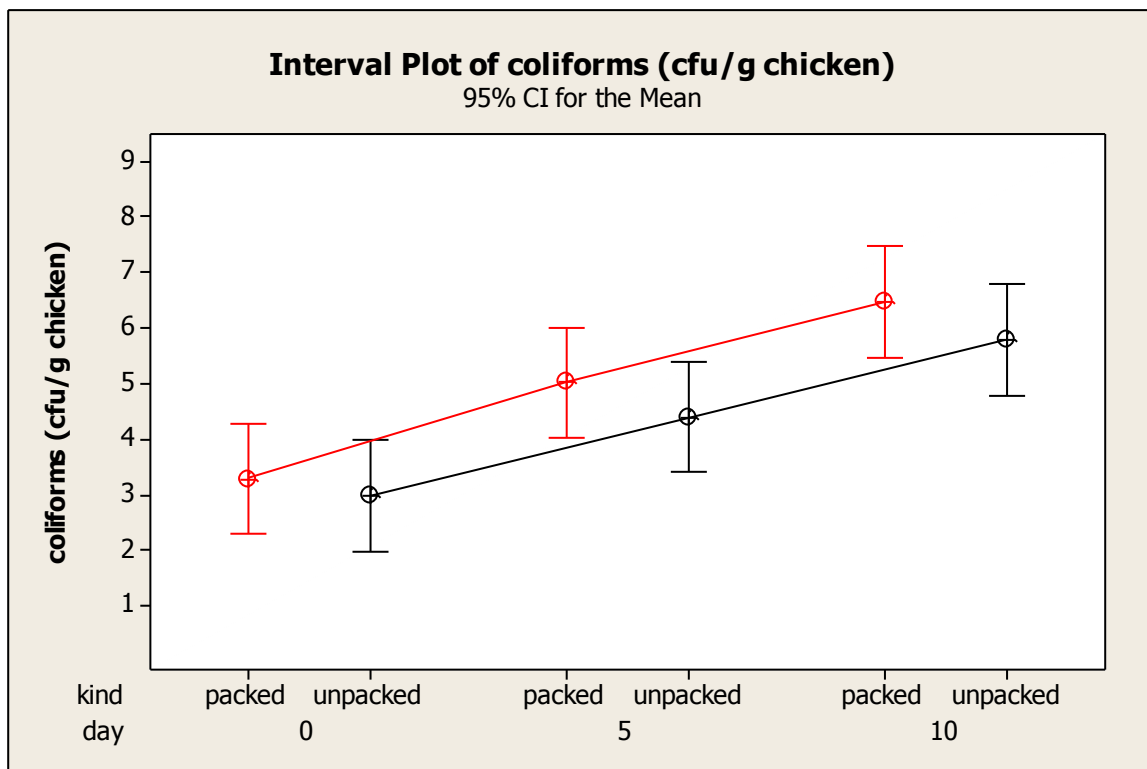
5.5.2. Πληθυσμός των coliforms σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο στήθος.



Σχήμα 14: Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των coliforms μεταξύ νωπού συσκευασμένου και μη συσκευασμένου στήθους.

Στο σχήμα 14 αποτυπώνεται συγκριτικά η μεταβολή του πληθυσμού των coliforms στο νωπό συσκευασμένο και μη συσκευασμένο στήθος. Την ημέρα σφαγής δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά του συσκευασμένου σε σχέση με το μη συσκευασμένο στήθος. Επίσης την 5^η ημέρα συντήρησης δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά του συσκευασμένου σε σχέση με το μη συσκευασμένο στήθος. Η ίδια εικόνα παρατηρείται και κατά την 10^η ημέρα συντήρησης στους 5°C. Στατιστικά σημαντική αύξηση των coliforms παρατηρείται μεταξύ των τριών διαδοχικών καταμετρήσεων, δηλ. ημέρα 0, 5^η και 10^η ημέρα συντήρησης, τόσο στο συσκευασμένο όσο και το μη συσκευασμένο στήθος.

5.5.3. Πληθυσμός των coliforms σε νωπή συσκευασμένη και σε μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.

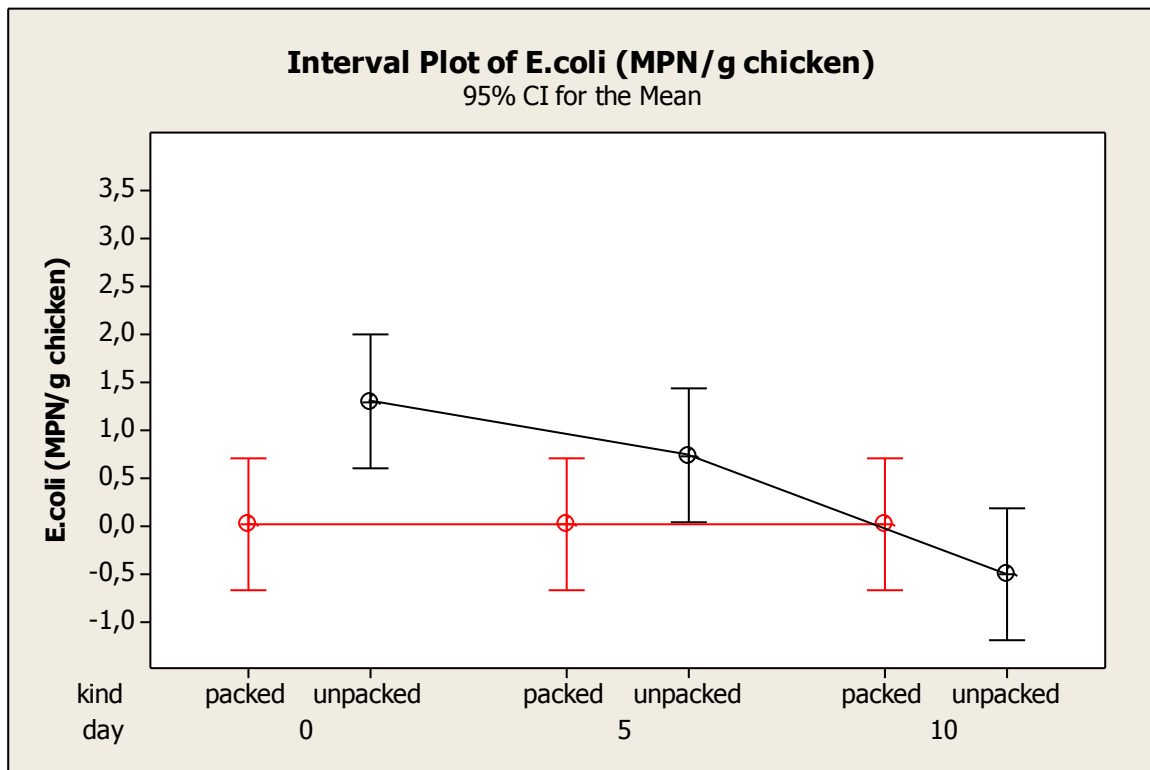


Σχήμα 15: Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού των coliforms μεταξύ νωπής συσκευασμένης και μη συσκευασμένης κοιλιακής κοιλότητας.

Στο σχήμα 15 αποτυπώνεται συγκριτικά η μεταβολή του πληθυσμού των coliforms στην κοιλιακή κοιλότητα μεταξύ συσκευασμένου και μη συσκευασμένου τεμαχίου κοτόπουλου. Η καμπύλη ακολουθεί την ίδια πορεία με τις καμπύλες των σχημάτων 13 και 14 που αντιστοιχούν στο μπούτι και το στήθος κοτόπουλου. Μεταξύ συσκευασμένου και μη συσκευασμένου προϊόντος δεν παρατηρείται καμία στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά στις καταμετρήσεις των 0, 5 και 10 ημερών. Στατιστικά σημαντική αύξηση παρατηρείται μόνο μεταξύ της ημέρας σφαγής και της 10^{ης} ημέρας συντήρησης.

5.6. Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού της *E.coli* μεταξύ συσκευασμένου και μη συσκευασμένου τεμαχίου νωπού κοτόπουλου.

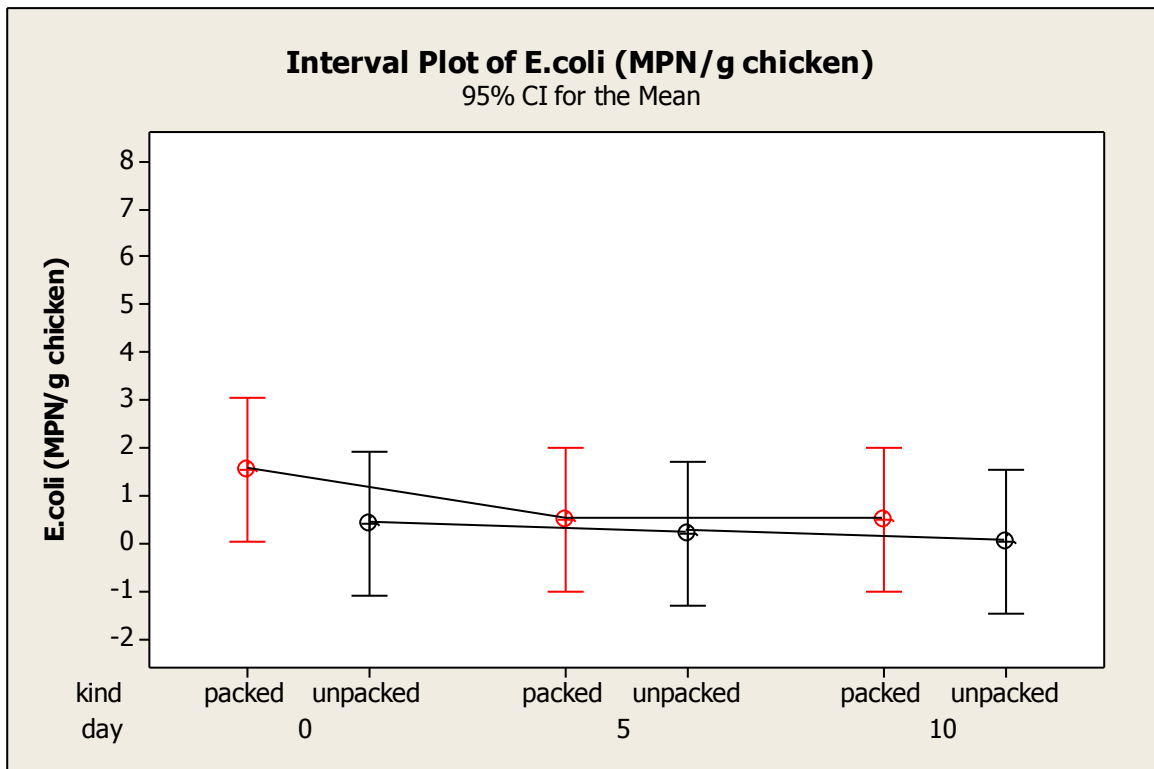
5.6.1. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο μπουτί.



Σχήμα 16: Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού της *E.coli* μεταξύ νωπού συσκευασμένου και μη συσκευασμένου μπουτιού.

Στο σχήμα 16 αποτυπώνεται συγκριτικά η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* στο νωπό συσκευασμένο και μη συσκευασμένο μπουτί κοτόπουλου. Κατά την ημέρα σφαγής (ημέρα 0) παρατηρείται στατιστικά σημαντική μεταβολή μεταξύ συσκευασμένου και μη συσκευασμένου μπουτιού. Στις καταμετρήσεις που έγιναν την 5^η και 10 ημέρα συντήρησης στους 5°C δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική μεταβολή του συσκευασμένου σε σχέση με το μη συσκευασμένο μπουτί.

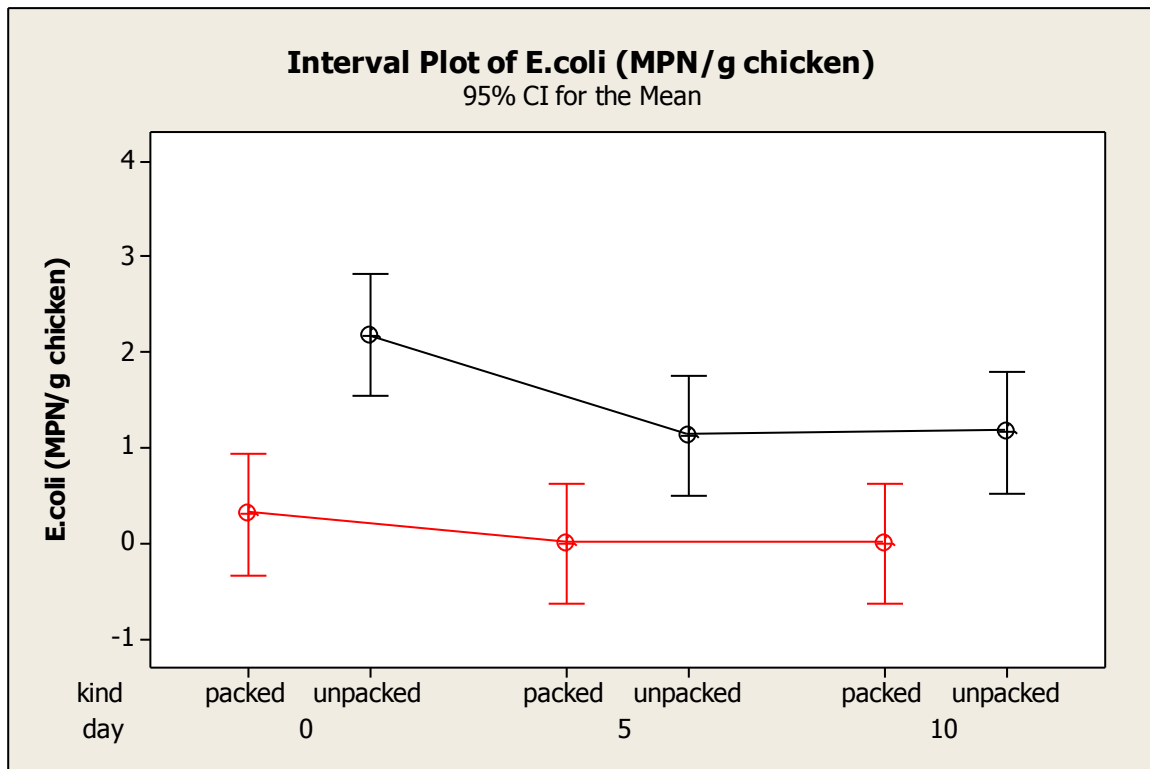
5.6.2. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπό συσκευασμένο και σε μη συσκευασμένο στήθος.



Σχήμα 17: Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού της *E.coli* μεταξύ νωπού συσκευασμένου και μη συσκευασμένου στήθους.

Στο σχήμα 17 αποτυπώνεται συγκριτικά η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* στο νωπό συσκευασμένο και μη συσκευασμένο στήθος κοτόπουλου. Όπως και στο νωπό μπούτι έτσι και στο στήθος, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ συσκευασμένου και μη συσκευασμένου προϊόντος αφ' ενός, και αφ' ετέρου μεταξύ των ημερών 0, 5 και 10, κατά τις οποίες καταμετρήθηκαν οι αριθμοί της *E.coli*.

5.6.3. Πληθυσμός της *E.coli* σε νωπή συσκευασμένη και σε μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα.



Σχήμα 18: Συγκριτική μελέτη της μεταβολής του πληθυσμού της *E.coli* μεταξύ νωπής συσκευασμένης και μη συσκευασμένης κοιλιακής κοιλότητας.

Στο σχήμα 18 αποτυπώνεται συγκριτικά η μεταβολή του πληθυσμού της *E.coli* στη νωπή κοιλιακή κοιλότητα συσκευασμένου και μη συσκευασμένου τεμαχίου κοτόπουλου. Κατά την ημέρα σφαγής παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά της συσκευασμένης σε σχέση με τη μη συσκευασμένη κοιλιακή κοιλότητα. Κατά την 5^η ημέρα και την 10^η ημέρα συντήρησης παρατηρήθηκε οριακή στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ συσκευασμένης μη συσκευασμένης κοιλιακής κοιλότητας.

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

6.1. Οπτικός έλεγχος

Ο οπτικός έλεγχος των δειγμάτων έγινε κατά την 5^η και 10^η ημέρα συντήρησης. Σε αμφότερες τις εξετάσεις δε διαπιστώθηκαν οπτικά εμφανείς διαφορές μεταξύ συσκευασμένων και μη συσκευασμένων τεμαχίων κοτόπουλου.

Μετά από 5 ημέρες συντήρησης το δέρμα των τεμαχίων ήταν αρκετά υγρό και λιπαρό, ενώ σε μερικά σημεία της επιφάνειας του δέρματος παρατηρήθηκαν μικρές κηλίδες ανοιχτού πράσινου, κίτρινου ή ροζ χρώματος. Σύμφωνα με τις βιβλιογραφικές πηγές χρωμογόνα είδη του γ.*Pseudomonas* έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται στα κρέατα σε αερόβιες συνθήκες και να δημιουργούν αποικίες πράσινου χρώματος (Montville and Matthews, 2010), ενώ στις ίδιες θερμοκρασίες μπορούν να αναπτυχθούν και άλλα ψυχρότροφα χρωμογόνα βακτήρια (γ. *Serratia*: κόκκινες αποικίες) και χρωμογόνες ζύμες (γ. *Torulopsis*, γ. *Rhodotorula*: πορτοκαλί αποικίες (Παπαντωνίου, 2011)). Κατά το άνοιγμα της συσκευασίας έγινε ελαφριά αισθητή οσμή ξινίλας. Στην επιφάνεια του κρέατος δεν παρατηρήθηκε στρώση γλοιώδους στρώματος, χωρίς ταυτόχρονα να υπάρχει αλλοίωση της συνεκτικότητας (δηλ. δομής) του κρέατος. Μολονότι στα δείγματα δεν καταμετρήθηκε η O.M.X., εκτιμάται ότι η ελαφριά κακοσμία αποτελεί την πρώτη ένδειξη αρχόμενης αλλοίωσης και εμφανίζεται με O.M.X.>10⁶- 10⁷ cfu/g (Παπαντωνίου, 2011). Ως εκ τούτου, επειδή στα δείγματά μας την 5^η ημέρα αριθμήθηκαν coliforms επιπέδου 2,5-4,5 λογαρίθμων, θεωρείται πολύ πιθανόν η O.M.X. να κυμαίνεται σε επίπεδο 6-7 λογαρίθμων.

Μετά από συντήρηση 10 ημερών στους +5°C, η δυσάρεστη οσμή ήταν πιο έντονη, παρατηρήθηκε σχηματισμός γλοιώδους στρώματος οι κηλίδες αποχρωματισμού ήταν αρκετά εκτεταμένες, ενώ ταυτόχρονα παρατηρήθηκε αλλοίωση της συνοχής του κρέατος, δηλ. ο μυϊκός ιστός ήταν μαλακός. Οι αλλοιώσεις της οσμής, του χρώματος και της δομής του κρέατος οφείλονται κυρίως σε πρωτεολυτικά βακτήρια των γενών *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia*, *Micrococcus*, *Bacillus* και *Clostridium*, που αποδομούν τις πρωτεΐνες και τα αμινοξέα και παράγουν δύσοσμα προϊόντα (πτητικές αμίνες, αμμωνία, υδρόθειο, κλπ), καθώς και σε χρωμογόνα βακτήρια των γενών *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Serratia*, κ.ά., που προκαλούν ανώμαλες χρώσεις (Jackson et al., 1997).

6.2. Αρίθμηση των coliforms

Η αρίθμηση των coliforms στα συσκευασμένα και μη συσκευασμένα τεμάχια, όσον αφορά σε κάθε μια χωριστά από τις 0, 5 και 10 ημέρες συντήρησης, δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι πολύ μικρές διαφορές που παρατηρήθηκαν κυμάνθηκαν σε επίπεδο 0,5-1,0 λογαρίθμου. Η αμελητέα αυτή διαφορά, η οποία σημειωτέον δεν ήταν αναμενόμενη, αφορούσε στα συσκευασμένα τεμάχια (σχήματα 13, 14 και 15). Η διαφορά αυτή μπορεί να εξηγηθεί μόνο με την επιπλέον μόλυνση που συνέβη κατά την συσκευασία των τεμαχίων των κοτόπουλων στη μονάδα συσκευασίας.

Την ημέρα σφαγής (ημέρα 0) το συνολικό φορτίο των coliforms κυμάνθηκε από 200 cfu/g (σε μπούτι, στήθος) μέχρι περίπου 2000 cfu/g (στην κοιλιακή κοιλότητα). Αυτό έδειξε ότι η διαδικασία αφαίρεσης των σπλάχνων του κοτόπουλου αποτελεί μια σημαντική πηγή μόλυνσης του κρέατος και ειδικότερα της κοιλιακής κοιλότητας. Ο κίνδυνος εντερικής επιμόλυνσης είναι πολύ μεγαλύτερος σε περίπτωση κατά την οποία συμβεί σπάσιμο των εντέρων κατά τον εκσπλαχνισμό του κοτόπουλου (Mead and Scott, 1997, Berrang et al., 2004). Απεναντίας το εξωτερικό του σώματος του κοτόπουλου μολύνεται κυρίως από τα φτερά και τα πούπουλα, τα οποία αποτελούν ιδανικό περιβάλλον για μικροοργανισμούς που υπάρχουν στις πτηνοτροφές, τα σκουπίδια ή τα κόπρανα (Montville and Matthews, 2010).

Κατά την 5^η ημέρα συντήρησης, ενώ το μπούτι και η κοιλιακή κοιλότητα παρουσίασαν οριακή ή καμία στατιστικά σημαντική αύξηση των coliforms σε σύγκριση με την ημέρα 0, στο στήθος διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των κολοβακτηριοειδών. Αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί στη διαφορετική δομική συγκρότηση του κρέατος του στήθους σε σχέση με το κρέας των άλλων τεμαχίων (Barnes and Imprey, 1975). Επίσης, η αρχόμενη αλλοίωση που παρατηρήθηκε την 5^η ημέρα και χαρακτηρίστηκε από ελαφριά μυρωδιά και από μερικές κηλίδες αποχρωματισμού, οφείλεται κυρίως στη δραστηριότητα της ψυχρότροφης πρωτεολυτικής μικροβιοχλωρίδας (π.χ. ψευδομονάδες), η οποία όμως δεν μελετήθηκε στην παρούσα εργασία. Σε αυτή την ομάδα των ψυχρότροφων μικροβίων βρέθηκε ότι τα coliforms συμμετείχαν με ένα επίπεδο 3,0-4,5 λογαρίθμων και οπωσδήποτε είχαν κάποια επίδραση στις αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν.

Κατά την 10^η ημέρα συντήρησης διαπιστώθηκε αρκετά προχωρημένη αλλοίωση, με τα

coliforms να φθάνουν στο επίπεδο των 5,5 λογαρίθμων. Η σημασία της συμμετοχής αυτών στην αλλοιογόνο μικροβιοχλωρίδα των τεμαχίων του κοτόπουλου είναι ίδια με την σημασία που αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο.

Η παρουσία της *E.coli* στην ομάδα των coliforms κυμάνθηκε σε επίπεδο χαμηλότερο των 2,0 λογαρίθμων με πτωτική τάση μετά από συντήρηση 5 ημερών. Αυτό φανέρωσε το μη ψυχρότροφο χαρακτήρα του βακτηρίου. Η διαπίστωση αυτή υποδηλώνει την πολύ περιορισμένη σημασία της *E.coli* ως μέλος της αλλοιογόνου μικροβιοχλωρίδας των τεμαχίων του νωπού κοτόπουλου.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adamcic, M. and Clark, D.S. (1970) Bacteria- induced biochemical changes in chicken skin stored at 5° C. *Journal of Food Science*, **35**, 103-6.
- Anonymous (1993) Major trade flows in poultry meat. *Meat International*, **2**, 28- 29.
- Bailey, J.S., Cox, N.A. and Berrang, M.E. (1994) Hatchery- acquired salmonellae in broiler chicks. *Poultry Science*, **73**, 1153-7.
- Barnes, E.M. and Impey, C.S. (1968) Psychotrophic spoilage bacteria of poultry. *Journal of Applied Bacteriology* , **3**, 97-107.
- Barnes, E.M. and Impey, C.S. (1975) The shelf-life of uneviscerated and eviscerated chicken carcasses stored at 10°C and 4°C. *British Poultry Science*, **16**, 319-326.
- Barnes, E.M. (1976) Microbiological problems of poultry at refrigerator temperatures- a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **27**, 777-782.
- Berrang, M.E., Smith, D.P. and Windham, W.R. (2004). Effect of intestinal content contamination on broiler carcass *Campylobacter* count. *Journal of Food Protection*. **67**, 235-238.
- Bilgilli, S.F (1998) Effect of feed and water withdrawal on shear strength of broiler gastrointestinal tract. *Poultry Science*, **67**, 845-847.
- Bjorkroth, J. and Holzaphel, W. (2003) Gemera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In Dworkin M. (ed.), *The Prokaryotes: An envolving electronic resource for the microbiological commutity*, Berlin, Springer Verlag, Release 3.12.
- Borch, E., Kant-Muermans, M.-L. and Blixt, Y. (1996) Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, **46**, 123-134.
- Brenner, J.D. (1992) Introduction to the Family Enterobacteriaceae. In Balows, A., Truber, G.H., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.-H. (eds.), *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria*, New York, Springer Verlag, 2nd Ed., Vol. 3, 2673-2921.
- Brown, D. (1993) Evolution of world trade. *Broiler Industry*, **56**, 72-76.

- Bryan, F.L. (1980) Poultry and poultry meat products. In Silliker, J.H., Elliot, R.P., Baird- Parker, A.C., Bryan, F.L., Christian, J.H.B., Clark, D.S., Olsen, J.C. Jr and Roberts, T.A. (eds), *Microbial Ecology of Foods*, New York, Food Commodities, Academic Press, Vol. 2, 410-469.
- Buhr, R.J., Northcutt, J.K., Lyon, C.E. and Rowland, G.N. (1998) Influence of time off feed on broiler viscera weight, diameter and shear. *Poultry Science*, **77**, 758-764.
- Edel, W. (1994) *Salmonella enteritidis* eradication programme in poultry breeder flocks in The Netherlands. *International Journal of Food Microbiology*, **21**, 171- 8.
- Elnawawi, F.A., Attala, O.A. and Saleh, S. (2012) Enteropathogens of public health imported frozen meat and chicken. *International Journal of Food Microbiology Research*, **3**, 59-63.
- Garcia-Lopez, M.L, Prieto, M. and Otero, A. (1998) The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. In Davies A, Board R. (eds), *The Microbiology of Meat and Poultry*, London, Blackie Academic and Professional, 1-34.
- Gill, C.O. and Badoni, M. (2004) Recovery of bacteria from poultry carcasses by rinding, swabbing or excision of skin. *Food Microbiology*, **22**, 101- 107.
- Grau, F.H. (1986) Microbiology of meat and poultry. In Pearson, A.M. and Dutson, T.R. (eds), *Meat and Poultry Products Microbiology: Advances in Meat Research*, Westport, AVI Publishing Co., Inc., Conn., Vol. 2, 1-47.
- Herman, L., Heyndrickx, M., Grijspeerdt, K., Vundekerchove, D., Rollier, I. and De Zutter, L. (2003) Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughter-house. *Epidemiology & Infection*, **131**, 1169-1180.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Food) (1998) Poultry and poultry products. In Roberts, T.A., Pitt, J.I., Farkas, J. and Grau, F.H. (eds), *Microorganisms in Food: Microbial Ecology of Food Commodities*, London, Blackie Academic and Professional, 75- 129.

- Ismail, S.A.S., Deak, T., Add El-Rahman, H.A., Yassien, M.A.M. and Beuchat, L.R. (2000) Presence and changes in populations of yeasts on raw and processed poultry products stored at refrigeration temperature. *International Journal of Food Microbiology*, **62**, 113-121.
- Jackson, C.T., Acuf, R.G and Dickson J.S. (1997) Meat, Poultry and Seafood. In Doyle P.M., Beuchat, R.L and Montville, J.T. (eds), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington D.C. 84-89.
- Jones, R.J. (2004) Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill- stored vacuum- packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, **90**, 273-282.
- Lambert, A.D., Smith, J.P. and Dodds, K.L. (1991) Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat. A review. *Food Microbiology*, **8**, 267-297.
- Lawrie, R.A. (1991) *Meat Science*, 5th ed., Pergamon Press, Oxford.
- May, J.D. and Deaton, J.W. (1989) Digestivetract clearance of broilers copped or deprived of water. *Poultry Science*, **68**, 627-630.
- May, J.D., Lott, B.D. and Deaton, J.W. (1990) The effect of hight and environmental temperature on broiler digestive tract contents after feed withdrawal. *Poultry Science*, **69**, 1681-1684.
- May, J.D., Branton, S.L., Deaton, J.W. And Simmons, J.D. (1998) Effect of environmental temperature and feeding vegimen on quality of digestive tract contents of broiler. *Poultry Science*, **67**, 64-71.
- Mead, G.C. (1982) Microbiology of poultry and gamebirds. In Brown, M.H. (ed.), *Meat Microbiology*, Applied Science Ltd., New York, 67-101.
- Mead, G.C., and Scott, M.J. (1997) Spread of enteric “marker” organism during evisceration of New York dressed poultry in a simulated kitchen environment. *British Poultry Science*. **38**, 195-198.
- Montville, T.J. and Matthews, K.R. (2010) *Food Microbiology: An Introduction*, ASM Press, Washington DC.

- Mossel, D.A.A., Corry, J.E.L., Struijkand, C.B. and Baird, R.M. (1995) *Essentials of the Microbiology of Foods*, Chichester, John Wiley & Sons.
- Newton, K.G. and Gill, C.O. (1980) The microbiology of DFD fresh meats- a review. *Meat Science*, **5**, 223- 232.
- Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N. and Tassou, C.C. (2003) Antimicrobials from herbs and spices. *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*, Cambridge, Woodhead Publishing, 176-200.
- Patterson, J.T. and Gibbs, P.A. (1977) Incidence and sources of Enterobacteriaceae found on frozen broilers. *Proceedings of the 3rd European Symposium on Poultry Meat Quality*, pp.69-75.
- Rasschaert, G., Houf, K. and De Zutter, L. (2007) External contamination of *Campylobacter*- free flocks after transport in cleaned and disinfected containers. *Journal of Food Protection*, **70**, 40-46.
- Renwick, S.A., McNab, W.B., lowman, H.R. and Clarke, R.C. (1993) Variability and determinants of carcass load at a tree poultry abattoir. *Journal of Food Protection*, **56**, 694-699.
- Rio, E., Panizo-Moran, M., Prieto, M., Alonso-Calleja, C. and Capita R. (2006) Effect of various chemical decontamination treatments on natural microflora and sensory characteristics of poultry. *International Journal of Food Microbiology*, **115**, 268-280.
- Roberts, D. and Greenwood, M. (2003) *Practical Food Microbiology*, 3rd ed., Blackwell Publishing Ltd, 149- 157.
- Samelis, J. and Sofos, J.N. (2003b) Yeasts in meat and meat products. *Yeasts in Food*, Hamburg, Behr's Verlag, 239-265.
- Slader, J., Dominique, G., Jorgesen, F., McAlpine, K., Owen, R.J., Bolton, F.J. and Humphrey, T.J. (2002) Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. *Applied Environmental Microbiology*, **68**, 713-719.

- Sofos, J.N. (1994) Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. In Pearson, A.M. and Dutson, T.R. (eds), *Advances in Meat Reasult: Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products*, Glasgow, Chapman and Hall, 353- 403.
- Stern, N.J.,Clavero, M.R., Bailey, J.S., Cox, N.A. and Robach, M.C. (1995) *Campylobacter* spp. In broilers on the farm and after transport. *Poultry Science*, **74**, 937-941.
- Sundheim, G., Sletten, A. and Dainty, R.H. (1998) Identification of *Pseudomonas* from and chill- stored chichen carcasses. *International Journal of Food Microbiology*, **39**, 185-194.
- Tompkin, R.B. (1986) Microbiology of ready-to-eat meat and poultry products- a historical perspective. *Food Technology*, **34**, 229- 236, 259.
- Turnbull, P.C.B. and Snoeyenbos, G.M. (1973) The role of ammonia, water activity and pH in the salmonellacidal effect of long- used poultry litter. *Avian Deseases*, **17**, 72- 86.
- Voidarou, C., Vassos, D., Rozos, G., Alexopoulos, A., Plessas, S., Tsinas, A., Skoufou, M., Stavropoulou, E. and Bezirtzoglou, E. (2011) Microbial challenges of poultry meat production. *Anaerobe*, **17**, 341-343.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Κώδικας Τροφίμων και Ποτών 2009
- Montville, T.J. and Matthews, K.R. (2010) Μικροβιολογία τροφίμων. Επιμέλεια Σπηλιώτης, Β. και Γιαβάσης, Ι., Εκδόσεις ΙΩΝ, 290-293.
- Δεληγκάρης, Ν. (1995) Μικροβιολογία Τροφίμων. Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων. Αθήνα, 128-131.
- Παπαντωνίου, Δ. (2011) Μικροβιολογία Τροφίμων. Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, 142-167.

- Παπαντωνίου, Δ. (2013) Εργαστήριο Μικροβιολογίας Τροφίμων. Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης.

Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

USDA (2013) <http://www.ers.usda.gov/topics/animal-products/poultry-eggs.aspx>

FAO (2007) <http://www.fao.org>