

## 효소형 Time-Temperature Integrator를 이용한 쇠고기의 부패확인

이중용 · 이승주 · 홍광원\*

동국대학교 식품공학과

### Use of Commercial Enzymatic Time Temperature Integrator for Monitoring Spoilage of Ground Beef

Jung-Young Lee, Seung-Ju Lee, and Kwang-Won Hong\*

Department of Food Science and Technology, Dongguk University

#### Abstract

The applicability of a commercial enzymatic time-temperature integrator (TTI) for monitoring spoilage of ground beef was investigated under isothermal storage condition at different temperatures. The volatile basic nitrogen (VBN) value was used as a spoilage index for ground beef. The time taken to reach the spoilage of ground beef stored at 4, 10, 15, 20, and 25°C were 168, 114, 60, 48, and 24 hrs, respectively. However, these quality losses of beef were not coincided with the endpoints of the three different C-type TTIs (C-1, C-4, and C-7). In order to match the TTI response to the quality loss of beef, some ingredients such as enzyme and substrate solutions were extracted from C-ITTI and remixed with different amount of them in the tubes to constitute the modified TTIs. The responses of the modified CM-1 TTI were very close to the quality loss of beef stored at 20 and 25°C, but not at other temperatures tested. The response of the other modified CM-2 TTI was only matched to the quality loss of beef stored at 15°C. Therefore, systematic kinetic studies of food spoilage and the TTI response are required to apply the TTI as a quality indicator for a specific food.

**Key words:** time temperature integrator, VBN, beef, spoilage

## 서 론

최근 식품의 안전과 품질에 대한 소비자들의 관심이 증가함에 따라 저장 또는 유통 조건에 따라 품질의 변화를 실시간으로 나타낼 수 있는 time-temperature integrator (TTI)가 다양한 식품에 적용 되고 있다(Bin et al., 1991). TTI란 식품의 저장 및 유통 중 제품이 노출된 시간-온도 이력을 정량적으로 나타내는 일종의 센서이다(Lee & Lee, 2008). TTI는 식품 포장에 부착되어 온도 변화에 따라 화학적, 물리적, 효소적, 그리고 미생물학적 작용을 통해 TTI의 색이 변화하거나 색이 확산함으로써 육안으로 관찰이 가능하다(Guiavarch et al., 2004). 또한 경제적이고 냉장 조건에서도 식품의 품질에 온도이력이 어떠한 영향을 미치는지 모니터링할 수 있는 간편한 장치이다. 따라서 TTI는

시간-온도 이력에 따른 식품의 부패 정도를 판단할 수 있고, 유통 및 저장 기간 중 유효 기간이 얼마나 남아 있는지 예측하는데도 유용하게 이용할 수 있다(Taoukis & Labuza, 1989a,b; Taoukis et al., 1999). TTI는 온도에 민감한 유제품, 과일, 야채, 생선, 해산물, 육류 등과 같은 냉장·냉동 식품 등 다양한 종류의 식품에 대하여 외국에서 적용된 사례가 많이 보고되고 있다(Chen & Zall, 1987; Dolan et al., 1985; Bin et al., 1991; Giannakourou & Taoukis, 2002; Grisius et al., 1987; Labuza and Fu, 1995; Mistry & Kosikowski, 1983; Rice, 1989; Rodriguez & Zaritzki, 1983; Shellhammer & Singh, 1991; Singh & Wells, 1985; Singh & Wells, 1987; Tinker et al., 1985; Tucker et al., 2007; Claeys et al., 2003).

현재 상업적으로 사용되는 TTI는 효소형, 고분자형, 확산형이 주를 이루고 있다. 이 중 가장 많이 상용화 되어 있는 TTI는 VITSAB(VITSAB AB, Malmo, Sweden)의 효소형 TTI(Agerhem & Nilson, 1981; Blixt et al., 1977)와 착색 화합물을 만들어내는 고분자형 Lifelines Freshness Monitor TTI(TempTime Inc., Morris Plains, NJ, USA)이다(Brody, 2001). VITSAB의 TTI는 기질이 효소에 의해 가수분해되어 pH 감소가 일어나게 되고 이에 따라 색이 변화

Corresponding author: Kwang-Won Hong, Department of Food Science and Technology, Dongguk University College of Life Science and Biotechnology, Dongguk University, 26, 3 Pil-dong, Chung-gu, Seoul 100-715, Korea

Tel: +82-2-2260-3369; Fax: +82-2-2285-3988

E-mail: hkwon@dongguk.edu

Received June 25, 2010; revised July 12, 2010; accepted July 14, 2010

는 원리를 기반으로 하는 효소형 TTI이다. 이는 격벽에 의해 두 공간으로 나누어져 있으며, 한쪽에는 효소용액이 들어 있으며, 다른 한쪽에는 pH 지시약과 함께 지질 수용액이 들어 있다(Taoukis, 2001). 사용 목적에 따라 다양한 종류의 효소 및 기질을 사용할 수 있으며, 두 공간을 나누고 있는 격벽의 파괴에 의해 TTI의 활성화가 시작된다(Giannakourou et al., 2005). Lifelines Freshness Monitor TTI는 고체 상태로의 중합반응 원리를 이용한 것이다(Fields & Prusik, 1983). 이 고분자형 TTI는 온도의 증가에 따라 단량체인 diacetylene의 중합반응이 일어나 색을 나타내는 결정형 구조가 된다. 색 변화는 광학 레이저 장치를 이용하여 측정할 수 있다(Kerry et al., 2006, Taoukis, 2001). 확산형 TTI인 3M Monitor Mark(3M Co., St. Paul, MN, USA)는 심지를 따라 확산되는 파란색 염료인 ester의 확산에 의해 반응이 이루어지며(Manske, 1973), ester의 종류와 농도에 따라 다양한 온도 범위와 반응 시간을 결정할 수 있다(Taoukis, 2001).

최고기의 품질 변화를 예측할 수 있는 인자로는 lactic acid bacteria(LAB), *Pseudomonas* spp, pH, 육색 변화, volatile basic nitrogen(VBN) 등 여러 품질지표가 있다(Byeon et al., 2009). 특히 VBN은 식품의 부패에 따라 생성되는 각종 아민류와 암모니아의 양을 측정하는 방법으로 육제품의 신선도를 평가하는 중요한 지표가 된다(Ko & Yang, 2001). 주로 육류의 부패 정도를 나타내는 품질지표로 알려진 VBN과 상용화된 TTI의 관계에 대한 연구 및 TTI의 한계점에 대한 연구는 국내에서는 매우 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 최고기의 품질변화에 적합한 새로운 TTI의 개발에 앞서 현재 시판되고 있는 효소형 TTI의 특성을 이해하기 위해 다양한 온도조건에서 TTI의 색 변화를 테스트하고 기존 제품에서 효소와 기질량의 변화가 온도에 따른 종말점 변화에 미치는 영향을 검토하고자 하였다. 동시에 다양한 온도 하에서 시간의 경과에 따른 최고기의 VBN 함량과 효소형 TTI의 색 변화와의 관계를 비교 분석하여 온도별 최고기 품질변화에 적용 가능한 TTI 사용 조건을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 쇠고기

본 연구에서는 저렴하면서도 등심과 비슷한 식감을 주어 소비자들이 선호하는 채끝을 시료로 사용하였다. 시료로 사용된 쇠고기의 이력은 강원도 횡성군의 축사에서 2년간 사육되고 도축되어 -2°C-5°C에서 20일 정도 보관된 1등급 한우육을 사용하였다. 쇠고기는 사용직전 믹서에 갈아 5g을 Falcon tube에 넣어 실험 온도에 따라 보관하며 사용하였다.

### 효소형 TTI

본 실험에서 사용한 TTI는 VITSAB(VITSAB AB)사의 C-type TTI로 이 제품은 육제품 및 같은 쇠고기에 주로 사용되고 있다. C-type은 시간-온도이력에 따라 초기에 녹색에서 진한 황색을 거쳐 종말점에 도달하면 적색으로 색의 변화가 일어난다. C-type은 3개의 TTI(C-1, C-4 및 C-7)로 구성되어 있으며 4°C에서 서로 다른 시간에 각각 종말점에 도달하도록 설계되어 있다. 4°C에서 C-1 type은 1일, C-4 type은 4일, C-7 type은 7일 만에 종말점에 도달한다.

### 변형된 TTI의 구성 및 TTI 색변화 측정

변형된 TTI를 구성하기 위하여 C-1 TTI의 주 구성분인 효소용액과 기질-지시약이 들어 있는 부분을 각각 멸균된 syringe를 이용하여 추출하였다. 변형시킨 TTI의 반응이 일어나도록 Eppendorf tube에 추출한 효소, 기질-지시약을 일정 비율로 분주하고 vortex mixer를 이용하여 충분히 혼합 후, 10, 15, 20, 25°C 항온배양기에 보관하여 재구성한 TTI의 색 변화를 확인하였다.

TTI의 색 변화는 Giannakourou et al.(2005)의 제시된 방법에 따라 I(Green), II(Yellowish-green), III(Yellowish-brown), IV (Brown) 및 V(Red) 총 5단계로 등급화하여 사용하였다.

### Volatile Basic Nitrogen(VBN) 측정

휘발성 염기태 질소를 Conway법(Conway, 1948)을 이용하여 시료 5g에 증류수 25 mL를 넣고 잘 섞어 30분간 침출 후 여과하여, 확산기 덮개의 갈아 맞추는 부분에는 기밀제를 고루 발라 주었다. 여과액에 5% 황산을 사용하여 pH 4로 중화시킨 후 확산기 외실 아래쪽에 1 mL를 넣었다. 확산기 내실에 0.01 N 황산 1 mL를 가한 뒤, 확산기 외실 윗쪽에 탄산칼륨 포화용액 1 mL를 넣고 덮개를 덮어 외실의 용액을 섞어 주었다. 이때 외실과 내실의 용액이 섞이지 않게 주의하여야 한다. 25°C에서 60분 정치 후 황산 용액에 Brunswick 시약을 한 방울 떨어뜨린 후, 0.01 N 수산화나트륨 용액으로 적정하여, 아래의 식 (1)로 환산하였다.

$$\text{VBN(mg\%)} = 0.14 \times \frac{(b-a) \times f}{W} \times 100 \times d \quad (1)$$

여기서 a는 본 실험에서의 적정치(mL), b는 공 실험의 적정치(mL), d는 희석배수, W는 시료의 양(g), f는 0.01 N NaOH의 역가를 의미한다(식품공전, 2002).

## 결과 및 고찰

### 효소형 C-type TTI의 특성

본 실험에서 사용한 효소형 TTI C-type은 3종류의 TTI로 이루어져 있으며, 4°C에서 C-1 TTI는 1일, C-4 TTI는

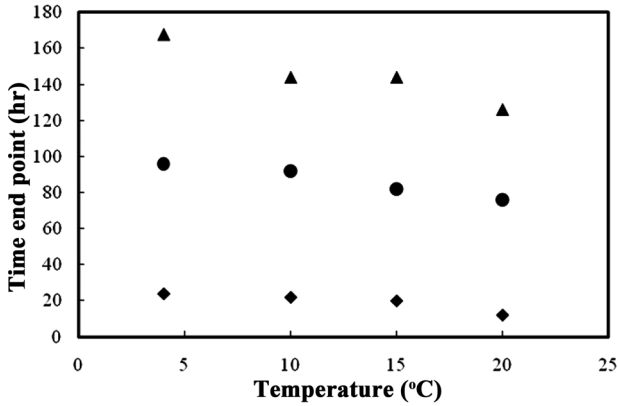


Fig. 1. The end points of the C1-type (◆), C4-type (●), and C7-type (▲) TTIs stored at different temperatures.

4일, C-7 TTI는 7일 만에 종말점에 도달하도록 설계되어 있다. 하지만 쇠고기는 저장이나 유통과정 중 4°C가 유지되지 않고 적정 온도 이상의 다양한 온도에 노출될 수 있다. 따라서 이 C-type의 TTI가 4°C 이상의 다른 온도에 노출되었을 때, 종말점에 도달하는 시간이 제시되지 않아 다른 온도에서 종말점에 도달하는 시간을 확인하기 위해 20°C, 15°C, 10°C 및 4°C, 총 4개의 steady state 조건에 보관하면서 각각 종말점에 도달하는 시간을 조사하였다.

Fig. 1과 같이 4°C에서 보관 시 3 종류의 TTI가 정해진 시간에 종말점에 도달함을 확인할 수 있었으며 온도가 증가할수록 종말점에 도달하는 시간이 감소하였다. 10°C에 보관한 경우 C-1은 약 22시간, C-4는 92시간, C-7는 150시간 후에 종말점에 도달하였다. 15°C에 보관한 경우 C-1은 약 20시간, C-4는 82시간, C-7는 144시간 후에 종말점에 도달하였다. 20°C에서 보관하였을 때는 C-1은 10시간, C-4는 74시간, C-7은 126시간에 종말점에 도달하였다. 이러한 결과는 온도가 증가함에 따라 효소의 활성이 증가하여 종말점에 도달하는 시간이 단축되기 때문인 것으로 보인다.

**VBN 함량과 쇠고기의 품질 변화**

저장 중의 쇠고기는 내재 효소와 미생물의 작용으로 인하여 육단백질이 저분자 무기질소 화합물인 펩타이드와 아미노산으로 분해되어 VBN함량은 상승한다(Al-Masri et al., 2007). 일반적으로 VBN 함량이 17-18 mg% 이상일 때 관능적으로 쇠고기가 부패한 것으로 간주한다(Kim et al., 1972). 식품공전(2002)에서도 포장육의 경우 VBN 함량을 20 mg% 이하로 규정하고 있다.

C-type의 TTI를 쇠고기의 저장 중 품질변화 확인에 사용하기 위해 다양한 온도에서 쇠고기를 보관하면서 쇠고기의 대표적 품질지표인 VBN 함량을 시간 별로 측정하였다. 분쇄한 쇠고기 5g을 각각의 Falcon tube에 넣은 다음, 25°C, 20°C, 15°C, 10°C, 4°C로 설정된 항온 배양기에 저장하면

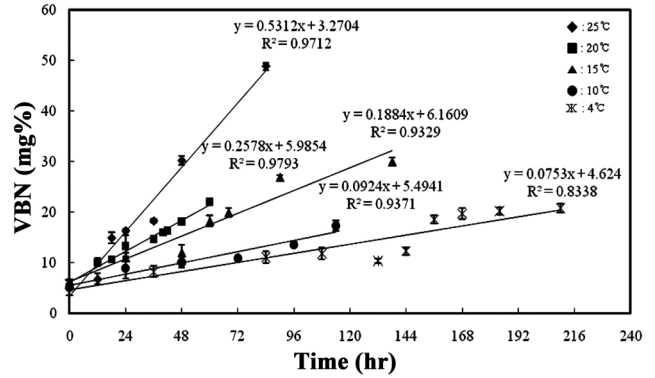


Fig. 2. Plots of the VBN contents of ground beef stored at different temperatures.

서 일정 시간 간격으로 꺼내어 VBN 함량을 측정하면서 동시에 관능적으로 부패 냄새를 확인하였다.

쇠고기의 저장 온도가 25°C, 20°C, 15°C, 10°C, 4°C의 경우 VBN 함량이 18 mg% 이상 검출된 시간은 각각 24, 48, 60, 114, 168시간이었다(Fig. 2). 온도가 증가할수록 쇠고기가 부패하는데 소요되는 시간이 급속히 단축됨을 알 수 있었으며 4°C의 경우 7일, 25°C의 경우 하루만 지나도 부패하였다.

앞서 언급한 세 종류의 C-type TTI들은, 4°C에서 C-7 type을 제외하고는 실험한 총 5개 온도 구간에서 종말점인 적색에 도달한 시간이 VBN 함량의 측정을 통한 쇠고기의 부패 소요시간과 일치하지 않았다. 따라서 C-type TTI 기존의 구성분 형태로는 TTI의 종말점 색 변화와 쇠고기의 부패 시점을 일치시킬 수 없으므로 구성분의 양적인 변형을 통하여 TTI를 재구성하고 이를 쇠고기의 품질변화 지시계로 이용하고자 하였다.

**온도별 쇠고기의 부패를 나타내는 맞춤형 TTI의 구성**

Giannakourou et al.(2005)은 시간-온도 이력에 따른 TTI의 색 변화는 색차계를 이용한 측정이나 가시적인 색 변화를 6등급으로 나누어 측정한다고 보고하였다. 본 연구에서는 TTI의 색 변화를 총 5등급으로 하여 I(Green), II(Yellowish-green), III(Yellowish-brown), IV(Brown), V(Red)로 구분하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 시간-온도이력에 따른 TTI의 색 변화는 식품이 안전함을 나타내는 등급 녹색에서 식품이 부패되었음을 알리는 등급 종말점 적색까지 5단계로 나타내었다.

시간-온도이력에 따른 쇠고기의 품질변화와 TTI의 색 변화가 일치하는 TTI 지시계 구성을 위해 4°C에서 1일 만에 종말점에 도달하는 C-1 TTI를 이용하였다. C-1 TTI는 C-4와 C-7 TTI보다 반응속도가 빠르므로 4°C보다 높은 온도 조건에서 반응시킬 때 효소의 양을 줄여가며 사용이 가능할 것으로 예상하여 C-1 TTI에 들어 있는 효소와 기질을

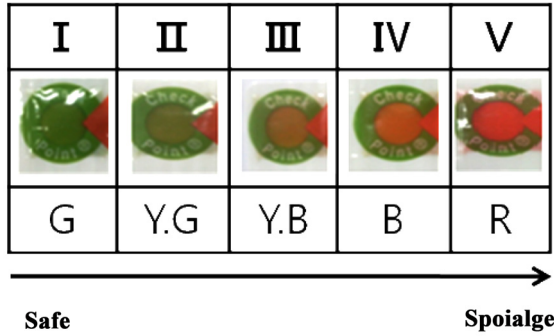


Fig. 3. The grade and the color change process of enzymatic C-type TTI. G, green; Y.G, yellowish-green; Y.B, yellowish-brown; B, brown; R, red.

해체하여 사용하였다.

총 4개의 온도 조건인 10, 15, 20, 25°C에서 쇠고기의 부패 시점에 TTI의 색이 종말점에 도달할 수 있도록 다양하게 효소와 기질의 양에 변화를 주었다. 먼저 C-1 TTI의 효소 65 µL와 기질 140 µL를 사용하여 변형시킨 CM-1 지시계는 25°C와 20°C에 보관된 쇠고기의 VBN 함량이 각각 부패 시점인 24시간과 48시간에 도달하였을 때 색 변화가 등급인 적색으로 변하여 TTI 색 변화와 쇠고기의 부패 시점이 일치하는 것을 확인하였다(Fig. 4와 Fig. 5). 또한 C-1 TTI의 효소 60 µL와 기질 140 µL를 사용하여 변형시킨 CM-2 지시계는 Fig. 6에서 보는 것과 같이 15°C에서 종말점 색 변화가 쇠고기의 부패 시점인 60시간과 일치하였다.

한편 10°C의 경우는 다양하게 효소의 양을 감소시켜 실험을 진행하였지만, VBN 함량으로 결정된 쇠고기의 부패 시점인 114시간 정도에 TTI의 색 변화가 종말점인 등급에 도달할 수 있는 조건을 찾을 수 없었다. 이는 효소의 양을 감소시키면서 변형된 TTI를 구성하였을 때, 효소의 활성이 저해를 받거나 효소농도가 낮아 기질과의 반응이 제한적인 것으로 추정된다. 일반적으로 효소형 TTI의 경우 효소, 기

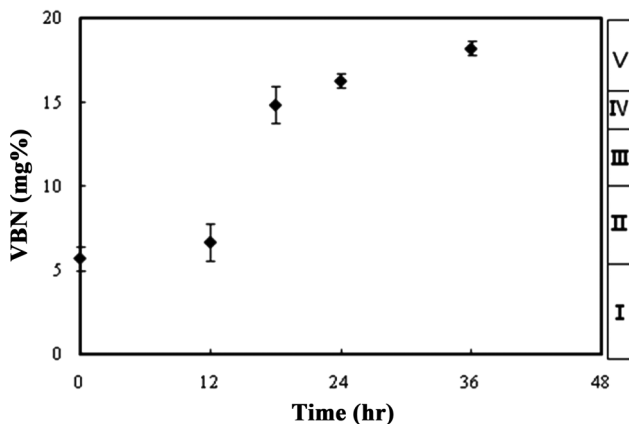


Fig. 4. VBN values of ground beef and color changes of the modified CM-1 TTI stored at 25°C.

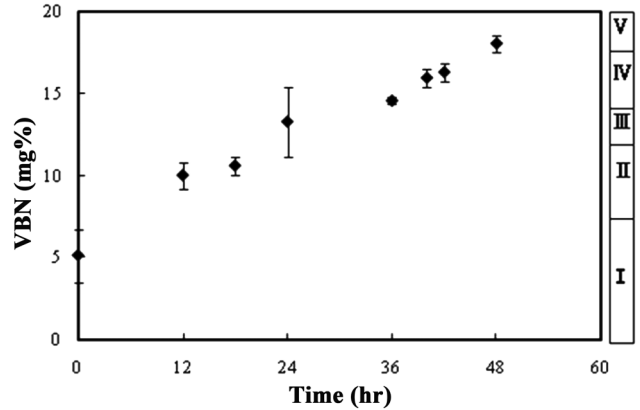


Fig. 5. VBN values of ground beef and color changes of the modified CM-1 TTI stored at 20°C.

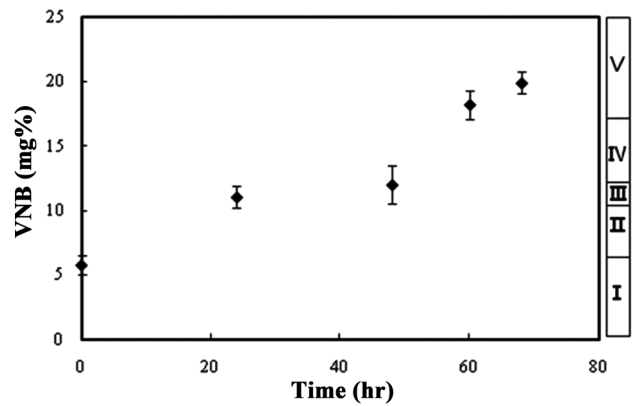


Fig. 6. VBN values of ground beef and color changes of the modified CM-2 TTI stored at 15°C.

질, 발색지시약 이외에도 안정제나 동결방지제가 포함되어 효소의 활성을 유지시키는 것으로 알려져 있다(Guiavarc'h et al., 2004, Park et al., 1994).

본 실험을 통해서 효소와 기질량 조절을 통해 변형된 TTI 지시계는 일부 온도에 보관된 쇠고기의 품질변화를 나타낼 수 있었으나 다른 온도에서는 품질변화를 일치시킬 수 없었다. 이는 일반적으로 상용화된 TTI가 특정 식품에 대해 다양한 온도 범위에서 정확한 품질변화를 나타내는데 한계가 있다는 것을 보여준다. 따라서 시판되는 TTI의 현장적용을 위해서는 보다 많은 연구를 통해 특정 식품의 품질변화를 다양한 온도에서 나타낼 수 있는 맞춤형 TTI 지시계의 개발이 필요할 것으로 보인다.

### 요 약

시판되는 효소형 TTI를 이용하여 다양한 온도에서 보관 중인 간 쇠고기의 부패 확인이 가능한지 조사하였다. 쇠고기의 부패 확인 지표로는 volatile basic nitrogen(VBN)을

이용하였다. 실험 온도 4, 10, 15, 20 및 25°C에서 쇠고기가 부패하는데 소요된 시간은 각각 168, 114, 60, 48 및 24시간이었다. 상기 조건에서 쇠고기의 품질변화는 본 실험에 사용한 3 종류의 C-type TTI(C-1, C-4, 및 C-7)의 반응 종말점들과 일치하지 않았다. TTI의 반응을 쇠고기의 품질변화에 일치시키기 위해 C-1 TTI로부터 효소와 기질 성분을 추출하여 Eppendorf tube에서 서로 다른 양으로 혼합하여 변형된 TTI를 구성하였다. 변형된 CM-1 TTI의 반응은 20°C와 25°C에서 쇠고기의 품질변화와 매우 유사하였으나 다른 온도에서는 일치하지 않았다. 변형된 CM-2 TTI의 반응은 15°C에서만 쇠고기의 품질변화와 일치하였다. 따라서 TTI를 특정한 식품의 품질변화 지시계로 사용하기 위해서는 식품의 부패와 TTI 반응에 대한 체계적인 kinetics 연구들이 필요할 것으로 보인다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부에서 주관하는 농림기술개발연구과제의 지원으로 수행하였으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Agerhem H, Nilsson, HJ. 1981. Substrate composition and use thereof. US patent 4,284,719.
- Al-Masri MR, Al-Bachir M. 2007. Microbial load, acidity, lipid oxidation and volatile basic nitrogen of irradiated fish and meat-bone meals. *Bioresource Tech.* 98: 1163-1166.
- Bin FU, Taoukis PS, Labuza TP. 1991. Predictive microbiology for monitoring spoilage of dairy products with time-temperature integrators. *J. Food Sci.* 56: 1209-1215.
- Blixt KG, Tornmarck SIA, Juhlin R, Salenstedt KR, Tiru M. 1977. Enzymatic substrate composition adsorbed on a carrier. US patent 4,043,871.
- Brody AL. 2001. What's active about intelligent packaging? *Food Technol.* 5(6): 75-78.
- Byeon KE, An SR, Shim SD, Lee JY, Hong KW, Min SG, Lee SJ. 2009. Investigation on beef quality indicator of off-flavor development during storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 29: 325-333.
- Chen JH, Zall RR. 1987. Packaged milk, cream and cottage cheese can be monitored for freshness using polymer indicator labels. *Dairy Food Sanit.* 7: 402-404.
- Claeys WL, Indrawati AM, Van L, Hendrickx ME. 2003. Review : Are intrinsic TTIs for thermally processed milk applicable for high-pressure processing assessment? *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.* 4: 1-14.
- Conway EJ. 1948. Microdiffusion analysis and volumetric error. *Nature* 161: 583
- Dolan KD, Singh RP, Wells JH. 1985. Evaluation of time-temperature related quality changes in ice cream during storage. *J. Food Process. Pres.* 9: 253-271.
- Fields SC, Prusik T. 1983. Time-temperature monitoring using solid-state chemical indicators. IIR Commission C2 preprints, 16th Intl. Cong. Refrig. pp. 630-640.
- Giannakourou MC, Koutsoumanis K, Nychas GJ, Taoukis PS. 2005. Field evaluation of the application of time temperature integrators for monitoring fish quality in the chill chain. *Int. J. Food Microbiol.* 102: 323-336.
- Giannakourou MC, Taoukis PS. 2002. Systematic application of time temperature integrators as tools for control of frozen vegetable quality. *J. Food Sci.* 67: 2221-2228.
- Grisius R, Wells JH, Barrett EL, Singh RP. 1987. Correlation of time temperature indicator response with microbial growth in pasteurized milk. *J. Food Process. Pres.* 11: 309-324.
- Guivarç'h Y, Van LA, Zuber F, Hendrickx ME. 2004. Development characterization and use of a high-performance enzymatic time-temperature integrator for the control of sterilization process impacts. *Biotechnol. Bioeng.* 88: 15-25.
- Kerry JP, O'Grady MN, Hogan SA. 2006. Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products : A review. *Meat Sci.* 74: 113-130.
- Kim YJ, Park YK, Kong UY. 1972. Studies on the preservation of raw beef by gamma radiation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 4: 95-99.
- Ko MS, Yang JB. 2001. Effects of wrap and vacuum packaging on shelf life of chilled pork. *Korean J. Food Nutr.* 14: 255-262.
- KFDA. Food code. 2002. Korea Food and Drug Administration. Seoul, Korea, pp. 5-11-4.
- Labuza TP, Fu B. 1995. Use of time temperature integrators, predictive microbiology and related technologies for assessing the extent and impact of temperature abuse on meat and poultry products. *J. Food Safety* 15: 201-217.
- Lee JM, Lee SJ. 2008. Kinetic modeling for predicting the qualities of beef and color of enzyme time-temperature integrator during storage. *Food Eng. Prog.* 12: 241-246.
- Manske WJ. 1983. The application of controlled fluid migration to temperature limit and time temperature integrators. IIR Commission C2 preprints, 16th Intl. Cong. Refrig. pp. 632-635.
- Mistry V, Kosikowski FV. 1983. Use of time-temperature indicators as quality control devices for market milk. *J. Food Protect.* 46: 52-57.
- Park KH, Yoon SH, Lee CH, Kim DY, Kim JW. 1994. Time-temperature indicator using phospholipid-phospholipase system and application to storage of frozen pork. *J. Food Sci.* 59: 490-493.
- Rice J. 1989. Keeping time-temperature tabs on refrigerated foods. *Food Processing* 50: 149-158.
- Rodriguez N, Zaritzky NE. 1983. Development of time temperature integrator indicator for frozen beef. *J. Food Sci.* 48: 1526-1531.
- Shellhammer TH, Singh RP. 1991. Monitoring chemical and microbial changes of cottage cheese using a full history time-temperature indicator. *J. Food Sci.* 56: 402-410
- Singh RP, Wells JH. 1985. Use of time-temperature indicators to monitor quality of frozen hamburger. *Food Technol.* 39(12): 42-50.
- Singh RP, Wells JH. 1987. Monitoring quality changes in stored frozen strawberries with time-temperature indicators. *Int. J. Refrig.* 10: 296-300.
- Taoukis PS. 2001. Modelling the use of time-temperature indica-

- tors in distribution and stock rotation. In : Tijkskens LMM., Hertog MLATM, Nicolai BM (ed.), Food process modelling. CRC Press, Inc., Washington DC, USA, pp. 402-432.
- Taoukis PS, Labuza TP. 1989a. Applicability of time temperature indicators as shelf life monitors of food products. *J. Food Sci.* 54: 783-788.
- Taoukis PS, Labuza TP. 1989b. Reliability of time temperature indicators as food quality monitors under non isothermal conditions. *J. Food Sci.* 54: 789-792.
- Taoukis PS, Koutsoumanis K, Nychas GJ. 1999. Use of time-temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 53: 21-31.
- Tinker JH, Slavin JW, Learson RJ, Empola VG. 1985. Evaluation of automated time-temperature monitoring system in measuring the freshness of chilled fish. IIF-IIR Commissions C2, D3 4: 286-290.
- Tucker GS, Brown HM, Fryer PJ, Cox PW, Poole FL, Lee HS. 2007. A sterilisation time-temperature integrator based on amylase from the hyperthermophilic organism *Pyrococcus furiosus*. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.* 8: 63-72.