



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**



**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
Π.Δ.Ε.**

**«Επίδραση μεταβολιτών προβιοτικών καλλιιεργειών του είδους
Bifidobacterium lactis στη μικροβιακή αύξηση και στον εμπορικό
χρόνο ζωής συσκευασμένων μυδιών στους 4°C»**

Μαρία Κωσταρά

ΒΟΛΟΣ, 2025

«Επίδραση μεταβολιτών προβιοτικών καλλιεργειών του είδους *Bifidobacterium lactis* στη μικροβιακή αύξηση και στον εμπορικό χρόνο ζωής συσκευασμένων μυδιών στους 4°C»

«Effect of metabolites from the probiotic microorganism *Bifidobacterium lactis* on the microbial growth and shelf-life of packed mussels stored at 4°C»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1) **Ιωάννης Σ. Μποζιάρης**, Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπων***.
- 2) **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Διατροφή ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.
- 3) **Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη**, Επίκουρος Καθηγήτρια, Μοριακή Μικροβιολογία και Ποιότητα Αλιευτικών Προϊόντων – Τροφίμων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου για τη διεκπεραίωση της παρούσας Πτυχιακής Εργασίας, στον επιβλέποντα Καθηγητή και Διευθυντή του εργαστηρίου Υγιεινής και Συντήρησης Ιχθυηρών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας Ιωάννη Μποζιάρη για την άψογη συνεργασία, την επιστημονική καθοδήγηση και την πολύτιμη συμβολή του στην ολοκλήρωση της καθώς και στα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής τον Αναπληρωτή Καθηγητή Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη και την Επίκουρο Καθηγήτρια Μοριακής Μικροβιολογίας και Ποιότητας Αλιευτικών Προϊόντων – Τροφίμων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας Φωτεινή Παρλαπάνη για τις πολύτιμες υποδείξεις τους. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Υποψήφιους Διδάκτορες Αθανάσιο Τσιαρτσάφη και Εβελίνα Καραμάνη για τη σημαντική βοήθεια που μου παρείχαν στο πειραματικό μέρος της εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία έγινε διερεύνηση της επίδρασης μεταβολιτών (post-biotics) που προέρχονταν από τον προβιοτικό μικροοργανισμό *Bifidobacterium lactis*, στην μικροβιακή αύξηση και την επιμήκυνση του εμπορικού χρόνου ζωής μυδιών συσκευασμένων σε νερό και αποθηκευμένων υπό ψύξη στους 4°C. Για την επίτευξη του παραπάνω σκοπού, πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες μεταχειρίσεις: (Α) 150ml νερό και ψύχα μυδιών, (Β) 75ml νερό, 75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του *Bifidobacterium lactis* και ψύχα μυδιών, (Γ) 150ml αποστειρωμένο νερό και ψύχα μυδιών και (Δ) 75ml αποστειρωμένο νερό, 75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του *Bifidobacterium lactis* και ψύχα μυδιών. Σύμφωνα με την οργανοληπτική αξιολόγηση, τα μύδια των μεταχειρίσεων που περιείχαν μεταβολίτες (Β, Δ) παρουσίασαν μεγαλύτερο εμπορικό χρόνο ζωής σε σχέση με αυτά των μεταχειρίσεων χωρίς μεταβολίτες (Α, Γ) (ο εμπορικός χρόνος ζωής για τα μύδια των μεταχειρίσεων Β, Δ ήταν 12 ημέρες ενώ των Α, Γ ήταν 8 ημέρες). Όσον αφορά τους μικροβιακούς πληθυσμούς, αρχικά, η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) την ημέρα της οργανοληπτικής απόρριψης (8^η ημέρα) για τις μεταχειρίσεις Α και Γ έφτασε στα επίπεδα των 6,24 και 4,89 log cfu/g αντίστοιχα και για τα μύδια των μεταχειρίσεων Β και Δ τη 12^η ημέρα στα επίπεδα 4,23 και 3,56 log cfu/g αντίστοιχα. Τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* spp. και τα H₂S βακτήρια (συμπεριλαμβανομένου και του *Shewanella* spp) αποτέλεσαν τους κυρίαρχους μικροοργανισμούς στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής στις περιπτώσεις των μεταχειρίσεων-μαρτύρων (Α και Γ). Αντίθετα στις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες (Β και Δ) τα *Pseudomonas* spp. και τα H₂S βακτήρια δεν αποτέλεσαν τους κυρίαρχους μικροοργανισμούς στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των δειγμάτων. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρέθηκαν να είναι κυρίαρχα σε όλες τις μεταχειρίσεις στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των δειγμάτων, με το μικρότερο επίπεδο να καταγράφεται στη μεταχείριση Δ (12^η ημέρα:

4,91 log cfu/g). Τα βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae, βρέθηκαν σε αρκετά χαμηλότερους πληθυσμούς την ημέρα της οργανοληπτικής απόρριψης των δειγμάτων με τα μικρότερα επίπεδα των 2,0 log cfu/g. να καταγράφονται στις μεταχειρίσεις Β και Δ.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας προπτυχιακής εργασίας, η προσθήκη μεταβολιτών του προβιοτικού *Bifidobacterium lactis* φαίνεται να επιβραδύνει την ανάπτυξη των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και ως εκ τούτου επιμήκυνε τον εμπορικό χρόνο ζωής των μυδιών στους 4°C κατά 4 ημέρες.

Λέξεις-κλειδιά: Προβιοτικά, μεταβολίτες, *Bifidobacterium lactis*, Εμπορικός χρόνος ζωής, Αλλοιωγόνοι Μικροοργανισμοί, μύδια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	iv
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	v
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	1
1.1.1 Μύδια.....	1
1.1.2 Παραγωγή μυδιών.....	8
1.1.3 Η θρεπτική αξία των μυδιών.....	18
1.1.4 Προϊόντα μυδιών στην Ελλάδα.....	19
1.2. ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΙΧΘΥΗΡΩΝ- ΟΣΤΡΑΚΟΕΙΔΩΝ – ΜΥΔΙΩΝ.....	20
1.2.1 Ειδικοί αλλιογόννοι μικροοργανισμοί (EAM-SSOs).....	20
1.2.2 Αλλιογόννοι μικροοργανισμοί σε νωπά αλιεύματα.....	21
1.2.3 Ειδικοί αλλιογόννοι μικροοργανισμοί σε αποθηκευμένα αλιεύματα.....	25
1.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ.....	28
1.3.1 Ψύξη.....	30
1.3.2 Αντιμικροβιακές ουσίες (Φυσικές - Εκχυλίσματα).....	36
1.3.2.1 Αιθέρια έλαια και φυτικά εκχυλίσματα.....	36
1.3.2.2 Οργανικά οξέα.....	39
1.3.2.3 Βακτηριοσίνες.....	40
1.4 Σκοπός Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας.....	43
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	44
2.1 Προέλευση μυδιών.....	44
2.2 Θρεπτικά υποστρώματα.....	45
2.3 Προέλευση, παραγωγή και λήψη των μεταβολιτών.....	47
2.4 Παρασκευή συσκευασμένων μυδιών.....	47
2.5 Εκτίμηση εμπορικού χρόνου ζωής με οργανοληπτική αξιολόγηση.....	48
2.6 Μικροβιολογική ανάλυση.....	48
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	50
3.1 Εμπορικός χρόνος ζωής.....	50
3.2 Μικροβιακές μεταβολές.....	52
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	63
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	66

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	67
ABSTRACT	78

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: δεξιά ανοιγμένες θυρίδες του μυδιού, αριστερά εξωτερικά το κέλυφος του μυδιού (Τσιαρτσάφης,2022).....	4
Εικόνα 2: Σύστημα καλλιέργειας σε πασσάλους “bouchots” σε ακτές της Γαλλίας.....	6
Εικόνα 3: Ποσοστό εξαγωγών των κύριων κατηγοριών ειδών υδρόβιων οργανισμών ανά αξία, 2022 (FAO, 2024).....	10
Εικόνα 4: Παγκόσμια παραγωγή αλιευμάτων το έτος 2022 (FAO, 2024).	11
Εικόνα 5: Παραγωγή υδατοκαλλιέργειών στην Ε.Ε. το 2022 (τόνοι ζώντος βάρους) (Eurostat. 2022). ...	11
Εικόνα 6: Κύρια εκτρεφόμενα είδη σε υδατοκαλλιέργειες (% Ε.Ε., το 2022) (Eurostat.2022).	12
Εικόνα 7: Παραγωγή υδατοκαλλιέργειών και αξία (2010=100, Ε.Ε. και Νορβηγία, 2010-2022) (Eurostat, 2022).....	13
Εικόνα 8: Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX για τις 4 μεταχειρίσεις κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.	52
Εικόνα 9: Πληθυσμιακές μεταβολές των <i>Pseudomonas spp.</i> για τις 4 μεταχειρίσεις κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.....	55
Εικόνα 10: Πληθυσμιακές μεταβολές των υδροθειοπαραγωγών βακτηρίων, για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.	57
Εικόνα 11: Πληθυσμιακές μεταβολές των οξυγαλακτικών βακτηρίων, για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.	59
Εικόνα 12: Πληθυσμιακές μεταβολές των βακτηρίων Enterobacteriaceae, για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.	61

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Παγκόσμια παραγωγή μαλακίων υδατοκαλλιέργειας 2018-2022 (FAO, 2024).	9
Πίνακας 2: Ποσότητα και αξία εκτρεφόμενων-καλλιεργούμενων οστρακοειδών (δίβαλβα μαλάκια), 2021-2022 (ΕΣΥΕ,2022).	15
Πίνακας 3: Διάρθρωση των εγκαταστάσεων μονάδων υδατοκαλλιέργειών κατά εκτρεφόμενη ομάδα ταξινόμησης ειδών, μέθοδο καλλιέργειας και είδος νερού 2022 (ΕΣΥΕ, 2022).....	16
Πίνακας 4: Ποσότητα και αξία των εκτρεφόμενων ή καλλιεργούμενων ειδών σε σύνολο χώρας 2022 (ΕΣΥΕ, 2022)/.....	17
Πίνακας 5: Εκτρεφόμενα ή καλλιεργούμενα είδη κατά μέθοδο καλλιέργειας (ΕΣΥΕ, 2022).....	17
Πίνακας 6: χρόνος απόρριψης μυδιών αποθηκευμένων στους 4°C σύμφωνα με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους 1,2) μάρτυρες, 3) νερό δικτύου και μεταβολίτες από το προβιοτικό <i>Bifidobacterium lactis</i> , 4) νερό αποστειρωμένο και μεταβολίτες από το προβιοτικό <i>Bifidobacterium lactis</i> ,.	50

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ

Τα μαλάκια (*MOLLUSCA*) είναι ζωικοί οργανισμοί, οι οποίοι φέρουν μαλακό σώμα και τα είδη τους ξεπερνούν τα 45.000. Τα είδη που απαντώνται κυρίως στο εμπόριο είναι τα: μύδια (*Mytilidae*), στρείδια (*Ostreidae*), χτένια (*Pectinidae*), κυδώνια (*Cardidae*), καλαμάρια (*Loliginidae*), χταπόδια (*Octapodidae*), αχιβάδες (*Venus*) και γαρίδες (*Penaeidae*) (Βαρελτζής, 1999). Από τις διάφορες κλάσεις των μαλακίων η κλάση με το μεγαλύτερο ενδιαφέρον για τις υδατοκαλλιέργειες είναι η κλάση των διθύρων. Τα δίθυρα μαλάκια αποτελούν ιδανικό παράδειγμα εκτροφής θαλάσσιων οργανισμών διότι είναι: διηθηματοφάγοι οργανισμοί (τρέφονται από το φυτοπλαγκτόν του θαλάσσιου νερού), αναπτύσσονται ταχέα και η εκτροφή τους απαιτεί ελάχιστη φροντίδα. Η καλλιέργεια των δίθυρων μαλακίων πραγματοποιείται με τη συλλογή του γόνου από το φυσικό περιβάλλον τους και την εναπόθεσή του στο κατάλληλο μέρος (δηλαδή σε υφάλμυρα ύδατα σε εκβολές ποταμών ή σε αλμυρά ύδατα σε θαλάσσιες περιοχές). Τα δίθυρα καταναλώνουν τροφή από το φυσικό τους περιβάλλον και διατίθενται όταν το μέγεθός τους είναι το κατάλληλο (Στάικου, 2015).

1.1.1 Μύδια

Οι παράγοντες που επιτρέπουν την αύξηση και εξάπλωση των πληθυσμών των μυδιών είναι οι υψηλοί ρυθμοί αναπαραγωγής τους, η μεγάλη ποικιλία ενδιαιτημάτων που μπορεί να αναπτυχθούν, σε μεγάλη θερμοκρασιακή ποικιλία και αλατότητα και η ευκολία συλλογής της τροφής τους από το θαλάσσιο περιβάλλον (φυτοπλαγκτόν και οργανική ύλη) χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση (Στάικου, 2015).

Τα κύρια είδη μυδιών και οι περιοχές παραγωγής παγκοσμίως (Duncan, 2003) είναι:

- το μπλε ή κοινό μύδι *Mytilus edulis* (Linnaeus 1758), το οποίο απαντάται στην εύκρατη ζώνη, αλλά και σε πιο ψυχρά νερά στο Βόρειο (ευρωπαϊκές ακτές: Ρωσία, Ισλανδία έως τις ακτές του Ατλαντικού και της Νότιας Γαλλίας και ανατολικές ακτές της βόρειας Αμερικής) και Νότιο ημισφαίριο (Αργεντινή, Χιλή) και
- το μεσογειακό μύδι (mediterranean mussel) *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819), το οποίο αναπτύσσεται στην εύκρατη ζώνη, αλλά και σε θερμότερα νερά. Στην Ευρώπη, απαντάται από τις ακτές της Μεγάλης Βρετανίας έως της Ισπανίας και στις ακτές όλης της Μεσογείου, όπως και σε περιοχές του βόρειου (Καλιφόρνια, Κίνα, Ιαπωνία και Χόνγκ Κονγκ) και νότιου ημισφαιρίου (δυτική Αυστραλία, Τασμανία, Νέα Ζηλανδία και νότια Αφρική). Αποτελεί το αποκλειστικό είδος καλλιεργούμενου μυδιού στην Ελλάδα.

Για αρκετά χρόνια, τα *M. edulis* και *M. galloprovincialis* θεωρούνταν ίδιο είδος (Στάικου, 2015). Εκτός από τα είδη του γένους *Mytilus*, διάφορα είδη του γένους *Perna*, με τροπική και υποτροπική κατανομή, καλλιεργούνται παγκοσμίως επιτυχώς.

Άλλα είδη περιλαμβάνουν τα:

- *M. chilensis* ή χιλιανό (Hupé 1854) με τόπο παραγωγής τη Χιλή,
- *Perna viridis* (Linnaeus 1758) ή πράσινο σε Κορέα, Κίνα, Ιαπωνία και στην Ινδία,
- *P. perna* (Linnaeus 1758) ή νοτιοαμερικάνικο μύδι των βράχων στη Βραζιλία, στη Βενεζουέλα και στη νότια Αφρική και το
- *P. canaliculus* (Linnaeus 1758) ή Νεοζηλανδέζικο μύδι στη Ν. Ζηλανδία.

Η συστηματική κατάταξη του μεσογειακού μυδιού (*Mytilus galloprovincialis*) είναι (Vaught, 1989):

Βασίλειο: Metazoa

Φύλο: Mollusca

Κλάση: Bivalvia

Υποκλάση: Pteriomorphia

Τάξη: Mytiloida

Οικογένεια: Mytilidae

Γένος: *Mytilus*

Είδος: *Mytilus galloprovincialis*

1.1.1.1 Ανατομία-Φυσιολογία μυδιών

Το κέλυφος των μυδιών έχει σχήμα επίμηκες, τριγωνικό και στρογγυλεμένο στο πίσω άκρο του (εικ.1) χωρίζεται σε δύο τμήματα, τις θυρίδες, οι οποίες κλείνουν με τη σύσπαση των προσαγωγών μυών ενώ ανοίγουν όταν οι μύες χαλαρώσουν. Οι θυρίδες συγκρατούνται από ελαστικό σύνδεσμο ενώ εξωτερικά έχουν χρώμα μαύρο ή μπλε σκούρο και εσωτερικά είναι λείες και γυαλιστερές (εικ.1) ενώ το ζώο είναι κιτρινωπής απόχρωσης (Μουρατίδου, 2005).



Εικόνα 1: δεξιά ανοιγμένες θυρίδες του μυδιού, αριστερά εξωτερικά το κέλυφος του μυδιού (Τσιαρτσάφης, 2022).

Το σώμα του μυδιού στερείται κεφαλιού και αποτελείται από το πόδι και το σπλαχνικό σάκο, ο οποίος περικλείει διάφορα όργανα όπως: τον πεπτικό σωλήνα, την καρδιά, το ήπαρ, το πάγκρεας, τους γεννητικούς αδένες (Μουρατίδου, 2005) ενώ διαθέτει δίλοβο μανδύα. Ο μανδύας σχηματίζει δύο σίφωνες για την εισαγωγή και εξαγωγή του νερού και η κύρια λειτουργία του είναι ο σχηματισμός του κελύφους (έκκριση ασβεστολιθικών στρωμάτων) (Λαζαρίδου, 1992). Το πόδι τους είναι λίγο ανεπτυγμένο και χρησιμεύει για τη μετακίνηση τους ενώ εδράζουν αδένες που εκκρίνουν νημάτια. Η δέσμη αυτή των νημάτων ονομάζεται «βύσσος» (byssus) με την βοήθεια των οποίων προσκολλώνται σε διάφορα υποστρώματα για τροφή ή για την αποφυγή ανταγωνισμού. Η δημιουργία νέου βύσσου μπορεί να πραγματοποιείται κάθε φορά που το μύδι αποκολλάται από το υπόστρωμα που αναπτύσσεται και προσκολλάται σε άλλο (Λαζαρίδου, 1992). Το στόμα, ο φάρυγγας, ο οισοφάγος, το στομάχι και το έντερο (με κατάληξη την έδρα) αποτελούν το πεπτικό σύστημα (Μουρατίδου 2005, Λαζαρίδου 1992). Το απεκκριτικό σύστημα αποτελείται από ένα ζεύγος μετανεφριδίων, τα οποία είναι συνδεδεμένα με το κυκλοφορικό

σύστημα (Λαζαρίδου, 1992) ενώ το αναπνευστικό αποτελείται από 4 βράγχια που εκτελούν το ρόλο της αναπνοής και της τροφοληψίας.

Τα μύδια είναι διηθηματοφάγοι οργανισμοί, τρέφονται με φυτοπλαγκτόν, το οποίο διηθείται από τα βράγχια από το θαλάσσιο νερό όμως κατακρατούν βακτήρια, σωματίδια, οργανικές ουσίες και υλικά αποδόμησης παίζοντας σημαντικό ρόλο κατά της μόλυνσης και για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται και ως βιολογικοί δείκτες μόλυνσης (bioindicator) ιδιότητα που μπορεί να τα καταστήσει επικίνδυνα, λόγω της συγκέντρωσης παθογόνων μικροοργανισμών και της βιοσυσσώρευσης επικίνδυνων χημικών ουσιών και ρυπαντών (Στάικου, 2015). Η καρδιά αποτελείται από δύο κόλπους και μία κοιλία ενώ το αίμα μεταφέρεται με αορτές από την καρδιά στα διάφορα μέρη του σώματος. Το νευρικό σύστημα αποτελείται από τα εγκεφαλικά γάγγλια (Λαζαρίδου, 1992). Τα μύδια είναι γονοχωριστικοί οργανισμοί, αλλά τα φύλα διακρίνονται μόνο όταν τα μύδια φτάσουν σε γεννητική ωριμότητα από το χρώμα του μανδύα. Τα γεννητικά όργανα σχηματίζουν δύο λοβούς στην περιοχή του ήπατος ή του εντέρου και για τα δύο φύλα. Τα θηλυκά απελευθερώνουν ωάρια, των οποίων η γονιμοποίηση πραγματοποιείται στο θαλάσσιο περιβάλλον από τα σπερματοζωάρια των αρρένων (Μουρατίδου, 2005). Οι τροχοφόρες προνύμφες αναπτύσσονται σε χρονικό διάστημα 1-2 ημερών (εξαρτάται από τη θερμοκρασία του νερού) και όταν βρουν το κατάλληλο υπόστρωμα προσκολλώνται με τη βοήθεια του βύσσου (Στάικου, 2015).

1.1.1.2 Μέθοδοι καλλιέργειας

Καλλιέργεια στον βυθό (on bottom): σε αυτό τον τύπο καλλιέργειας μεταφέρεται ο γόνος από περιοχές με υψηλή πληθυσμιακή πυκνότητα γόνου και έντονο κυματισμό σε περιοχές προστατευμένες, πλησίον των ακτών στη διαπαλιρροιακή ή και την υποπαλιρροιακή ζώνη. Τα μύδια τοποθετούνται σε χαμηλή πυκνότητα με στόχο την επιτάχυνση της αύξησής τους, ώστε να

φθάσουν στο κατάλληλο εμπορεύσιμο μέγεθος. Αυτό το σύστημα χρησιμοποιείται σε ευρωπαϊκές χώρες και κυρίως στην Ολλανδία, στη Γερμανία, στην Ιρλανδία και στη Μ. Βρετανία).

Καλλιέργεια στη στήλη του νερού (Στα μεσόνερα-Off bottom): τα μύδια αναπτύσσονται σε επιφάνειες μακριά από βυθό και με αυτόν τον τρόπο προστατεύονται από τους θηρευτές και εκμεταλλεύονται καλύτερα τα θαλάσσια ρεύματα (για τροφή και οξυγόνο).

Οι συνηθέστεροι μέθοδοι καλλιέργειας, αν και με πολλές παραλλαγές, είναι η καλλιέργεια σε:

α) **πασσάλους (pole)**, που πραγματοποιείται σε ρηχά νερά στη διαπαλιρροιακή ζώνη, έτσι ώστε οι καλλιέργειες να είναι προσβάσιμες κυρίως κατά την άμπωτη. Ξύλινοι (bouchots) (Γαλλία) (εικ.2) ή αλουμινένιοι πάσσαλοι στερεώνονται στο θαλάσσιο βυθό και γύρω τους τυλίγονται σχοινιά συλλογής γόνου ή σωλήνες από δίχτυ γεμάτοι με νεαρά μύδια όπου σε σύντομο διάστημα, βγαίνουν από τους σωλήνες (από τα ανοίγματα) και με τη βοήθεια του βύσσου προσκολλώνται σε ολόκληρη την επιφάνεια του πασσάλου.



Εικόνα 2: Σύστημα καλλιέργειας σε πασσάλους “bouchots” σε ακτές της Γαλλίας.

(<https://life.reserve-baie-aiguillon.fr/en/coastal-areas-of-european-importance>)

β) **σχεδίες (raft)**: είναι σύστημα καλλιέργειας όπου τα μύδια αναπτύσσονται σε σχοινιά που αιωρούνται κάθετα στο νερό από μια πλωτή δομή. Επιτρέπει την καλλιέργεια μεγάλων ποσοτήτων μυδιών σε περιορισμένο χώρο και για αυτόν τον λόγο μπορεί να προκαλέσει περιβαλλοντικά προβλήματα. Το νερό πρέπει να είναι σχετικά βαθύ (μεγαλύτερο από 8 μέτρα), ώστε τα σχοινιά να μην έρχονται σε επαφή με τον βυθό και να αποφεύγονται οι θηρευτές, αλλά και για την καλύτερη αξιοποίηση των θαλάσσιων ρευμάτων για τροφή και για την απομάκρυνση των περιττωμάτων των μυδιών. Η καλλιέργεια σε σχεδίες είναι διαδεδομένη σε περιοχές στα βορειοδυτικά της Ισπανίας (Γαλικία), στην Ιρλανδία, στη Σκωτία και σε άλλες χώρες, όπως η Αυστραλία, η Κίνα, η Χιλή, ο Καναδάς, οι ΗΠΑ, η Ινδία κ.ά. και

γ) **συστήματα μακράς γραμμής (long line)** που μοιάζουν με την καλλιέργεια σε σχεδίες στην αιώρηση των σχοινιών με τα μύδια (αρμαθιές), στο βάθος των νερών της εγκατάστασης (μεγαλύτερο των 8 μέτρων), όμως μπορούν να εγκατασταθούν σε περιοχές με πιο έντονο κυματισμό και ρεύματα. Οι μονάδες καλλιέργειας αποτελούνται από σειρές οριζόντιων σχοινιών που είναι κατασκευασμένα από πολυπροπυλένιο και τα οποία συγκρατούνται με πλωτήρες στην επιφάνεια. Οι αρμαθιές αιωρούνται από τα οριζόντια σχοινιά.

Τα δύο συστήματα εκτροφής που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα είναι: 1) το πασσαλωτό (περιοχή της Χαλάστρας και των εκβολών του ποταμού Λουδία, στην περιοχή της Κεραμωτής Καβάλας και στις εκβολές του Έβρου) σε ρηχά νερά (2-4 μέτρα), με κινητό υπόστρωμα και περιοχές προφυλαγμένες από τον κυματισμό, όπου η μονάδα καλλιέργειας είναι σταθερή, στηρίζεται σε κάθετους πασσάλους (στο βυθό) και σε οριζόντιους που «δένουν» τη φέρουσα υποδομή, για την ανάρτηση των αρμαθιών και 2) το πλωτό σύστημα εκτροφής μακράς γραμμής (Πιερία, Θεσσαλονίκη, Κεραμωτή Καβάλας, Ημαθία) όπου εφαρμόζεται σε βαθιά νερά (βάθος

μεγαλύτερο των 6 m), ανεξάρτητα από τον τύπο του βυθού και αντέχει σε ισχυρότερο κυματισμό από το πασσαλωτό (Στάικου, 2015).

1.1.2 Παραγωγή μυδιών

1.1.2.1 Παραγωγή μυδιών παγκοσμίως

Τα πλέον εμπορεύσιμα είδη δίθυρων μαλακίων είναι τα: στρείδια, κυδώνια, χτένια και μύδια η συντριπτική πλειοψηφία εκ των οποίων εκτρέφονται (Πίνακας 1). Τα μύδια το 2022 κατέλαβαν ποσοστό 10.2 % στην παγκόσμια παραγωγή μαλακίων με παραγωγή 1.927 χιλιάδες τόνους με την πρώτη θέση να καταλαμβάνουν τα στρείδια με ποσοστό 37.4 και παραγωγή 18.911 χιλιάδες τόνους και να ακολουθούν τα κυδώνια και τα χτένια με ποσοστά 23.9 και 10.7 και παραγωγή 4.514 και 2.022 χιλιάδες τόνους αντίστοιχα (Πίνακας 1). Το 2022, οι παγκόσμιες εξαγωγές των δίθυρων μαλακίων ανήλθε συνολικά σε 6,0 δισεκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 3% της αξίας των παγκόσμιων εξαγωγών προϊόντων υδρόβιων οργανισμών. Η Κίνα ήταν ο μεγαλύτερος εξαγωγέας δίθυρων, αντιπροσωπεύοντας περίπου το ένα τέταρτο των εξαγωγών των δίθυρων μαλακίων σε αξία (FAO, 2024).

Οι χώρες με τη μεγαλύτερη ζήτηση για εισαγωγές μαλακίων είναι η Ε.Ε., οι ΗΠΑ, η Κίνα και η Ιαπωνία. Ο κλάδος μετά τον Covid-19 είχε ισχυρή ανάκαμψη το 2021 και το 2022. Οι τιμές των δίθυρων μαλακίων εμφάνισαν αυξητικές τάσεις σε όλες τις μεγάλες αγορές λόγω του πληθωρισμού και της υψηλής ζήτησης.

Πίνακας 1: Παγκόσμια παραγωγή μαλακίων υδατοκαλλιέργειας 2018-2022 (FAO, 2024).

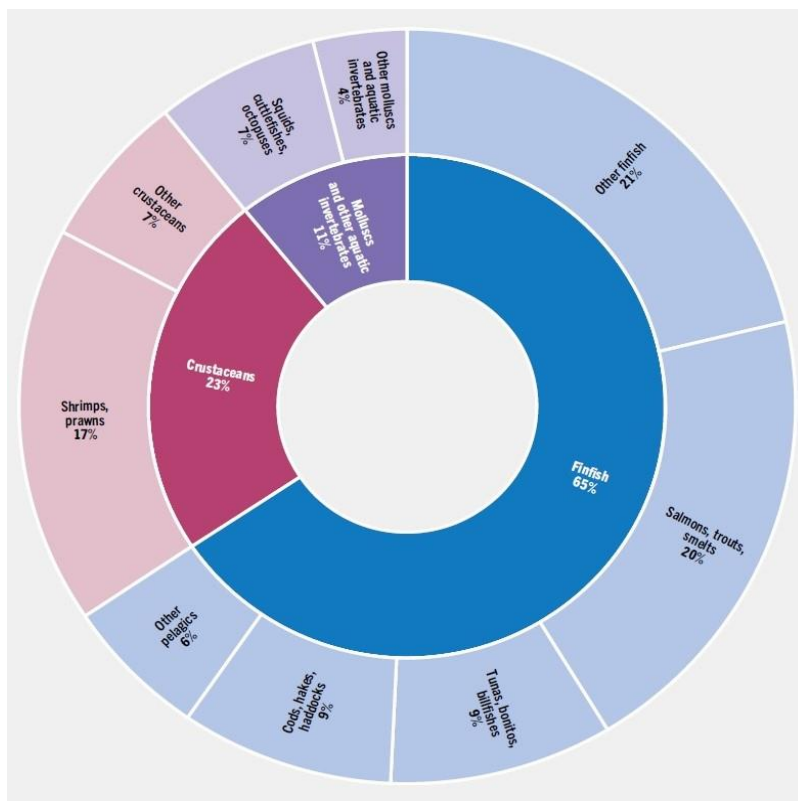
Είδος ή ομάδα ειδών	2018	2019	2020	2021	2022	Ποσοστό στην κατηγορία μαλακίων το 2022 (%)
	χιλιάδες τόνοι, ισοδύναμο ζωντανού βάρους					
Μαλάκια (Molluscs)	17 524	17 407	17 869	18 434	18 911	100
Στρείδια (Oysters)	5 998	6 129	6 270	6 685	7 072	37.4
Κυδώνια (Clams, cockles and arkshells)	4 212	4 100	4 350	4 426	4 514	23.9
Χτένια (Scallops)	2 141	2 055	1 970	2 077	2 022	10.7
Μύδια θαλάσσης (Sea mussels)	2 093	2 032	2 046	2 024	1 927	10.2
Συσπασμένος tagelus ή αχιβάδα Agemaki (Constricted tagelus)	853	869	860	860	848	4.5
Άλλα μαλάκια (Other molluscs)	2 227	2 222	2 373	2 363	2 528	13.4

Συνολικά, τα ιχθυηρά (finfish) κυριάρχησαν στο παγκόσμιο εμπόριο προϊόντων υδρόβιων οργανισμών το 2022 καταλαμβάνοντας 65% της συνολικής αξίας και ακολούθησαν τα καρκινοειδή (crustaceans) με 23% και τα μαλάκια και τα άλλα υδρόβια ασπόνδυλα (molluscs and other aquatic invertebrates) με ποσοστό 11% (εικ.3, FAO, 2024).

1.1.2.2 Παραγωγή μυδιών στην Ευρώπη

Η υδατοκαλλιέργεια στην Ε.Ε. το 2022 απέδωσε περίπου 1,1 εκατομμύρια τόνους υδρόβιων οργανισμών, που αντιστοιχεί στο ένα τέταρτο της συνολικής παραγωγής της ευρωπαϊκής αλιείας αξίας 4,8 δισεκατομμυρίων ευρώ (Eurostat, 2022). Το 2022, τέσσερις χώρες της Ε.Ε. (εικ:5) αντιπροσώπευαν συνολικά περίπου τα δύο τρίτα (67%) της συνολικής παραγωγής των εκτρεφόμενων υδρόβιων οργανισμών: η Ισπανία (25%), η Γαλλία (17%), η Ελλάδα (13%) και η

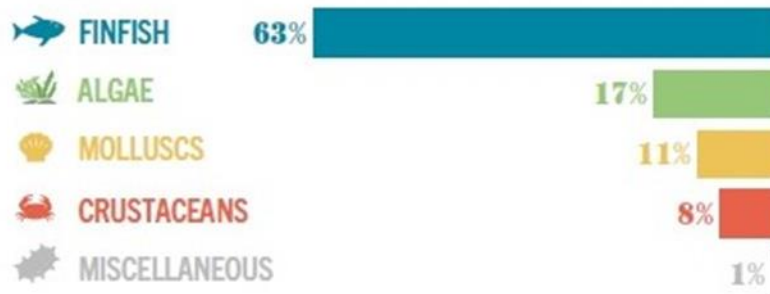
Ιταλία (12%) με την παραγωγή της Νορβηγίας να ξεπερνάει την παραγωγή ολόκληρης της Ε.Ε. με 1,66 εκατομμύρια τόνους (κυρίως σολομό) (Eurostat, 2022). Όσο αφορά την παραγωγή, ο τομέας υδατοκαλλιέργειας της Ε.Ε. ήταν ο δέκατος τρίτος μεγαλύτερος παγκοσμίως, το 2022 (Eurostat, 2022).



Εικόνα 3: Ποσοστό εξαγωγών των κύριων κατηγοριών ειδών υδρόβιων οργανισμών ανά αξία, 2022 (FAO, 2024).

PRODUCTION 2022

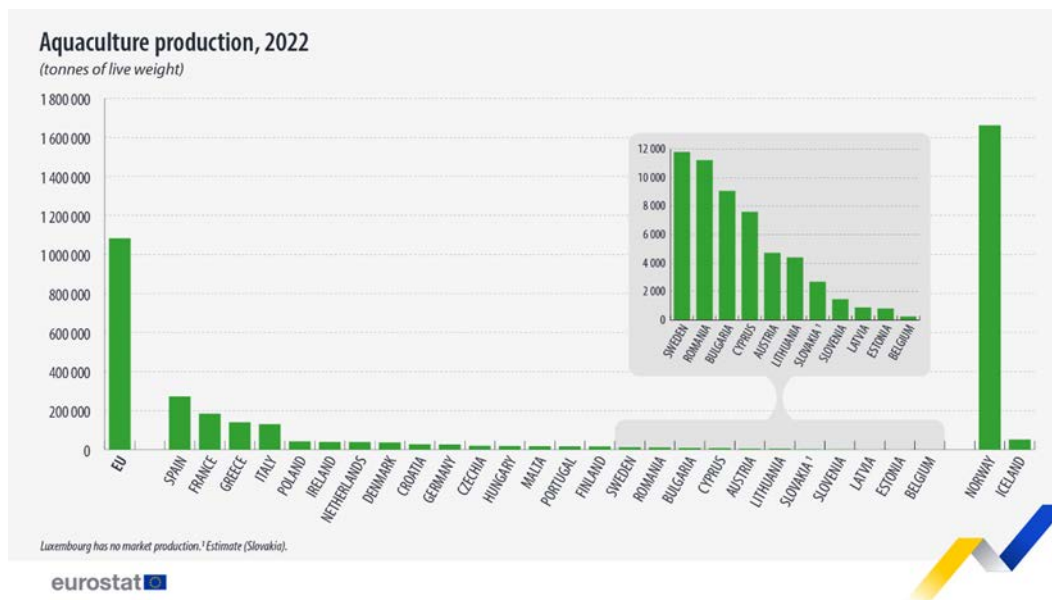
WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE PRODUCTION BY SPECIES GROUP



Εικόνα 4: Παγκόσμια παραγωγή αλιευμάτων το έτος 2022 (FAO, 2024).

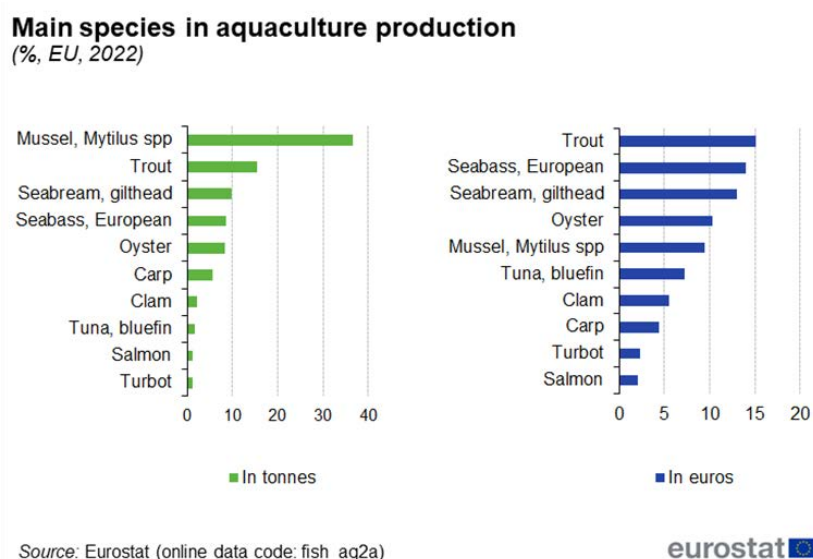
Finfish: Ιχθυηρά, Algae: Φύκη, Molluscs: Μαλάκια, Crustaceans: Καρκινοειδή, Miscellaneous: Διάφορα

Όσον αφορά την παγκόσμια παραγωγή αλιευμάτων και από τις υδατοκαλλιέργειες ανά κατηγορία ειδών το 2022, την πρώτη θέση κατέλαβαν τα ιχθυηρά με ποσοστό 63%, με τα μαλάκια να καταλαμβάνουν την τρίτη θέση με ποσοστό 11% (εικ:4, FAO, 2024).



Εικόνα 5: Παραγωγή υδατοκαλλιεργειών στην Ε.Ε. το 2022 (τόνοι ζώντος βάρους) (Eurostat, 2022).

Η παραγωγή στην Ε.Ε. επικεντρώνεται κυρίως (εικ:6) σε είδη ιχθυερών (πέστροφα, τσιπούρα, λαβράκι, κυπρίνος, τόνος και σολομός) και μαλάκια (μύδια, στρείδια και κυδώνια). Η παραγωγή των μυδιών στις υδατοκαλλιέργειες της Ευρώπης το 2022 ήρθε πρώτη σε κατηγορία βάρους (ton), ενώ στην κατηγορία της αξίας (euros) ήρθε πέμπτη μετά την πέστροφα, το λαβράκι, την τσιπούρα και τα στρείδια.



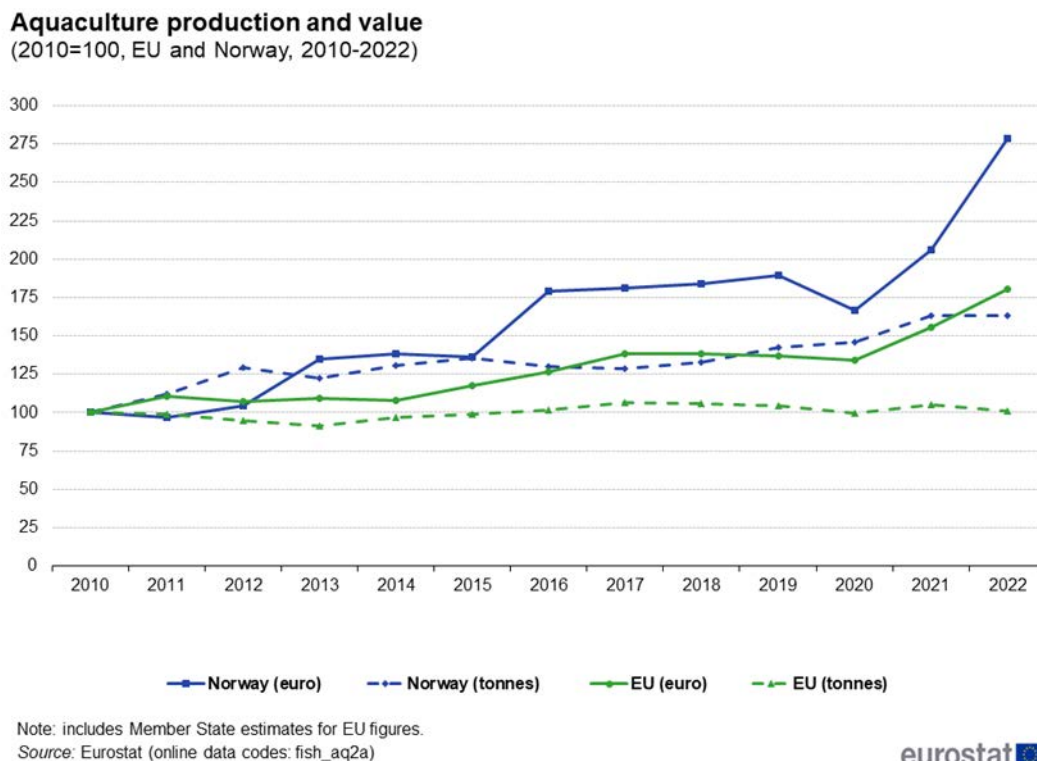
Εικόνα 6: Κύρια εκτρεφόμενα είδη σε υδατοκαλλιέργειες (% Ε.Ε., το 2022) (Eurostat.2022).

Mussel, Mytilus spp-μύδια, Trout- πέστροφα, seabream gilthead-τσιπούρα, seabass –λαβράκι, oyster -στρείδι, carp- κυπρίνος, clam -κυδώνια, tuna bluefin -τόνος, salmon- σολομός, turbot- καλκάνι.

Διαφορετικοί υδρόβιοι οργανισμοί έχουν διαφορετικές τιμές με την πέστροφα (15,1%) και το λαβράκι (14,0%) να έχουν τα υψηλότερα μερίδια αξίας στην Ε.Ε. Για παράδειγμα, οι μέσες τιμές χονδρικής πώλησης για τα μύδια ήταν περίπου 1,1€/kg, για το λαβράκι 7€/kg και για τον τόνο 18€/kg. Μεταξύ των χωρών της Ε.Ε., η Ελλάδα κατέλαβε τη δεύτερη θέση (μετά τη Νορβηγία) στην υψηλότερη αξία παραγωγής υδατοκαλλιέργειας το 2022 (844 εκατομμύρια ευρώ ή το 17,4% του συνόλου της Ε.Ε.) και ακολούθησαν η Ισπανία (803 εκατ. ευρώ), η Γαλλία (791

εκατ. ευρώ) και η Ιταλία (553 εκατ. ευρώ). Η αξία της παραγωγής υδατοκαλλιεργειών στη Νορβηγία το 2022 υπερέβη την αξία ολόκληρης της Ε.Ε. με παραγωγή 1,6 εκατομμύρια τόνους υδρόβιων οργανισμών (σχεδόν αποκλειστικά σολομό), αξίας 10,7 δισεκατομμυρίων ευρώ (Eurostat, 2022).

Οι αυξημένες τιμές ενέργειας είχε συνέπεια υψηλότερο κόστος παραγωγής και υψηλότερες τιμές πώλησης. Ενώ η παραγωγή σε τόνους παρέμεινε η ίδια (ή μειώθηκε σε ορισμένες χώρες), η συνολική αξία παραγωγής σε ευρώ αυξήθηκε (εικ.7).



Εικόνα 7: Παραγωγή υδατοκαλλιεργειών και αξία (2010=100, Ε.Ε. και Νορβηγία, 2010-2022) (Eurostat, 2022).

Γενικά, η υδατοκαλλιέργεια διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις χώρες της Μεσογείου και του Εύξεινου Πόντου, όπου η θαλάσσια αλιεία διεξάγεται γενικά με σκάφη μικρής κλίμακας με μέση χωρητικότητα (χαμηλότερη από τον μέσο όρο της Ε.Ε.). Η δραστηριότητα της

υδατοκαλλιέργειας σε σχέση με τις αντίστοιχες αλιευτικές βιομηχανίες των χωρών: Κύπρου (87,9 % της συνολικής αλιευτικής παραγωγής σε τόνους ζώντος βάρους), Μάλτας (87,7 %), Ρουμανίας (77,9 %), Ελλάδας (68,9 %), Βουλγαρίας (62,0 %) και Ιταλίας (49,5 %) (Eurostat, 2022).

Στον τομέα της μυδοκαλλιέργειας το 2022 η Ισπανία παρήγαγε περίπου 7 στους 10 τόνους εκτρεφόμενων μεσογειακών μυδιών της Ε.Ε. (*Mytilus galloprovincialis*). Τα μπλε μύδια (*Mytilus edulis*) καλλιεργήθηκαν στη βορειοανατολική περιοχή του Ατλαντικού από τη Γαλλία (51 % του συνόλου της Ε.Ε. το 2022), τις Κάτω Χώρες (24%) και την Ιρλανδία (15%). Χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι καλλιέργειας «σε στήλη ύδατος» (Ιρλανδία) και «στο βυθό-on bottom» (Κάτω Χώρες) (Eurostat, 2022).

1.1.2.3 Παραγωγή μυδιών στην Ελλάδα

Η ποσότητα παραγωγής μυδιών στην Ελλάδα παρουσίασε μείωση κατά 20,5% το 2022 σε σχέση με το 2021, αλλά υπήρξε αύξηση στην αξία κατά 20,1% αντίστοιχα. Συγκεκριμένα, το 2022 καλλιεργήθηκαν 10.733,9 τόνοι συνολικής αξίας 5.997,1 χιλ. ευρώ, έναντι 13.508,3 τόνων συνολικής αξίας 4.991,5 χιλ. ευρώ το 2021 (πίνακας 2). Επίσης από τον πίνακα φαίνεται η σημασία που διαδραματίζει η μυδοκαλλιέργεια στην Ελλάδα αφού από τους 10.748,7 τόνους των συνολικών καλλιεργούμενων οστρακοειδών (δίβαλβα μαλάκια) το 2022 οι 10.733,9 τόνοι ήταν μύδια (ποσοστό 99,86%) και μόνο 14,9 τόνοι (ποσοστό 0,14%) ήταν λοιπά οστρακοειδή.

Πίνακας 2: Ποσότητα και αξία εκτρεφόμενων-καλλιεργούμενων οστρακοειδών (δίβαλβα μαλάκια), 2021-2022 (ΕΣΥΕ,2022).

Ποσότητα σε τόνους, αξία σε χιλιάδες ευρώ

	2021		2022		Μεταβολή (%) 2022/2021	
Εκτρεφόμενα- καλλιεργούμενα είδη	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία
Οστρακοειδή (δίβαλβα μαλάκια)	13.539,8	5.072,0	10.748,7	6.080,5	-20,6	19,9
Μύδια	13.508,3	4.991,5	10.733,9	5.997,1	-20,5	20,1
Λοιπά Οστρακοειδή	31,5	80,5	14,9	83,4	-52,9	3,6

Όσον αφορά γενικά την καλλιέργεια μαλακίων στην Ελλάδα (Πίνακας 3), οι περισσότερες εγκαταστάσεις (1824) βρίσκονται σε θαλάσσια νερά με τη μέθοδο καλλιέργειας στα μεσόνερα (Off bottom) και λίγες (14) σε υφάλμυρα νερά με τη μέθοδο καλλιέργειας στα μεσόνερα (Off bottom) και ακόμα λιγότερες (3) σε υφάλμυρα νερά με τη μέθοδο καλλιέργειας στο βυθό (On bottom) ενώ καμία σε γλυκά νερά (ΕΣΥΕ, 2022).

Ειδικότερα η καλλιέργεια μυδιών (πίνακας 4) πραγματοποιείται σε υφάλμυρα και θαλάσσια νερά (ΕΣΥΕ,2022).

Οι μυδοκαλλιέργειες βρίσκονται σε υφάλμυρα και θαλάσσια νερά και η μέθοδος καλλιέργειας είναι αποκλειστικά στα μεσόνερα (off bottom) (πίνακας 5).

Πίνακας 3: Διάρθρωση των εγκαταστάσεων μονάδων υδατοκαλλιεργειών κατά εκτρεφόμενη ομάδα ταξινόμησης ειδών, μέθοδο καλλιέργειας και είδος νερού 2022 (ΕΣΥΕ, 2022).

Ομάδα ταξινόμησης καλλιεργού-μενων – εκτρεφό-μενων ειδών κατά μέθοδο καλλιέργειας	Σε γλυκά νερά			Σε υφάλμυρα νερά			Σε θαλάσσια νερά		
	Αρ ιθ με γκ α- τα στ ά- σε ων	όγ κο ς νε ρο ύ	Έκτα- ση σε στρέμ ματα	Αρ ιθμ · εγκ ατα στ άσ εω ν	όγκος νερού	Έκτα ση σε στρέμ -ματα	Αριθμ.ε γκατα- στάσεω ν	όγκος νερού	Έκταση σε στρέμ- ματα
Μαλάκια Molluscs									
Στον βυθό On bottom	-	-	-	3	-	3	x	-	501
Στα μεσόνερα Off bottom	-	-	-	14	-	22	1824	-	2.805
Λοιπά Other methods	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Πίνακας 4: Ποσότητα και αξία των εκτρεφόμενων ή καλλιεργούμενων ειδών σε σύνολο χώρας 2022 (ΕΣΥΕ, 2022)

Ποσότητα σε κιλά - Αξία σε €

Εκτρεφόμενα ή καλλιεργούμενα είδη	Σύνολο/		Γλυκά νερά / Freshwater		Υφάλμυρα νερά/ Brakish water		Θαλάσσια νερά/ Marine water	
	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία
Οστρακοειδή (δίβαλβα μαλάκια) Bivalve molluscs	10.748.706	6.080.481	-	-	23.454	54.574	10.725.252	6.025.907
Μύδια Mediterranean mussel	10.733.855	5.997.058	-	-	x	x	x	x
Κυδώνια Striped venus	x	x	-	-	-	-	x	x
Λοιπά οστρακοειδή Marine molluscs nei	x	x	-	-	x	x	x	x
Στρείδια European flat oyster	x	x	-	-	-	-	x	x

Πίνακας 5: Εκτρεφόμενα ή καλλιεργούμενα είδη κατά μέθοδο καλλιέργειας (ΕΣΥΕ, 2022).

Ποσότητα σε κιλά - Αξία σε €

Εκτρεφόμενα ή καλλιεργούμενα είδη κατά μέθοδο καλλιέργειας	Σύνολο/		Γλυκά νερά / Freshwater		Υφάλμυρα νερά/ Brakish water		Θαλάσσια νερά/ Marine water	
	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία
Οστρακοειδή (δίβαλβα μαλάκια)	10.748.706	6.080.481	-	-	23.454	54.574	10.725.252	6.025.907
Στο βυθό	x	x	-	-	x	x	x	x

On bottom								
Κυδώνια Striped venus	x	x			-	-	x	x
Λοιπά οστρακοειδή (δίβαλβα μαλάκια) Marine molluscs nei	x	x	-	-	x	x	x	x
Στα μεσόνερα Off bottom	10.743.11 2	6.033.9 07	-	-	x	x	x	x
Μύδια Mediterranean mussel	10.733.85 5	5.997.0 58	-	-	x	x	x	x
Στρείδια European flat oyster	x	x	-	-	-	-	x	x
Λοιπά οστρακοειδή (δίβαλβα μαλάκια) Marine molluscs nei	x	x	-	-	-	-	x	x

Μονάδες καλλιέργειας μυδιών υπάρχουν στην συντριπτική τους πλειοψηφία στην περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας και συγκεκριμένα στις Περιφερειακές ενότητες: Θεσσαλονίκης (56%), Ημαθίας (21%) και Πιερίας (13%), Χαλκιδικής και Σερρών, στην περιφέρεια Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης (Περ. Ενότητες: Ροδόπης, Ξάνθης, Καβάλας), στην περιφέρεια Δυτικής Ελλάδας (Περ. Ενότητες: Πρέβεζας και Θεσπρωτίας), στην Αττική και στη Φθιώτιδα (Στάικου, 2015).

1.1.3 Η θρεπτική αξία των μυδιών

Τα μύδια έχουν σημαντική θρεπτική αξία για την ανθρώπινη διατροφή, διότι περιέχουν υψηλά ποσοστά πρωτεϊνών (11-13%) υψηλής βιολογικής αξίας ενώ αποτελούν πολύ καλή πηγή στοιχείων όπως: νατρίου (243mg), σεληνίου (76 mcg), ψευδαργύρου (2,3 mg), αλλά και σιδήρου

και βιταμινών A, C και σύμπλεγμα βιταμινών B (B1, B2, B6 και ιδιαίτερα B12: 20 mcg) (Gutierrez et al., 2004). Περιέχουν χαμηλά λιπαρά και υδατάνθρακες (2,0-2,3%) ενώ είναι πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (37–48% των συνολικών λιπαρών είναι ω3). Έχουν μικρή συγκέντρωση λίπους (1,5- 1,8%) και χοληστερόλης (Kiriazi–Papadopoulou & Vareltzis, 2003). Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα μύδια αποτελούν σημαντική τροφή για τη βελτίωση της ανθρώπινης υγείας (Merdzhanova et al., 2016) διότι συμβάλλουν στην καλύτερη καρδιαγγειακή λειτουργία (Vasakou et al., 2003).

1.1.4 Προϊόντα μυδιών στην Ελλάδα

Τα προϊόντα μυδιών που κυκλοφορούν στην Ελλάδα περιλαμβάνουν τα φρέσκα, τα κατεψυγμένα και τα μεταποιημένα μύδια. Οι κυριότερες μορφές μεταποίησης μυδιών περιλαμβάνουν το κάπνισμα, την κονσερβοποίηση και το μαρινάρισμά τους. Τα φρέσκα μύδια πωλούνται ολόκληρα, με το κέλυφος, διατηρημένα σε πάγο ή σε συσκευασίες από πολυαιθυλένιο μέσα σε αποστειρωμένο νερό και διατηρημένα σε ψύξη. Τα κατεψυγμένα μύδια είναι σε συσκευασίες που περιέχουν:

1) την ψίχα του μυδιού με το ένα από τα δύο κελύφη του, 2) ολόκληρα τα μύδια (και με τα δύο κελύφη) ή μόνο την ψύχα των μυδιών. Επίσης κυκλοφορούν στο εμπόριο κονσέρβες μυδιών καπνιστά σε φυτικό έλαιο, σε άλμη, μαριναρισμένα με διάφορες σάλτσες κ.ά. (Τριανταφύλλου, 2014).

1.2. ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΙΧΘΥΗΡΩΝ- ΟΣΤΡΑΚΟΕΙΔΩΝ – ΜΥΔΙΩΝ

Η μικροβιακή αλλοίωση αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία απόρριψης αλιευμάτων παγκοσμίως με τις απώλειες να ξεπερνούν το 30% της συνολικής παραγωγής (FAO, 2020; Li et al., 2020). Η υποβάθμιση των αλιευτικών προϊόντων, μπορεί να συμβεί σε οποιοδήποτε στάδιο από τη συλλογή, τη συσκευασία, την αποθήκευση, τη μεταφορά, την επεξεργασία και τη διανομή τους (Parlapani, 2021) ενώ η μη εναρμόνιση με τις ορθές υγιεινές πρακτικές και οι μηκατάλληλες συνθήκες συντήρησης (π.χ. θερμοκρασίας) ευνοούν την ανάπτυξη των αλλοιωγόνων οργανισμών μειώνοντας τον εμπορικό χρόνο ζωής του προϊόντος (Anagnostopoulos et al., 2022).

1.2.1 Ειδικοί αλλιωγόνοι μικροοργανισμοί (EAM-SSOs)

Η αλλοίωση των αλιευτικών προϊόντων είναι αποτέλεσμα χημικών αντιδράσεων (π.χ. οξείδωση λιπιδίων), βιοχημικών αντιδράσεων (ενζυμική δραστηριότητα,- αυτόλυση) και κυρίως για τα νωπά αλιεύματα είναι η μεταβολική δραστηριότητα των λεγόμενων ειδικών αλλοιωγόνων μικροοργανισμών EAM (specific spoilage organisms - SSOs), οι οποίοι ευθύνονται για την υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών κατά την αποθήκευση, καθιστώντας το προϊόν ακατάλληλο για κατανάλωση (Bozaris & Parlapani, 2017; Gram & Dalgaard, 2002; Nychas & Panagou, 2011). Λόγω της χημικής σύστασης των αλιευμάτων, όπως η υψηλή περιεκτικότητα τους σε θρεπτικά συστατικά, ο υψηλός συντελεστής ενεργότητας νερού (a_w) και το υψηλό pH, τα καθιστούν ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη τέτοιων μικροοργανισμών (Leroi & Joffraud, 2011).

Όταν οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται, χρησιμοποιούν θρεπτικά συστατικά και παράγουν μεταβολίτες, οι οποίοι υποβαθμίζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (π.χ: ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών και αλλοίωση της γεύσης, υποβάθμιση της εξωτερικής εμφάνισης, της υφής και του χρώματος της σάρκας) των προϊόντων με αποτέλεσμα την απόρριψη τους όταν φθάσουν σε υψηλά πληθυσμιακά επίπεδα (10^7 - 10^9 cfu/g για τα νωπά και 10^5 - 10^7 cfu/g για τα αλιεύματα που αλλοιώνονται τόσο από μικροβιακή όσο και από χημική δραστηριότητα π.χ. καρκινοειδή) (Parlapani, 2021). Τα είδη των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και το είδος των μεταβολιτών τους, εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, όπως οι συνθήκες αποθήκευσης (π.χ. θερμοκρασία και ατμόσφαιρα), η αρχική σύσταση της μικροχλωρίδας, οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις, το pH κ.λπ. (Bozaris & Parlapani, 2017; Gram & Huss, 1996). Ως κύριοι αλλοιωγόνοι οργανισμοί των αλιευμάτων έχουν αναφερθεί τα βακτήρια: *Photobacterium*, *Psychrobacter*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* και οξυγαλακτικά βακτήρια (Parlapani, 2021).

1.2.2 Αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί σε νωπά αλιεύματα

Η μικροβιακή ποικιλότητα των φρέσκων αλιευμάτων εξαρτάται από το περιβάλλον εκτροφής και τις συνθήκες παραμονής μετά την αλίευση. Παράγοντες που καθορίζουν τη μικροβιακή ποικιλότητα είναι η γεωγραφική προέλευση, ο τύπος (θαλάσσια ή γλυκά) και η μόλυνση των υδάτων και οι συνθήκες έκθεσης των αλιευμάτων (π.χ. πρακτικές υγιεινής, θερμοκρασία και χρόνος) κατά τη συλλογή, τον χειρισμό και την επεξεργασία (Parlapani et al. 2020; Antunes et al., 2018), τα είδη των ιχθυηρών, η εποχή συλλογής και οι συνθήκες εκτροφής (Minich et al., 2020; Rosado et al., 2019). Χρησιμοποιώντας ανάλυση PCR ή 16S NGS, οι ερευνητές μπορούν να επισημάνουν ομοιότητες και διαφορές στο μικροβιακό πληθυσμό μεταξύ ειδών αλιευμάτων,

γεωγραφικών περιοχών κλπ. Με τη μέθοδο PCR πραγματοποιείται ο πολλαπλασιασμός συγκεκριμένων τμημάτων του αρχικού γενετικού υλικού για να είναι δυνατή η μελέτη του με διάφορες μεθόδους ενώ η μέθοδος 16S NGS πρόκειται για Τεχνολογία Αλληλούχισης νέας γενιάς (NGS: Next Generation Sequencing) που χρησιμοποιεί το γονίδιο 16S rRNA για φυλογενετικές μελέτες ενώ η αλληλουχία των βάσεων του αποτελεί αξιόπιστο δείκτη της καταγωγής των μικροοργανισμών, οι οποίοι διατηρούν λειτουργικές ομοιότητες (Anagnostopoulos et al., 2022; Κολίσης & Μαμμά 2023).

1.2.2.1 Παραδείγματα διαφορών και ομοιοτήτων ανά γεωγραφική περιοχή

Στα κρύα ύδατα των Σκανδιναβικών χωρών τα κυρίαρχα βακτήρια εκτρεφόμενων ή φυσικών πληθυσμών ιχθυηρών π.χ: σολομός, βακαλάος, κιτρινόπτερος τόνος είναι τα *Photobacterium*, *Psychrobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* ή/και *Chryseobacterium* (Zotta et al., 2019; Kuuliala et al., 2018) με το πιο συχνά εμφανιζόμενο το *Photobacterium* (Kuuliala et al., 2018), ενώ τα *Photobacterium* και *Pseudomonas* βρέθηκαν να είναι τα κυρίαρχα βακτηριακά γένη στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των προϊόντων. Σε θερμότερα θαλάσσια ύδατα οι μικροβιακές κοινότητες των ιχθυηρών αποτελούνται ως επί το πλείστον από τα ίδια γένη με αυτά των κρύων υδάτων αλλά σπάνια παρατηρείται το *Photobacterium* σε ιχθυηρά της Μεσογείου (Parlapani et al., 2020) ενώ άλλα βακτήρια είναι κυρίαρχα σε νωπά ιχθυηρά (τσιπούρα, λαβράκι) και οστρακοειδή, (μύδια, ροζ γαρίδες) (Parlapani et al., 2018 b; Parlapani et al., 2020; Syropoulou et al., 2020).

Σε ελληνικά θαλάσσια ύδατα σε νωπά καρκινοειδή τα κυρίαρχα βακτήρια είναι τα *Candidatus hepatoplasma* και *Candidatus bacilloplasma* (Parlapani et al., 2020; Parlapani et al., 2019) ενώ στην Αμερική, η βακτηριακή σύνθεση καρκινοειδών και δίθυρων είναι αρκετά διαφορετική, π.χ: το φρέσκο μπλε καβούρι του Ατλαντικού φέρει εκτός από τα κοινά βακτήρια

Shewanella και *Psychrobacter* και αρκετά άλλα βακτηριακά γένη όπως: *Propionibacterium*, *Exiguobacterium*, *Providencia*, *Ralstonia*, *Proteus*, *Enterococcus*, *Pseudoalteromonas* και *Lysinibacillus* (Ramachandran, et al., 2018) διαφορετικά από εκείνα των ίδιων ειδών καβουριών από τη Μεσόγειο. Σε μπλε καβούρια της περιοχής της Μεσογείου οι βακτηριακοί πληθυσμοί ήταν από τα γένη *Enterobacter*, *Candidatus*, *Pseudahrensia*, *Comamonas* και *Filomicrobium* (Parlapani et al., 2019) ενώ αυτά που προέρχονται από το Αιγαίο έχουν ταυτοποιηθεί βακτήρια όπως *C. bacilloplasma*, *Delftia*, *Pseudahrensia*, *Filomicrobium*, *Comamonas* (Parlapani et al., 2019).

Σε στρείδια από τον Καναδά έχουν ανιχνευθεί ορισμένα βακτήρια όπως: *Borrelia*, *Colwellia*, *Arcobacter*, *Spirochaeta*, *Bradyrhizobium*, *Sphingomonas*, *Marinifilum*, *Caulobacter*, *Pelomonas*, *Bryobacter* (Chen et al., 2019) τα οποία δεν έχουν βρεθεί σε δίθυρα από την Ευρώπη (Parlapani et al., 2020a). Σε στρείδια από τον Ειρηνικό (περιοχή Βρετανικής Κολομβίας) τα κυρίαρχα βακτήρια ήταν άγνωστα ακολουθούμενα από το *Arcobacter*, από το New Brunswick τα βακτήρια *Spirochaeta* και από τη νήσο Prince Edward τα *Psychrobacter* (Chen et al. 2019).

Στην Ασία, η βακτηριακή σύνθεση των ιχθυερών γλυκών υδάτων π.χ: σφυρίδα, κυπρίνος, εκτρεφόμενος κοινός κυπρίνος, τιλάπια, δε διαφέρει αρκετά από αυτή των θαλάσσιων ή των ιχθυερών γλυκών υδάτων από την Ευρώπη, καθώς περιλαμβάνει βακτήρια όπως *Aeromonas* (Li et al., 2018b), *Macrococcus*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, *Flavobacterium*, *Brevundimonas*, *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Psychrobacter*, *Janthinobacterium*, *Arthrobacter*, *Vibrio* (Huang W. & Xie J., 2020; Li et al., 2018b; Duan et al., 2019).

Στην Αφρική, τα ιχθυερά από τροπικά γλυκά ύδατα περιέχουν τα κοινά βακτήρια π.χ: *Aeromonas* και *Pseudomonas*, αλλά η βακτηριακή τους σύνθεση είναι πλούσια σε παθογόνα όπως

L. monocytogenes, *V. parahaemolyticus* και διάφορα εντερικά παθογόνα όπως: *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica*, *Serratia mercenscens*, *Providencia rettgeri*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* (Ahmed, 2019; Onjong et al., 2018). Η πλειοψηφία αυτών των παθογόνων μπορεί επίσης να υπάρχει σε ιχθυηρά σε όλο τον κόσμο, αλλά σε μικρότερα ποσοστά.

Σε γαρίδες από εύκρατα ύδατα, το κυρίαρχο βακτηριακό είδος ήταν το *P. fragi*, ενώ στα τροπικά το *S. putrefaciens* (Chinivasagam et al., 1996), στη Γεωργία των ΗΠΑ το *Acinetobacter* (Heinsz et al., 1988) και στην παράκτια περιοχή της κεντρικής Αμερικής, το *Shewanella*, ενώ περιορισμένη ήταν η παρουσία άλλων βακτηρίων όπως *Pseudomonas*, *Coryneforms*, *LAB* και *Acinetobacter* (Benner et al., 2004).

Σημαντικές διαφορές έχουν παρατηρηθεί στη μικροβιακή κυριαρχία μεταξύ εκτρεφόμενων (*Exiguobacterium*, *Lysinibacillus*, *Shewanella* και *Enterococcus*) και φυσικών πληθυσμών μπλε καβουριών (*Psychrobacter* και *Propionibacterium spp.*) (Ramachandran et al., 2018) και νωπών (*Macrococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Psychrobacter spp.*, *Aeromonas spp.* και *Vagococcus spp.*) και κατεψυγμένων σαρδελών (*Phyllobacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.* και *Psychrobacter spp.*) από τη Βραζιλία (de Lira et al., 2020).

Επιπλέον, οι Chinivasagam et al. (1996), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ αλιευτικής ζώνης και μικροβιακών πληθυσμών π.χ: οι γαρίδες στην Αυστραλία που αλιεύθηκαν σε ζώνη χαμηλού βάθους τα κυρίαρχα βακτήρια ήταν Gram (+) ενώ σε βαθύτερες αλιευτικές ζώνες του γένους *Pseudomonas* αν και οι Jeyasekaran et al., (2006) υποστηρίζουν ότι

η κυριαρχία των βακτηρίων *Pseudomonas*, εξαρτάται πρώτιστα από τις συνθήκες αποθήκευσης των προϊόντων και κυρίως τη θερμοκρασία.

1.2.3 Ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί σε αποθηκευμένα αλιεύματα

Οι ΕΑΜ αποτελούν ένα μικρό κλάσμα της αρχικής ολικής μικροβιακής χλωρίδας που αναπτύσσεται ταχύτερα από τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς κατά την αποθήκευση, φθάνοντας σε υψηλότερες πληθυσμιακές πυκνότητες παράγοντας μεταβολίτες που προκαλούν την οργανοληπτική απόρριψη του προϊόντος (Boziaris & Parlapani, 2016; Gram & Huss, 1996).

Οι κύριοι παράγοντες που καθορίζουν την κυριαρχία συγκεκριμένων αλλιογόνων μικροοργανισμών στα αποθηκευμένα αλιεύματα είναι: η αρχική μικροβιακή ποικιλότητα (που εξαρτάται από το είδος των αλιευμάτων, την εποχή, τον οικότοπο π.χ. γεωγραφική προέλευση, τύπο και μόλυνση του νερού, συνθήκες εκτροφής κ.λπ. (Møretrø et al., 2016), το είδος του προϊόντος δηλαδή νωπά ή ελαφρώς επεξεργασμένα (π.χ: καπνιστά, αλατισμένα, μαριναρισμένα), οι συνθήκες αποθήκευσης (θερμοκρασία, ατμόσφαιρα, είδος συντήρησης κ.λπ.) (Parlapani et al., 2018a; 2019b; Rosado et al., 2019), οι φυσικές και χημικές απαιτήσεις για ανάπτυξη και οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις (Parlapani, 2021). Επίσης άλλοι παράγοντες είναι οι συνθήκες μεταποίησης (π.χ. πρακτικές υγιεινής, συλλογή και χειρισμός κ.λπ.) (Chaillou et al., 2015).

Η μικροβιακή χλωρίδα των αλιευμάτων που αποθηκεύονται σε ψύξη μπορεί να επηρεασθεί από τις συνθήκες αποθήκευσης και τη βιολογική μεταβλητότητα (είδη και προέλευση αλιευμάτων, παρτίδα) (Parlapani et al., 2018b; Zotta et al., 2019).

Το *Psychrobacter* έχει βρεθεί συχνά να κυριαρχεί στα νωπά αλιεύματα που αποθηκεύονται σε ψύξη (0-4°C) στη Ν. Ευρώπη, όπως το λαβράκι εκτροφής (Syrpoulou et al., 2020), τα εκτρεφόμενα μύδια (Parlapani et al., 2020), η κόκκινη γαρίδα βαθέων υδάτων (Parlapani,

Ferrocino et al., 2020) και η τσιπούρα εκτροφής (Parlapani et al., 2018b) από το Αιγαίο Πέλαγος ενώ το *Pseudomonas*, είναι κυρίαρχο βακτήριο στην τσιπούρα από το Ιόνιο Πέλαγος (Parlapani et al., 2018b). Αξιοσημείωτη ήταν η παρουσία του *Carnobacterium* το οποίο βρέθηκε σε υψηλά επίπεδα σε ελληνικές τσιπούρες αποθηκευμένες υπό αερόβιες συνθήκες στους 8°C που προέρχονταν από περιοχές του Αιγαίου και του Ιονίου (Parlapani et al., 2018b).

Το *Carnobacterium* μπορεί μερικές φορές να συν-κυριαρχήσει με το *Psychrobacter* σε νωπά ιχθυηρά σε υψηλότερες θερμοκρασίες ψύξης π.χ: 4-8°C (Parlapani et al., 2018b; Parlapani et al., 2020).

Σε γαρίδες που προέρχονταν από το Αιγαίο, διατηρημένες σε ψύξη στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής, τα βακτήρια του γένους *Photobacterium* ήταν σε χαμηλά ποσοστά ενώ στα νωπά δείγματα ήταν σε μεγαλύτερα (Parlapani et al., 2020a). Επίσης ανιχνεύθηκαν περισσότερα από 160 βακτήρια, η πλειοψηφία των οποίων σπάνια απαντάται στα αλιεύματα (π.χ. *Stenotrophomonas*, *Candidatus Hepatoplasma* και *Candidatus bacilloplasma*) σε ποσοστό μεγαλύτερο από 1%, ενώ τα κυρίαρχα βακτήρια στο χρονικό σημείο αισθητηριακής απόρριψης ήταν το *Psychrobacter*.

Οι μελέτες επιβεβαιώνουν ότι i) η γεωγραφική προέλευση (η οποία καθορίζει την αρχική μικροβιακή ποικιλία των αλιευμάτων) μπορεί να επηρεάσει τη μικροχλωρίδα των αλιευμάτων που αποθηκεύονται σε ψύξη και ii) η αποθήκευση αλιευμάτων σε χαμηλές θερμοκρασίες μπορεί να ευνοήσει την ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων (Parlapani, 2021).

Σε αποψυγμένα αλιεύματα το *Psychrobacter* είναι ο κυρίαρχος μικροοργανισμός σε σουπιές (Parlapani et al., 2018b), ενώ το *Pseudomonas* ή/και το *Psychrobacter* σε φιλέτα βακαλάου και ευρωπαϊκής χωματίδας ανάλογα με το είδος των αλιευμάτων, τη θερμοκρασία αποθήκευσης και την παρτίδα (Zotta et al., 2019).

Σε οστρακοειδή από τον Καναδά π.χ: νωπά στρείδια που αποθηκεύονται στην ψύξη, τα σημαντικότερα βακτήρια αλλοίωσης βρέθηκαν τα *Psychrobacter* και *Psychromonas* (Chen et al., 2019). Τα παραπάνω βακτήρια έχουν ανιχνευθεί σε νωπά μύδια (το *Psychromonas* στα μεσαία στάδια αποθήκευσης ενώ τελικά κυριάρχησε το *Acinetobacter*) ή σε νερό πλήρωσης συσκευασίας (*Psychrobacter*) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης με ψύξη και σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας στην Αυστραλία (Odeyemi et al., 2019).

Τα ακατέργαστα ιχθυηρά από την Ασία που αποθηκεύονται σε ψύξη και προέρχονται από γλυκά ύδατα, όπως ο κοινός κυπρίνος, έχουν κυρίαρχα βακτήρια τα *Pseudomonas*, *Aeromonas* ή/και *Lactococcus* (Li et al., 2018b). Το *Pseudomonas* βρέθηκε να κυριαρχεί στους λευκούς μύες των ιχθυηρών (με εμπορική διάρκεια ζωής 8 ημερών), ενώ τα *Pseudomonas*, *Aeromonas* και *Lactococcus* στους σκούρους (εμπορική διάρκεια ζωής 10 ημερών).

Το *Photobacterium* ακολουθούμενο από τα βακτήρια *Carnobacterium*, *Acinetobacter*, *Brochothrix* μπορεί να κυριαρχήσει σε ακατέργαστα φιλέτα βακαλάου Ατλαντικού που αποθηκεύονται σε ψύξη και συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (μειωμένο: 5% ή αυξημένο: 40% οξυγόνο) (Kuuliala et al., 2018). Το *Photobacterium* μπορεί, επίσης, να κυριαρχήσει σε φιλέτα νωπού σολομού Ατλαντικού από τη Νορβηγία που αποθηκεύεται σε ψύξη, ενώ το *Pseudomonas* σε φιλέτο του κιτρινόπτερου τόνου από τις Μαλδίβες αποθηκευμένου σε κενό (Jaaskelainen et al., 2019).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB), ιδιαίτερα το *Carnobacterium* έχουν βρεθεί κυρίαρχα σε συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας υπό κενό και χωρίς οξυγόνο σε φιλέτα του τροπικού κόκκινου drum στους 4°C (Silbande et al., 2018). Στα επεξεργασμένα (ελαφρώς αλατισμένα) φιλέτα κυπρίνου αποθηκευμένου, το *Pseudomonas* είναι κυρίαρχο σε ψύξη υπό αερόβιες συνθήκες ενώ το *Lactococcus* σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (Zhang et al., 2019b).

Φιλέτα βακαλάου αποθηκευμένα σε διάφορες θερμοκρασίες υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας τα κυρίαρχα βακτήρια ήταν τα *Photobacterium* και *Psychrobacter* (Antunes-rohling et al., 2019) ενώ γάδος του Ατλαντικού συσκευασμένος σε κενό αέρα αποθηκευμένος σε διάφορες θερμοκρασίες το *Photobacterium* (Kuuliala et al., 2018).

Άλλοι σημαντικοί παράμετροι είναι η μέθοδος συντήρησης ή το υλικό συσκευασίας. Σε φιλέτα τιλάπιας αποθηκευμένα σε ψύξη χρησιμοποιήθηκε βιοφίλμ (EGCG-gelatin biofilm) και συγκρίθηκαν με δείγματα ελέγχου. Τα βακτήρια ήταν παρόμοια και στις δύο περιπτώσεις *Pseudomonas*, *Aeromonas* και *Enterobacter* αλλά το *Aeromonas* (το οποίο έχει υψηλό δυναμικό αλλοίωσης) ήταν σε σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά στα δείγματα μεταχείρισης (Cao et al., 2020a).

Οι Huang et al., (2018) μελέτησαν τη χρήση ως συντηρητικό τριών διαφορετικών αιθέριων ελαίων (ρίγανη, θυμάρι και αστεροειδή γλυκάνισο) σε φιλέτα κυπρίνου κατά τη διάρκεια αποθήκευσης με απλή ψύξη και βρήκαν για τα δείγματα με τη μεταχείριση θυμαριού και αστεροειδή γλυκάνισου κυρίαρχο βακτήριο το *Aeromonas* και για τα δείγματα με τη μεταχείριση ρίγανης το *Pseudomonas* ενώ όλα τα δείγματα μεταχείρισης είχαν σημαντικά χαμηλότερο πληθυσμό *Aeromonas* σε σχέση με τους μάρτυρες.

1.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

Η υποβάθμιση της ποιότητας των αλιευτικών προϊόντων μετά τη συγκομιδή τους οφείλεται σε μικροβιακές και ενδογενείς ενζυμικές δραστηριότητες, καθώς και στη χημική οξείδωση των λιπιδίων, με αποτέλεσμα τη μείωση του εμπορικού χρόνου ζωής των προϊόντων (Kontominas et al., 2021a). Ο όρος εμπορικός χρόνος ζωής (shelf-life) των τροφίμων είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο τα τρόφιμα διατηρούν σε αποδεκτό βαθμό τα βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά τους και

διασφαλίζεται η ασφάλεια και η υγεία των καταναλωτών κατά τη βρώση τους (Καναβούρας, 2015). Στα νωπά αλιεύματα κατά τη συγκομιδή τους συνήθως ανιχνεύονται μεγάλοι βακτηριακοί πληθυσμοί στο δέρμα, στα βράγχια και στο γαστρεντερικό σύστημα (10^2 - 10^7 cfu/cm² στο δέρμα και 10^3 - 10^9 cfu/g στα βράγχια και το γαστρεντερικό σύστημα). ενώ ο μυϊκός ιστός τους είναι συνήθως αποστειρωμένος (Kontominas et al., 2021a).

Η μικροχλωρίδα αλλοίωσης των νωπών ιχθυηρών που αποθηκεύονται στον πάγο αποτελείται κυρίως από Gram (-) *Pseudomonas spp.* και υδροθειοπαραγωγά βακτήρια, συμπεριλαμβανομένου του *Shewanella putrefaciens*, όμως μπορεί να αποτελούν μέρος της μικροχλωρίδας αλλοίωσης τα *Acinobacter* και *Moraxella spp.* (Adams & Moss, 1999). Τα πρώτα στάδια της αλλοίωσης περιλαμβάνουν τη χρήση μη πρωτεϊνικού αζώτου, με αποτέλεσμα το σχηματισμό και τη συσσώρευση λιπαρών οξέων, αμμωνίας και πτητικών αμινών. Καθώς συνεχίζεται η διαδικασία της πρωτεόλυσης, η αλλοίωση γίνεται εμφανέστερη με την παραγωγή υδρόθειου και άλλων ενώσεων θείου, που παράγονται από τους *S. putrefaciens* και *Pseudomonas* (Doyle et al., 2001).

Η σάρκα των μαλακίων διαφέρει από των καρκινοειδών και των υπόλοιπων ιχθυηρών στο ότι περιέχει ποσότητα υδατανθράκων με τη μορφή γλυκογόνου. Παρόλο που οι μικροοργανισμοί που εμπλέκονται στην αλλοίωση των μαλακίων είναι οι ίδιοι με εκείνους που απαντώνται στα υπόλοιπα ιχθυηρά και στα καρκινοειδή (*Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens* και *Acinetobacter-Moraxella spp.*), η αλλοίωση των μαλακίων είναι κυρίως γλυκολυτική (περιέχουν 1-5% γλυκογόνο) και όχι πρωτεολυτική, οδηγώντας σε μείωση του pH από περίπου 6,5 σε 5,8. Υπό τέτοιες συνθήκες οξύτητας, επικρατούν στα τελευταία στάδια αλλοίωσης τα βακτήρια των γενών *Enterobacter*, *Lactobacillus* και ορισμένες ζύμες (Kontominas et al., 2021a).

1.3.1 Ψύξη

Η θερμοκρασία έχει σημαντική επίδραση στη διαδικασία μικροβιακής ανάπτυξης και οξείδωσης που λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης ή επεξεργασίας και χειρισμού των αλιευτικών προϊόντων και μπορεί να οδηγήσει σε επιβράδυνση της ανάπτυξης και της δραστηριότητας των μικροοργανισμών αλλοίωσης. Επίσης οι ρυθμοί ανεπιθύμητων βιοχημικών και χημικών αντιδράσεων επιβραδύνονται με τη μείωση της θερμοκρασίας (Hassoun & Coban, 2017).

Οι παραδοσιακές μέθοδοι συντήρησης αλιευτικών προϊόντων περιλαμβάνουν τη χρήση χαμηλών θερμοκρασιών για συντήρηση (4°C), ψύξη (0-1 °C), κατάψυξη (<1 °C). Ο χρόνος συντήρησης των μυδιών στην ψύξη 4°C είναι 4 ημέρες μετά αλλοιώνονται και είναι ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση (shelf-life 3-4 ημερών) (Pastoriza et al, 2004). Η ψύξη (cooling or chilling) των ιχθυερών έχει θεωρηθεί ως απλή και αποτελεσματική μέθοδος συντήρησης, διατηρώντας τα σε θερμοκρασία που κυμαίνεται μεταξύ 0 και 4°C.

Η ψύξη, επίσης, περιλαμβάνει: υγρό πάγο (wet ice), ψυχόμενο θαλασσινό νερό (refrigerated seawater -RSW) για εργασίες ψύξης επί των αλιευτικών σκαφών, παγωμένο θαλασσινό νερό (chilled seawater -CSW), στερεή και υγροποιημένη μορφή διοξειδίου του άνθρακα (CO₂), υγρό άζωτο και ψυχρό αέρα (Abdu et al., 2018). Έχει προταθεί για τα ιχθυερά αμέσως μετά τη συγκομιδή να διατηρούνται σε θερμοκρασίες 0°C (FAO, 1997) προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν οι βιοχημικές και μικροβιολογικές μεταβολές.

Η ψύξη δεν μπορεί να αποτρέψει τις ενζυμικές δραστηριότητες ή τη μικροβιακή αλλοίωση (Sampels, 2015) και για αυτό θα πρέπει να ολοκληρώνεται με άλλη μέθοδο συντήρησης. Μια άλλη τεχνική που βασίζεται σε χαμηλές θερμοκρασίες είναι η υπερ ψύξη (superchilling) με μείωση της θερμοκρασίας του τροφίμου 1-2°C κάτω από το σημείο πήξης, έτσι ώστε μόνο ένα μικρό μέρος

της περιεκτικότητας του σε νερό να καταψύχεται (Hassoun & Çoban, 2017). Η υπερ ψύξη έχει εφαρμοστεί με επιτυχία και έχει αποδειχθεί ότι παρατείνει τον εμπορικό χρόνο ζωής πολλών αλιευμάτων ως αποτέλεσμα της αναστολής των περισσότερων αυτολυτικών και μικροβιακών αντιδράσεων σε σύγκριση με την απλή (Sampels, 2015β).

Η κατάψυξη (freezing) (-18 έως -30°C) θεωρείται η πιο δημοφιλής μέθοδος μακροχρόνιας συντήρησης προϊόντων διατροφής, ειδικά αλιευτικών προϊόντων. Τα ιχθυηρά διατηρούνται για μήνες υπό κατάλληλες συνθήκες κατάψυξης διότι αναστέλλεται η ανάπτυξη μικροοργανισμών αλλοίωσης και η ενζυμική δραστηριότητα σε μεγαλύτερο βαθμό σε σύγκριση με την απλή ψύξη και με αυτό τον τρόπο διατηρούνται οι θρεπτικές ιδιότητες και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων (Hassoun & Çoban, 2017). Ωστόσο, ο σχηματισμός κρυστάλλων πάγου κατά τη διάρκεια της κατάψυξης μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα των κατεψυγμένων προϊόντων με υποβάθμιση της υφής τους, απώλεια ικανότητας συγκράτησης νερού και οξείδωσης (Abdu et al., 2018).

Σε όλα τα τρόφιμα, αλλά ειδικότερα στα ιχθυηρά και συγκεκριμένα στα οστρακοειδή, κατά την παραμονή τους στην ψύξη παρατηρούνται μεταβολές στο μικροβιακό τους φορτίο καθώς και στα βιοχημικά και οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά, οι οποίες εξαρτώνται από την αρχική ποιότητα του αλιευτικού προϊόντος, από τη διάρκεια και τις συνθήκες της αποθήκευσής τους.

Μεταβολές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά: Οι διάφοροι οργανοληπτικοί μέθοδοι αποτελούν δείκτες ποιότητας των αλιευτικών προϊόντων, αλλά απαιτούν εξειδικευμένο προσωπικό και είναι χρονοβόρες διαδικασίες. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που εξετάζονται είναι (Erkan, 2005): α) η εξωτερική εμφάνιση (appearance), β) η οσμή (odour), γ) το χρώμα (color) και δ) η υφή της σάρκας.

Στην παρούσα πτυχιακή χρησιμοποιήθηκε πενταβάθμια κλίμακα για την αξιολόγηση των οργανοληπτικών παραμέτρων (εμφάνιση, οσμή, ελαστικότητα, κτλ.) των μυδιών ενώ ως χρόνος απόρριψης ορίστηκε ο χρόνος όπου το προϊόν βαθμολογήθηκε με 2 έστω από τους 2 εκ των 5 κριτών.

- E: 5 άριστο
- A: 4 φρέσκο
- B: 3 αποδεκτό
- C: 2 μη αποδεκτό
- D: 1 αλλοιωμένο.

Εκτός από τις μεταβολές των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, που αποτελούν δείκτη νωπότητας των αλιευμάτων (άρα και των μυδιών), κατά τη συντήρησή τους στην ψύξη οι βιοχημικές και μικροβιακές μεταβολές (συνδυασμένη δράση των ενζύμων των ιστών και της μικροβιακής μόλυνσης) είναι σημαντικοί ποιοτικοί παράγοντες για τα προϊόντα. Η αλλοίωση των ιχθυηρών αποδίδεται στην: (i) ενζυμική αυτόλυση, (ii) μικροβιακή ανάπτυξη και (iii) οξείδωση των λιπιδίων.

1.3.1.1 Αλλοίωση μέσω ενδογενών ενζυμικών δραστηριοτήτων (Spoilage due to autolytic enzyme activity)

Τα ενδογενή ένζυμα που υπάρχουν στα αλιευτικά προϊόντα είναι ενεργά και η δραστηριότητά τους επηρεάζει κυρίως την υφή του μυϊκού ιστού τους στα πρώτα στάδια της φθοράς, χωρίς να παρατηρείται αλλοίωση στην οσμή και στη γεύση, με αποτέλεσμα τον περιορισμό του εμπορικού χρόνου ζωής των προϊόντων ακόμη και εάν οι μικροοργανισμοί αλλοίωσης δεν είναι ακόμη κυρίαρχοι (Ghaly et al., 2010).

Τα αυτολυτικά ένζυμα των μυών και των σπλαχνικών οργάνων μπορούν να οδηγήσουν στην πρωτεόλυση κατά την επεξεργασία και αποθήκευση ολόκληρων ιχθυηρών, οδηγώντας σε αποσύνθεση και διαλυτοποίηση πρωτεϊνών. Η αποικοδόμηση παράγει, επίσης, πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα μέσω αυτόλυσης μυϊκών πρωτεϊνών και βιογενείς αμίνες μέσω της δράσης αποκαρβοξυλασών, οδηγώντας στην αλλοίωση των ιχθυηρών (Fraser & Sumar, 1998).

Οι πρωτεάσες και οι λιπάσες παίζουν βασικό ρόλο στην αποικοδόμηση πρωτεϊνών και λιπιδίων, αντίστοιχα, κατά την αλλοίωση των ιχθυηρών (Liston, 1980). Ο βαθμός νωπότητας των αλιευτικών προϊόντων μπορεί να εκτιμηθεί χρησιμοποιώντας πολυάριθμους βιοχημικούς δείκτες, π.χ: ο δείκτης K, βασίζεται στο ρυθμό καταβολισμού των νουκλεοτιδίων αδερίνης. Οι αλλαγές στην τιμή K συσχετίζονται με το επίπεδο αλλοίωσης της οποίας η τιμή ξεκινά με περίπου 10%, και αυξάνεται ανάλογα με την ενδογενή ενζυμική δραστηριότητα. Στη συνέχεια, αυξάνεται εκθετικά καθώς στο μηχανισμό αλλοίωσης εμπλέκεται η μικροβιακή δραστηριότητα. Τιμή $K < 20\%$ αντιστοιχεί στη βέλτιστη νωπότητα των ιχθυηρών, $20 < K < 40\%$ αντιστοιχεί στην αποδεκτή και $K > 40\%$ σε μη αποδεκτή ποιότητα (Cheng et al., 2015). Το pH, είναι σημαντικός βιοχημικός δείκτης νωπότητας των αλιευμάτων και γενικά των τροφίμων. Μετά τη συγκομιδή των αλιευμάτων σταματάει η αερόβια αναπνοή ενώ συνεχίζεται η αναερόβια (γλυκόλυση) με επακόλουθο τη μείωση του pH από μία αρχική φυσιολογική τιμή περίπου 7 σε τελική τιμή 5.1 έως 6.5. Η αναερόβια αναπνοή σταματά μετά από 1-36 h μετά τη συγκομιδή (ανάλογα με το είδος του ιστού και τις μεθόδους χειρισμού πριν και μετά τη συγκομιδή). Οι μειωμένες τιμές pH προκαλούν αποσταθεροποίηση των πρωτεϊνών και μείωση της ικανότητας συγκράτησης νερού. Μικρή μείωση pH είναι επιθυμητή γιατί καθυστερεί την ανάπτυξη μικροοργανισμών και μπορεί να πραγματοποιηθεί με κατάλληλους χειρισμούς και ταχεία ψύξη μετά τη συγκομιδή ώστε ο ρυθμός γλυκόλυσης να είναι βραδύς (Χατζηλάρη, 2012).

1.3.1.2 Μικροβιακή αλλοίωση (*Microbial Spoilage*)

Οι κύριες αιτίες αλλοίωσης των φρέσκων και ελαφρώς διατηρημένων αλιευμάτων είναι η μικροβιακή ανάπτυξη και η ενζυμική δραστηριότητα με αποτέλεσμα την αλλοίωση της γεύσης των προϊόντων λόγω του σχηματισμού συγκεκριμένων αλκοολών (κυρίως αιθανόλης), αλδεϋδών, οξέων, κετονών και ενώσεων θείου και αζώτου (Dalgaard et al., 2006). Τα μη διατηρημένα ιχθυηρά συνήθως αλλοιώνονται λόγω της ανάπτυξης Gram (-) ζυμωτικών βακτηρίων (όπως τα *Vibrionaceae*), ενώ τα διατηρημένα σε απλή ψύξη αλλοιώνονται από ψυχρότροφα Gram(-) βακτήρια όπως τα *Pseudomonas spp.* και *Shewanella spp.*

Η Ολική μεσόφιλη χλωρίδα OMX (total volatile count-TVC) είναι ο ολικός αριθμός των μικροοργανισμών, οι οποίοι έχουν την ικανότητα να σχηματίσουν ορατές ευδιάκριτες αποικίες, όταν καλλιεργούνται σε θρεπτικό υπόστρωμα και σε συγκεκριμένη θερμοκρασία, μετράται σε CFUs/gr δείγματος (colony forming units-μονάδες σχηματιζόμενων αποικιών). Τιμή μεγαλύτερη των 10^5 cfu/gr σημαίνει ακαταλληλότητα του προϊόντος προς βρώση, τιμές 10^6 - 10^7 cfu/gr αποδίδονται σε ακατάλληλους χειρισμούς του δείγματος (συνθήκες αποθήκευσης), με αποτέλεσμα το δείγμα να απορρίπτεται. Δηλαδή η OMX περιλαμβάνει τη μικροχλωρίδα που δεν προκαλεί αλλοίωση (non-spoilage microflora) και τους ειδικούς αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς EAM (SSOs), καθώς οι τελευταίοι είναι υπεύθυνοι για την αλλοίωση των ιχθυηρών (Gram & Dalgaard, 2002).

Κατά την αποσύνθεση των αλιευμάτων, οι πρωτεΐνες των ιστών διασπώνται σε πεπτίδια, ελεύθερα αμινοξέα, αμίνες και πτητική αμμωνία. Το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) που υπάρχει στη σάρκα τους διασπάται στις πτητικές αμίνες διμεθυλαμίνη (DMA) και τριμεθυλαμίνη (TMA).

Δείκτες μικροβιακής αλλοίωσης/νωπότητας στα αλιευτικά προϊόντα:

- Τριμεθυλαμίνη (trimethylamine-TMA): Ο πολλαπλασιασμός των βακτηρίων οδηγεί σε διάσπαση πρωτεϊνών και παραγωγή τριμεθυλαμίνης τα επίπεδα της οποίας αποτελούν δείκτη για τον προσδιορισμό της έκτασης της αλλοίωσης. Στην παρουσία της τριμεθυλαμίνης οφείλεται η χαρακτηριστική οσμή αμμωνίας των αλιευμάτων. Η TMA παράγεται κατά την αποδόμηση του οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (TMAO) από τα βακτηριακά ένζυμα και τους ειδικούς αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς EAM (SSOs), όπως: *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas spp.*, psychrotolerant, Enterobacteriaceae, *P. phosphoreum* και *Vibrio spp.* (Connell, 2017). Κατά τη συντήρηση των αλιευμάτων στην ψύξη η τιμή της TMA ακολουθεί ανοδική πορεία ενώ TMA: 10-15mg/100g σάρκας είναι το μέγιστο όριο αποδοχής ενός αλιεύματος ως φρέσκο (Connell, 2017).
- Ολικό πτητικό βασικό άζωτο (total volatile basic nitrogen-TVB-N): περιλαμβάνει την αμμωνία και τις πτητικές αμίνες: διμεθυλαμίνη (DMA) και τριμεθυλαμίνη (TMA) που σχηματίζονται μέσω της αποκαρβοξυλίωσης αμινοξέων (τα οποία παράγονται μέσω αποικοδόμησης πρωτεϊνών). Κατά τη διάρκεια της συντήρησης η τιμή του δείκτη αυξάνεται, τιμές μεταξύ 30 και 45 mg TVB-N/100 g είναι τα ανώτατα όρια αποδοχής για διάφορα αλιευτικά προϊόντα (Connell 2017).
- Πτητικές οργανικές ενώσεις (volatile organic compounds -VOC)(Boziaris, 2014).

Τα *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens* και άλλα βακτήρια αλλοίωσης αναπτύσσονται ταχέως κατά τη διάρκεια των ενδιαμέσων σταδίων αλλοίωσης, τα οποία μέσω του μεταβολισμού τους παράγουν πρωτεάσες και λιπάσες υπεύθυνες για τη διάσπαση πρωτεϊνών και λιπιδίων, αντίστοιχα. Στα μεταγενέστερα στάδια της αλλοίωσης, η περαιτέρω ανάπτυξη βακτηρίων αλλοίωσης οδηγεί στην οργανοληπτική απόρριψη των προϊόντων (Abbas et al., 2009).

1.3.1.3 Οξείδωση των λιπιδίων και Υδρόλυση (Oxidation and Hydrolysis)

Η οξείδωση των λιπιδίων περιλαμβάνει την αντίδραση ακόρεστων λιπαρών οξέων των τριγλυκεριδίων των ιχθυηρών με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο σχηματίζοντας υδροϋπεροξειδία (πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης) τα οποία είναι ασταθή και αποσυντίθενται σε καρβονυλικές ενώσεις όπως αλδεΐδες και κετόνες (δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης), υπεύθυνες για τη χαρακτηριστική γεύση ταγγίσματος (Hultin, 1994). Η υδρόλυση λιπιδίων πραγματοποιείται μέσω ενζυμικών ή μη ενζυμικών οδών. Στην ενζυμική υδρόλυση των λιπών από λιπάσες (λιπόλυση), οι λιπάσες διασπούν τα τριγλυκερίδια, παράγοντας ελεύθερα λιπαρά οξέα. Τα λιπολυτικά ένζυμα μπορεί είτε να είναι ενδογενή (του αλιευτικού προϊόντος) είτε να είναι προϊόν του μεταβολισμού των ψυχρότοφων μικροοργανισμών (Huis in't Veld, 1996). Τα λιπαρά οξέα που σχηματίζονται κατά την υδρόλυση των λιπιδίων των ιχθυηρών αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες, προκαλώντας μετουσίωση. Η οξείδωση των λιπιδίων περιλαμβάνει την αντίδραση του ατμοσφαιρικού οξυγόνου με τους διπλούς δεσμούς ακόρεστων λιπαρών οξέων στα μόρια τριγλυκεριδίων των ιχθυηρών για την παραγωγή υδροϋπεροξειδίων (Undeland et al. 2005).

1.3.2 Αντιμικροβιακές ουσίες (Φυσικές - Εκχυλίσματα)

Τα φυσικά συντηρητικά μπορούν να απομονωθούν από μικροοργανισμούς, ζώα και φυτά. Οι κύριες κατηγορίες φυσικών συντηρητικών που χρησιμοποιούνται στα αλιευτικά προϊόντα είναι: αιθέρια έλαια και φυτικά εκχυλίσματα, οργανικά οξέα, χιτοζάνη και βακτηριοσίνες.

1.3.2.1 Αιθέρια έλαια και φυτικά εκχυλίσματα

Οι φυτικές βιοδραστικές ενώσεις είναι αποτελεσματικές στον έλεγχο των τροφιμογενών παθογόνων και των μικροοργανισμών αλλοίωσης (Calo et al., 2015). Πολλά είδη φυτών έχουν

μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί ως αντιμικροβιακοί παράγοντες λόγω των βιοδραστικών ενώσεών τους με κυριότερες: τα τερπένια, τις φαινολικές ενώσεις και τα αλκαλοειδή (Baptista et al., 2020). Τα βιοενεργά φυτοχημικά απαντώνται σε διάφορα μέρη των φυτών, όπως φύλλα, βλαστούς, άνθη, σπόρους ή ρίζες (Novak et al., 2005) και αποτελώντας μέρος του μηχανισμού άμυνας των φυτών, είναι αποτελεσματικά στον έλεγχο των μικροοργανισμών αλλοίωσης ενώ εξάγονται από τα φυτά και διατίθενται υπό τη μορφή αιθέριων ελαίων (essential oils- EOs) ή φυτικών εκχυλισμάτων (plant extracts-PE) (Kontominas et al., 2021a).

Τα αιθέρια έλαια είναι φυτικά έλαια που περιέχουν σημαντικό αριθμό πτητικών οργανικών ενώσεων (volatile organic compounds-VOC), οι οποίες μπορούν να ληφθούν με απόσταξη και συνήθως έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες έναντι διαφόρων τροφιμογενών παθογόνων όπως των *S. Typhimurium*, *E. coli O157: H7*, *Campylobacter*, *L. monocytogenes* και *S. aureus* αλλά και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Calo et al., 2015).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των αιθέριων ελαίων αφορούν τόσο το αιθέριο έλαιο (είδος, σύνθεση και συγκέντρωση συστατικών) όσο και άλλους παράγοντες όπως το μικροοργανισμό στόχο και το πληθυσμό του στο τρόφιμο, το είδος του τροφίμου (είδος επεξεργασίας, συνθήκες διατήρησης κλπ) (Tiwari et al., 2009). Τα αιθέρια έλαια είναι πιο αποτελεσματικά κατά των Gram (+) αλλοιωγόνων και παθογόνων βακτηρίων από ότι των Gram (-) και η εξήγηση είναι το επιπλέον λιποπολυσακχαριδιτικό στρώμα των Gram (-), που εμποδίζει τη διάχυση των υδρόφοβων συστατικών (Hyltdgaard et al., 2012). Τα φυτικά εκχυλίσματα είναι μείγματα φυτοχημικών ενώσεων που εξάγονται από τα φυτά χρησιμοποιώντας κοινούς διαλύτες (νερό, μεθανόλη, εξάνιο κ.λπ.) (Cowan, 1999).

Η χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων και των φυτικών εκχυλισμάτων εξαρτάται από το είδος και το τμήμα του φυτού που χρησιμοποιείται στην εκχύλιση (Baptista et al., 2020). Τα

αιθέρια έλαια και τα φυτικά εκχυλίσματα χρησιμοποιούνται ως συντηρητικά αλιευτικών προϊόντων και εφαρμόζονται σε συγκέντρωση 0,1-1%, με την τεχνική της εμβάπτισης και μέσο χρόνο εφαρμογής τα 30 min. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις, στις περισσότερες περιπτώσεις, επηρεάζουν αρνητικά τις οργανοληπτικές ιδιότητες του προϊόντος (Baptista et al., 2020; Kontominas et al., 2021a).

Όσον αφορά τα οστρακοειδή, οι Xi et al. (2012) αξιολόγησαν την αντιμικροβιακή δράση των φαινολικών ενώσεων από εκχύλισμα φύλλων πράσινου τσαγιού (1%) σε στρείδια του Ειρηνικού (*Crassostrea gigas*) αποθηκευμένα σε ψύξη (5°C) με εφαρμογή 4,6 g/L και κατέγραψαν σημαντική μείωση του παθογόνου *Vibrio parahaemolyticus*. Επίσης, ο Τριανταφύλλου (2014) μελέτησε την επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης σε συνδυασμό με συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας TA σε δείγματα ψύχας μυδιών που διατηρούνταν σε συντήρηση στους 4°C. Τα δείγματα ήταν τα εξής: 1) MAP CON: Συσκευασία σε συνθήκες TA (CO₂: 70% και N₂: 30%) χωρίς προσθήκη αιθέριου ελαίου ρίγανης, 2) AIR CON : Συσκευασία σε αερόβιες συνθήκες, χωρίς προσθήκη αιθέριου ελαίου ρίγανης, 3) MAP OR: Συσκευασία σε συνθήκες TA (CO₂: 70% και N₂: 30%) +αιθέριο έλαιο ρίγανης 0,2%, 4) AIR OR: Συσκευασία σε αερόβιες συνθήκες +αιθέριο έλαιο ρίγανης 0,2%. Τα δείγματα μυδιών που συντηρήθηκαν σε συνθήκες TA με την προσθήκη αιθέριου ελαίου ρίγανης παρέμειναν οργανοληπτικά αποδεκτά μέχρι και τη 18^η ημέρα συντήρησης στους 4°C, δηλαδή 12, 5 και 4 ημέρες περισσότερες από ότι τα δείγματα AIRCON, AIROR και MAPCON αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε ισχυρή αντιβακτηριακή δράση του αιθέριου ελαίου ρίγανης (0,2%) κατά του *V. parahaemolyticus* και στα δείγματα μειώθηκε ο πληθυσμός του παθογόνου σε μη ανιχνεύσιμους πληθυσμούς από τη 2η ημέρα, τόσο σε αερόβιες συνθήκες όσο και σε συνδυασμό με τη συσκευασία σε συνθήκες TA. Επίσης, υπήρξε ισχυρή αντιβακτηριακή δράση του αιθέριου ελαίου ρίγανης (0,2 %) κατά των *Enterobacteriaceae* σε

αερόβιες συνθήκες. Το αιθέριο έλαιο ρίγανης όμως προκάλεσε μόνο μικρή μείωση του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ο ερευνητής καταλήγει ότι η συνεργιστική δράση του αιθέριου ελαίου ρίγανης και της συσκευασίας ΤΑ, επιμήκυνε τον εμπορικό χρόνο ζωής των δειγμάτων κατά 5 και 6 ημέρες, σε σχέση με τη δράση μεμονωμένα κάθε παράγοντα.

Ο κύριος περιορισμός για τη χρήση αιθέριων ελαίων και φυτικών εκχυλισμάτων είναι η δημιουργία ανεπιθύμητων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στα προϊόντα (γεύση και οσμή) και για χρήση τους θα πρέπει να πραγματοποιείται σε μικρές συγκεντρώσεις και σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους συντήρησης (Baptista et al., 2020). Επίσης, τα αιθέρια έλαια μπορούν να ενθυλακωθούν με διάφορους νανοφορείς όπως κυκλοδεξτρίνες, αμυλόζη, νανογαλακτώματα, νανοΐνες, νανοσωματίδια λιπιδίων και βιοπολυμερών και νανολιποσώματα ώστε να επιτυγχάνεται η βελτίωση της διαλυτότητάς τους και η ελεγχόμενη απελευθέρωση τους στα τρόφιμα (Liu et al., 2020).

1.3.2.2 Οργανικά οξέα

Τα οργανικά οξέα (organic acids) είναι ενώσεις που φέρουν στο μόριο τους μία ή περισσότερες καρβοξυλομάδες ($-\text{COOH}$), παρουσιάζουν αντιμικροβιακές ιδιότητες και υδρόφοβα χαρακτηριστικά, διαλυτά στα λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών μέσω των οποίων εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα προκαλώντας αναστολή των ενζυμικών αντιδράσεων των μικροοργανισμών (Kontominas et al., 2021a).

Η αντιβακτηριακή δράση των οργανικών οξέων στηρίζεται κυρίως στη μείωση του pH και στην ικανότητα διαχωρισμού τους (προσδιορίζεται από την τιμή της σταθεράς διάστασης pK_a υποδεικνύοντας τη μορφή: διαχωρισμένη ή μη διαχωρισμένη του οξέος που του επιτρέπει να διασχίσει την κυτταρική μεμβράνη). Τα οξέα που συνήθως χρησιμοποιούνται στα αλιευτικά

προϊόντα είναι το κιτρικό, το γαλακτικό, το ασκορβικό, το οξικό και τα άλατά τους με νάτριο ή κάλιο (όπως οξικό νάτριο, κιτρικό νάτριο και γαλακτικό νάτριο) και θεωρούνται ασφαλή (Kontominas et al., 2021a). Πιο αποτελεσματική θεωρείται η συνεργιστική δράση των μειγμάτων οργανικών οξέων που εξασφαλίζει ότι διασπώνται σε διαφορετικά pH (Baptista et al., 2020).

Συνήθως, χρησιμοποιούνται υδατικά διαλύματα οργανικών οξέων σε συγκέντρωση 0,05-2,5% και εφαρμογή σε αλιευτικά προϊόντα με εμβάπτιση, διάρκειας 10-15min, ακολουθεί αποστράγγιση και συσκευασία (Baptista et al., 2020).

Οξέα έχουν αναφερθεί για την αντιμικροβιακή τους αποτελεσματικότητα έναντι τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών, όπως *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *S. enterica*, *E. coli* και *S. aureus* (Halstead et al, 2015; Olaimat et al., 2017).

Συμπερασματικά τα οργανικά οξέα και τα άλατά τους έχουν εφαρμοστεί για τη συντήρηση αλιευτικών προϊόντων μόνα τους ή σε συνδυασμό με άλλα οξέα αλλά και σε συνδυασμό με διαφορετικές μεθόδους συντήρησης όπως χρήση αιθέριων ελαίων, συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας και συσκευασίας κενού (Baptista et al., 2020).

1.3.2.3 Βακτηριοσίνες

Ο όρος βιοσυντήρηση αναφέρεται στην εφαρμογή φυσικών μικροοργανισμών ή/και των αντιμικροβιακών μεταβολιτών τους προκειμένου να διατηρηθεί η ποιότητα των τροφίμων και να παραταθεί ο εμπορικός χρόνος ζωής τους (Kontominas et al., 2021a). Τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιούνται ως βιοσυντηρητικά, λειτουργούν ανταγωνιστικά με τα παθογόνα για θρεπτικά συστατικά ενώ παράγουν πολυάριθμους μεταβολίτες με αντιμικροβιακή δράση όπως οργανικά οξέα (κυρίως γαλακτικό και οξικό οξύ), αντιμικροβιακά πεπτίδια (βακτηριοσίνες), διακετύλιο και υπεροξείδιο του υδρογόνου, τα οποία λειτουργούν ως φυσικά συντηρητικά (Pedersen et al., 2012).

Τα σημαντικότερα γένη οξυγαλακτικών βακτηρίων που χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση τροφίμων είναι τα: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* και *Streptococcus* (Francoise, 2010).

Εκτός των οξυγαλακτικών βακτηρίων και πολλά από τα είδη του γένους *Bifidobacterium* χρησιμοποιούνται στη μικροβιολογία τροφίμων και την ανθρώπινη διατροφή, λόγω του ρόλου τους στην παραγωγή και τη συντήρηση τροφίμων, καθώς και στις προβιοτικές ιδιότητες που παρουσιάζουν ορισμένα στελέχη του (Felis & Dellaglio, 2015). Το γένος *Bifidobacterium* ανήκει στο φύλο *Actinobacteria*, οικογένεια *Bifidobacteriaceae*. Τα στελέχη που παρουσιάζουν προβιοτικές ιδιότητες ανήκουν σε διάφορα είδη όπως: *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve* (Felis & Dellaglio, 2015). Τα προβιοτικά βακτήρια *Bifidobacterium* είναι αναερόβια, Gram (+), με πολυμορφικό ραβδόμορφο σχήμα που καταβολίζουν τη γλυκόζη και παράγουν γαλακτικό και οξικό οξύ, αμινοξέα και βιταμίνες του συμπλέγματος B (Felis & Dellaglio, 2015).

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι μεταβολίτες του βακτηρίου *Bifidobacterium lactis* για τη συντήρηση των μυδιών των διαφόρων μεταχειρίσεων.

Οι βακτηριοσίνες είναι μικρά πεπτίδια ή πρωτεΐνες με βακτηριοκτόνο ή βακτηριοστατική δράση, που συντίθενται σε κυτταρικά ριβοσώματα (Cotter et al., 2005). Η ευαισθησία της βακτηριοκίνης εξαρτάται από τη φυσιολογική κατάσταση του κυττάρου. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη δραστηριότητα τους είναι η αλληλεπίδραση τους με (i) πρωτεΐνες και λιπίδια (μείωση της δραστηριότητάς τους) και (ii) πρωτεάσες (αδρανοποίησή τους), (iii) οι συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης (pH και θερμοκρασία αποθήκευσης π.χ: υψηλή θερμοκρασία μπορεί να ενεργοποιήσει πρωτεολυτικά ένζυμα στα τρόφιμα, αναστέλλοντας τη δραστηριότητα των βακτηριοσινών), (iv) το επίπεδο αρχικής μόλυνσης των τροφίμων (οι βακτηριοσίνες έχουν περιορισμένη ικανότητα αναστολής μεγάλων πληθυσμών μολυσματικών μικροοργανισμών) και

(ν) η σύνθεση της φυσικής μικροχλωρίδας του προϊόντος (οι βακτηριοσίνες αναστέλλουν μόνο Gram (+) βακτήρια) (Kontominas et al., 2021a).

Σύμφωνα με την οδηγία 1129/2011/EK της ΕΕ (ΕΥ, 2011), η μόνη βακτηριοσίνη που έχει εγκριθεί για χρήση στα τρόφιμα είναι η νισίνη. Ως βιοσυντηρητικό, η νισίνη έχει χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της ανάπτυξης Gram (+) βακτηρίων όπως τα: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* και *Streptococcus spp.* (Matamoros et al. 2009).

Διάφοροι παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθερότητα της νισίνης στα τρόφιμα είναι (Baptista et al., 2020): (1) σε χαμηλό pH παρουσιάζει καλύτερη αντιμικροβιακή δράση, (2) με ενδογενή πρωτεολυτικά ένζυμα μπορεί να εκφυλιστεί (3) η δράση της μπορεί να επηρεασθεί από καλλιέργειες εκκίνησης (4) μπορεί να αλληλεπιδράσει με τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια των τροφίμων, με αποτέλεσμα τη μείωση της δραστηριότητάς της, (5) η δραστηριότητά της μπορεί να μειωθεί σε κατεψυγμένα τρόφιμα, (6) δεν παρουσιάζει επιδράσεις έναντι Gram(-) βακτηρίων, ζυμομυκήτων ή μυκήτων.

Ο συνδυασμός της νισίνης (η οποία όπως προαναφέρθηκε είναι δραστική έναντι των Gram (+) βακτηρίων) με χηλικό παράγοντα (π.χ: αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ ethylenediaminetetraacetic acid EDTA) παρουσιάζει σημαντική δράση έναντι και των Gram(-) βακτηρίων (Prudêncio et al., 2015) ή με αιθέρια έλαια π.χ: συνδυασμός αιθέριου ελαίου θυμαριού *Thymus vulgaris* με νισίνη μείωσε τον πληθυσμό του *S. Typhimurium* (Turgis et al., 2012) καταλήγοντας οι ερευνητές ότι όταν συνδυάζονται αιθέρια έλαια και βακτηριοσίνες μπορούν να δράσουν συνεργιστικά ή συμπληρωματικά.

Εναλλακτική λύση για την αύξηση της σταθερότητας της νισίνης είναι μέσω ενθυλάκωσης της σε υποστρώματα όπως η χιτοζάνη και με αυτό τον τρόπο απελευθερώνεται σταδιακά, διατηρείται η

βιολογική της δραστηριότητα, χωρίς προβλήματα ενζυμικής αδρανοποίησης της ή αλληλεπίδρασής της με συστατικά τροφίμων (Wu et al., 2017).

Άλλη μέθοδος για την ενθυλάκωση της νισίνης είναι η χρήση στερεών νανοσωματιδίων λιπιδίων ή λιποσωμάτων, όπου σχηματίζεται ένα μικρογαλάκτωμα νερού σε έλαιο, στο οποίο μπορούν να προστεθούν αιθέρια έλαια στη φάση ελαίου, με αποτέλεσμα συνεργιστική δράση δύο αντιμικροβιακών παραγόντων: νισίνης και αιθέριων ελαίων (Chatzidaki et al., 2019) π.χ: νισίνη σε συνδυασμό με αιθέρια έλαια δεντρολίβανου, θυμαριού και ρίγανης είχαν βακτηριοκτόνο δράση έναντι των *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* και *Lactococcus lactis subsp.* (Chatzidaki et al., 2019).

Οι Da Silva Vieira et al. (2016) αξιολόγησαν την επίδραση του *Lactobacillus plantarum* στη διατήρηση των νωπών μυδιών. Τα μύδια που επεξεργάστηκαν με *L. plantarum* είχαν μεγαλύτερο πληθυσμό LAB και μικρότερο *Vibrio spp.* και συνολικών ετερότροφων βακτηρίων, μετά από 60 ημέρες αποθήκευσης στο ψυγείο σε σχέση με τους μάρτυρες.

1.4 Σκοπός Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας

Σκοπός της παρούσας Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας είναι η παρακολούθηση των οργανοληπτικών και μικροβιολογικών μεταβολών σε συσκευασμένα μύδια όπου έγινε πλήρωση με νερό (αποστειρωμένο ή μη) και προσθήκη μεταβολιτών από το προβιοτικό *Bifidobacterium lactis*, με στόχο την παρεμπόδιση της μικροβιακής αύξησης και την επιμήκυνση του εμπορικού χρόνου ζωής των μυδιών υπό ψύξη στους 4°C.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την επίτευξη του παραπάνω σκοπού, πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες μεταχειρίσεις α) 150ml νερό και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Α), β) σακουλάκια που περιείχαν 75ml νερό, 75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του *Bifidobacterium lactis* και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Β), γ) σακουλάκια που περιείχαν 150ml αποστειρωμένο νερό και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Γ) και δ) σακουλάκια που περιείχαν 75ml αποστειρωμένο νερό, 75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του *Bifidobacterium lactis* και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Δ). Τα αποτελέσματα της παρούσας αναμένεται να συμβάλλουν στην αναβάθμιση της ποιότητας και την επιμήκυνση του εμπορικού χρόνου ζωής των μυδιών (ψύχας) υπό ψύξη.

2.1 Προέλευση μυδιών

Τα μύδια ελήφθησαν από ελληνική μονάδα καλλιέργειας μυδιών στην περιοχή της Χαλάστρας (Δ. Θεσσαλονίκη, Β. Ελλάδα) και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Εμπορίας και Τεχνολογίας Αλιευτικών Προϊόντων και Τροφίμων (ETEXNAT) του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βόλο.

Μικροβιολογικά υλικά και edwddima χημικά αντιδραστήρια

Τα μικροβιολογικά υλικά προέρχονταν από την LAB M (Lancashire, UK) εκτός από το Iron agar κατά Lyngby (IA) το οποίο προετοιμάστηκε σύμφωνα με τους Gram et al. (1987) και περιείχε τα παρακάτω: peptone 20 g l⁻¹, meat extract 3.0 g, yeast extract 3.0 g l⁻¹, ferric citrate 3.0 g l⁻¹, sodium thiosulphate 0.3 g l⁻¹, NaCl 5 g, L-cysteine 0.6 g l⁻¹, agar 14 g l⁻¹. Το pH ρυθμίσθηκε στο 7.4. Τα χημικά αντιδραστήρια προέρχονταν από την Sigma-Aldrich (Steinheim,

Germany). Η γλυκερόλη (φυτική) και το αλγινικό νάτριο προέρχονταν από την εταιρεία Manis Chemicals (Ελλάδα).

2.2 Θρεπτικά υποστρώματα

Tryptone Soy Agar (TSA)

Σε μια φιάλη των 1000 ml ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 37 g θρεπτικού υλικού και στη συνέχεια προστέθηκαν 1000 ml απιονισμένου νερού. Ακολούθησε αποστείρωση στους 121 °C για 15 min και στη συνέχεια η διαδικασία της ενσωμάτωσης του θρεπτικού, όπου μικρή ποσότητα μοιράστηκε εξίσου σε τρυβλία Petri.

Cetrimide–Fucidin–Cephaloridine agar (CFC)

Σε μια φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 25.2 g θρεπτικού υλικού και συμπληρώθηκαν 500 ml απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια συμπληρώθηκαν 5 ml γλυκερόλης και πραγματοποιήθηκε ανάδευση σε επαγωγική εστία μέχρι να ομογενοποιηθεί το θρεπτικό. Το θρεπτικό αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο στους 121 °C για 15 min. Το τελικό pH ήταν 7.1 ± 0.2 στους 25 °C. Στη συνέχεια το θρεπτικό αφέθηκε να κρυώσει σε υδατόλουτρο μέχρι τους 45 έως 50 °C και προστέθηκε ένα φιαλίδιο με εκλεκτικό υλικό CFC, αφού πρώτα διαλύθηκε σε 5 ml αποστειρωμένο νερό με 50% αιθανόλη. Στη συνέχεια ακολούθησε η διαδικασία ενσωμάτωσης, όπου μικρή ποσότητα θρεπτικού μοιράστηκε εξίσου σε τρυβλία Petri. Αφέθηκε σε κατάσταση ηρεμίας ώστε να στερεοποιηθεί πλήρως στα τρυβλία και στη συνέχεια αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία 5-10°C για μελλοντική χρήση.

Iron agar κατά Lyngby (IA)

Iron agar (IA) το οποίο προετοιμάστηκε σύμφωνα με τους Gram et al. (1987) και περιείχε τα παρακάτω: peptone 20 g l⁻¹ , meat extract 3.0 g, yeast extract 3.0 g l⁻¹ , ferric citrate 3.0 g l⁻¹ , sodium thiosulphate 0.3 g l⁻¹ , NaCl 5 g, L-cysteine 0.6 g l⁻¹ , agar 14 g l⁻¹ . Το pH ρυθμίσθηκε στο 7.4. Τα χημικά αντιδραστήρια προέρχονταν από την Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

De Man, Rogosa, Sharpe agar (MRS)

Σε μια φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 70 g θρεπτικού υλικού σε 1000 ml απιονισμένου νερού. Το θρεπτικό θερμάνθηκε μέχρις ότου ομογενοποιηθεί και έπειτα αποστειρώθηκε στους 121 °C για 15 min. Αφού το θρεπτικό κρύωσε μέχρι τους 45 έως 50°C, ρυθμίστηκε το pH στα 6.4 ± 0.2 και στη συνέχεια μοιράστηκε σε τρυβλία Petri.

De Man, Rogosa, Sharpe Broth (MRS) με L-Cysteine

Σε μια φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 13,75 g θρεπτικού υλικού σε 500 ml απιονισμένου νερού και έπειτα προστέθηκαν 3 g άγαρ και 1% (w/v) L-Cysteine. Το θρεπτικό αναδεύτηκε μέχρι να ομογενοποιηθεί και έπειτα αποστειρώθηκε στους 121 ° C για 15 min. Αφού το θρεπτικό κρύωσε μέχρι τους 45 έως 50° C, στη συνέχεια αποθηκεύτηκε προσωρινά για να χρησιμοποιηθεί με την τεχνική της ενσωμάτωσης.

Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA)

Σε μία κωνική φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 19,25 gr θρεπτικού υλικού σε 500ml απιονισμένου νερού. Το θρεπτικό θερμάνθηκε μέχρι να ομογενοποιηθεί και αφέθηκε στην επαγωγική εστία μέχρι το σημείο του βρασμού. Αφού το θρεπτικό κρύωσε μέχρι τους 45 έως 50°C, στη συνέχεια αποθηκεύτηκε προσωρινά για να χρησιμοποιηθεί με την τεχνική της ενσωμάτωσης.

2.3 Προέλευση, παραγωγή και λήψη των μεταβολιτών

Οι μεταβολίτες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή ήταν προϊόντα μεταβολισμού κατά την ανάπτυξη του προβιοτικού μικροοργανισμού *Bifidobacterium lactis* (από την συλλογή μικροοργανισμών του ETEXNAT) σε MRS Broth. Η καλλιέργεια αναζωογονήθηκε αρχικά σε 10 ml MRS Broth στους 37°C για 24h και στη συνέχεια έγινε μεταφορά 1 ml σε φιάλη 1000ml MRS Broth και ακολούθησε επώαση στους 37°C για 24h. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός των μεταβολιτών από τα κύτταρα *Bifidobacterium lactis* χρησιμοποιώντας τη μέθοδο διήθησης με χρήση κενού όπου διηθούνταν 10-20 ml από τη φιάλη των 1000ml του MRS Broth μέσω αποστειρωμένου φίλτρου (0,2 μm). Μετά τη διήθηση η φιάλη με τους μεταβολίτες από τον μικροοργανισμό *Bifidobacterium lactis* αποθηκεύτηκε προσωρινά στους 4°C μέχρι να γίνει η προετοιμασία των δειγμάτων.

2.4 Παρασκευή συσκευασμένων μυδιών

Για την επίτευξη του σκοπού της πτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες μεταχειρίσεις:

- α) 150ml νερό και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Α),
- β) 75ml νερό 75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του *Bifidobacterium lactis* και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Β),
- γ) 150ml αποστειρωμένο νερό και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Γ) και
- δ) 75ml αποστειρωμένο νερό, 75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του *Bifidobacterium lactis* και ψύχα μυδιών (μεταχείριση Δ).

Στη συνέχεια, τα προϊόντα (διαφορετικές μεταχειρίσεις συσκευασμένων μυδιών) αποθηκεύτηκαν στους 4°C για 14 ημέρες. Οι δειγματοληψίες για την οργανοληπτική αξιολόγηση και τη μικροβιολογική ανάλυση πραγματοποιούνταν κάθε δύο μέρες.

2.5 Εκτίμηση εμπορικού χρόνου ζωής με οργανοληπτική αξιολόγηση

Η οργανοληπτική αξιολόγηση πραγματοποιούνταν σε κάθε δειγματοληψία πριν την έναρξη των αναλύσεων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε πενταβάθμια κλίμακα και η αξιολόγηση των οργανοληπτικών παραμέτρων πραγματοποιήθηκε βάση της εμφάνισης, οσμής, ελαστικότητας, κτλ. Έτσι, με 5 βαθμολογήθηκε το άριστο (E), με 4, 3 και 2 το φρέσκο (A), το αποδεκτό (B) και μη αποδεκτό (C), αντίστοιχα, ενώ με 1 το αλλοιωμένο. Βάσει της γενικής βαθμολογίας, ως χρόνος απόρριψης ορίσθηκε ο χρόνος όπου το προϊόν βαθμολογήθηκε με 2 έστω από 1 εκ των 5 κριτών.

2.6 Μικροβιολογική ανάλυση

Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν διπλά δείγματα ψύχας των 25 g, μεταφέρονταν ασηπτικά σε αποστειρωμένες σακούλες stomacher, προστίθονταν 225 ml Maximum Recovery Diluent (MRD, NaCl 0,85 % και 0,1 % Peptone) και ακολουθούσε ομογενοποίηση για 2 λεπτά σε συσκευή τύπου Stomacher (Bug Mixer, Interscience, London, UK). Στη συνέχεια πραγματοποιούνταν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις των δειγμάτων με μεταφορά 1 ml από κάθε αραιώση στον επόμενο δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε εννεαπλάσια ποσότητα αραιωτικού μέσου.

Οι μικροοργανισμοί που απαριθμήθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική της επίστρωσης ήταν: α) Ολικός Μικροβιακός Πληθυσμός σε TSA (Tryptone Soy Agar) μετά από επώαση των τρυβλίων στους 25°C για 48-72 ώρες, β) *Pseudomonas* spp. σε CFC *Pseudomonas* Agar (Cetrimide-Fucidin-Cephaloridine agar) με καταμέτρηση των αποικιών, μετά από επώαση στους

25°C για 48 ώρες, γ) βακτήρια που παράγουν H₂S σε IA (Iron Agar), με καταμέτρηση μόνο των μαύρων αποικιών, μετά από επώαση των τρυβλίων στους 25°C για 48 ώρες, και δ) Οξυγαλακτικά βακτήρια σε MRS Agar (Mann, Rogosa, Sharpe agar), με καταμέτρηση των αποικιών, μετά από επώαση στους 25°C για 48-72 ώρες, και ε) Enterobacteriaceae σε Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) με καταμέτρηση των μωβ αποικιών με δακτύλιο, μετά από επώαση στους 37°C για 24 h. Η μικροβιολογική ανάλυση πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Εμπορικός χρόνος ζωής

Ο εμπορικός χρόνος ζωής των μυδιών κάθε μεταχείρισης παρουσιάζεται στον πίνακα: 6. Αρχικά (d 0) όλα τα δείγματα αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά ως «άριστα» σύμφωνα με τις παραμέτρους: 1) της εμφάνισης (appearance), 2) της οσμής (odor) και 3) της υφής (firmness). Ωστόσο, αυτά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά υποβαθμίστηκαν όσο αυξανόταν η χρονική διάρκεια αποθήκευσης.

Πίνακας 6: Χρόνος απόρριψης μυδιών αποθηκευμένων στους 4°C σύμφωνα με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους 1,2) μάρτυρες, 3) νερό και μεταβολίτες από το προβιοτικό *Bifidobacterium lactis*, 4) νερό αποστειρωμένο και μεταβολίτες από το προβιοτικό *Bifidobacterium lactis*.

A/A	Μεταχείριση-Δείγματα Treatment-Samples	Εμπορικός χρόνος ζωής μυδιών σε ημέρες (Shelf-Life) Days	Βασικοί παράμετροι για την οργανοληπτική απόρριψη των δειγμάτων
1	Μεταχείριση Α 150ml νερό + ψύχα μυδιών (μάρτυρας) mussels in 150ml tap water (control)	8	Δυσάρεστη οσμή και ακατάλληλη εμφάνιση (Unpleasant odor and inappropriate appearance)
2	Μεταχείριση Γ 150ml αποστειρωμένο νερό δικτύου + ψύχα μυδιών (μάρτυρας) mussels in 150ml tap water sterile (control)		
3	Μεταχείριση Β 75ml νερό + 75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του <i>Bifidobacterium lactis</i> +ψύχα μυδιών mussels in 75ml tap water + 75ml cell free liquid culture	12	Δυσάρεστη οσμή και ακατάλληλη εμφάνιση (Unpleasant odor and inappropriate appearance)
4	Μεταχείριση Δ 75ml αποστειρωμένο νερό +75ml του υπερκείμενου καλλιέργειας του <i>Bifidobacterium lactis</i> +ψύχα μυδιών mussels in 75ml tap water sterile+75ml cell free liquid culture		

Η διάρκεια του εμπορικού χρόνου ζωής των προϊόντων ήταν ίδια για τους μάρτυρες και ίδια για τις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες από το προβιοτικό *Bifidobacterium lactis*. Το τέλος της διάρκειας εμπορικού χρόνου ζωής των μαρτύρων (μεταχειρίσεις: Α, Γ) προσδιορίστηκε στη d8 (8η ημέρα), ενώ οι μεταχειρίσεις με μεταβολίτες (μεταχειρίσεις: Β, Δ) στη d12 (12η ημέρα). Οι κύριοι παράμετροι που υποδείκνυαν αλλοίωση σε όλες τις μεταχειρίσεις ήταν η δυσάρεστη οσμή και η ακατάλληλη εμφάνιση του προϊόντος.

Πιο συγκεκριμένα:

Τα μύδια των μεταχειρίσεων Α (νερό) και Γ (αποστειρωμένο νερό) παρέμειναν σε «άριστη» κατάσταση έως την 2η ημέρα, σε κατάσταση «πολύ καλή» έως την 4η ημέρα και σε κατάσταση «υποβαθμισμένη αλλά αποδεκτή» έως την 6η ημέρα (βαθμοί 3 για την οσμή αλλά 4 για την υφή και την εμφάνιση), ενώ σε κατάσταση «απορριπτόμενη» την 8η ημέρα (d 8) (βαθμός 2 για την οσμή και την εμφάνιση).

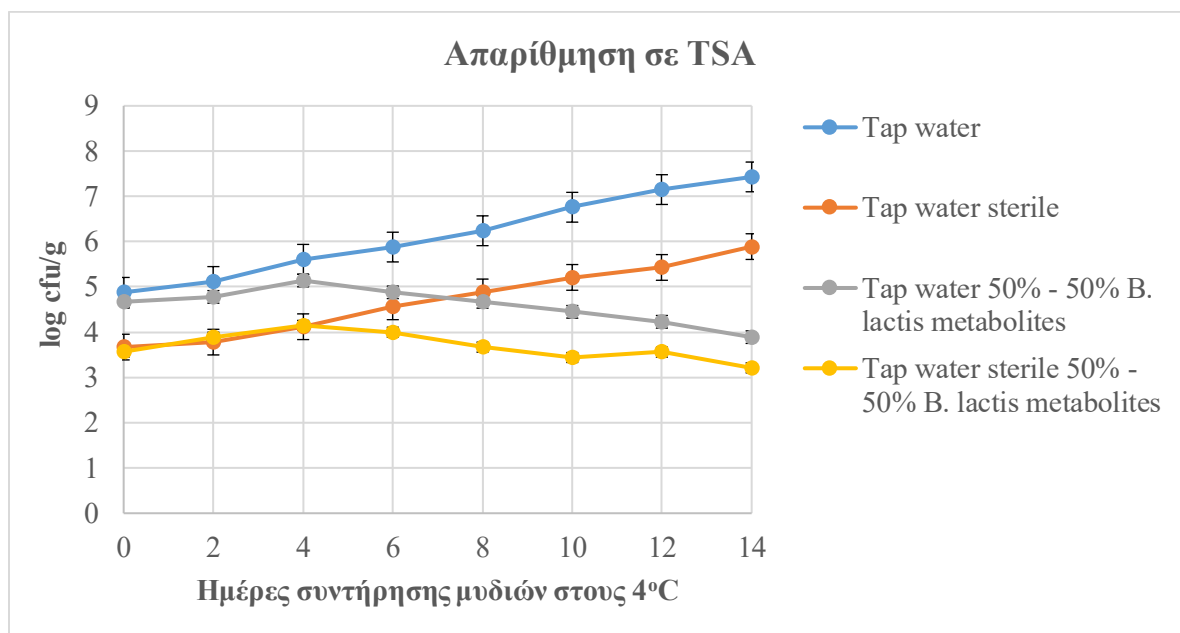
Τα μύδια των μεταχειρίσεων Β (νερό +μεταβολίτες) και Δ (αποστειρωμένο νερό +μεταβολίτες) μέχρι την 4η μέρα ήταν σε «άριστη» κατάσταση, σε «πολύ καλή» έως την 6η, «υποβαθμισμένη αλλά αποδεκτή» έως τη 10η (βαθμοί για τη μεταχείριση Β για υφή/εμφάνιση/οσμή: 3/4/4 αντίστοιχα ενώ για τη μεταχείριση Δ: 3/4/3) και τέλος ο χρόνος οργανοληπτικής απόρριψης τους ήταν η 12η ημέρα (d 12) με βαθμό 1 και για την οσμή και για την εμφάνιση.

Αρα βάσει των αλλαγών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών υπό ψύξη (4°C), ο εμπορικός χρόνος ζωής των μυδιών των μεταχειρίσεων Α και Γ (μάρτυρες) εκτιμήθηκε στις 8 ημέρες ενώ των μεταχειρίσεων Β και Δ (με μεταβολίτες) στις 12 ημέρες, δηλαδή με την προσθήκη του υπερκείμενου καλλιέργειας του *Bifidobacterium lactis* αυξήθηκε ο εμπορικός χρόνος ζωής των μυδιών κατά 4 ημέρες.

3.2 Μικροβιακές μεταβολές

Οι πληθυσμιακές μεταβολές της OMX αλλά και των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, συγκεκριμένα των *Pseudomonas* spp., υδροθειούχων (H_2S) βακτηρίων και οξυγαλακτικών βακτηρίων και των παθογόνων της οικογένειας *Enterobacteriaceae* στα μύδια κάθε μεταχείρισης, αποθηκευμένων στους $4^\circ C$, παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (8, 9, 10, 11 και 12 αντίστοιχα)..

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX)



Εικόνα 8: Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX για τις 4 μεταχειρίσεις κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους $4^\circ C$. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Μετά τη συσκευασία των μυδιών, η αρχική πληθυσμιακή πυκνότητα της OMX ήταν: για τη μεταχείριση Α (150ml νερό + ψύχα μυδιών, μάρτυρας) 4,88 log cfu/g και για τη μεταχείριση Γ (150ml αποστειρωμένο νερό + ψύχα μυδιών, μάρτυρας) 3,67 log cfu/g. Τα επίπεδα του πληθυσμού της OMX και για τις δύο μεταχειρίσεις αυξήθηκαν μέχρι το επίπεδο 6,24 και 4,89 log cfu/g αντίστοιχα την 8^η ημέρα (d 8) που ήταν η ημέρα απόρριψης των μυδιών και για τις δύο μεταχειρίσεις. Δηλαδή και στις δύο περιπτώσεις των παραπάνω μεταχειρίσεων (Α και Γ) παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της OMX κατά 1,36 log cfu/g για την Α και 1,22 log cfu/g για τη Γ στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των μυδιών (d 8) ενώ η μεταχείριση Γ είχε μειωμένο πληθυσμό OMX την 8^η ημέρα σε σχέση με την Α κατά 1,35 log cfu/g.

Η αρχική OMX για τις μεταχειρίσεις που περιείχαν τους μεταβολίτες του προβιοτικού *Bifidobacterium lactis* μεταχείριση Β (75ml νερό + 75ml μεταβολίτες + ψύχα μυδιών) και Δ (75ml αποστειρωμένο νερό + 75ml μεταβολίτες + ψύχα μυδιών) ήταν 4,67 και 3,56 log cfu/g αντίστοιχα ενώ μέχρι την 4^η ημέρα αποθήκευσης ακολούθησαν μικρή ανοδική πορεία (5,14 και 4,15 log cfu/g αντίστοιχα). Από την 4^η ημέρα και μετά μειώθηκε η OMX για τη μεταχείριση Β μέχρι την ημέρα απόρριψης των μυδιών 12^η ημέρα (d12) στο επίπεδο των 4,23 log cfu/g (μείωση κατά 0,44 log cfu/g) ενώ και για τη μεταχείριση Δ μειώθηκε μέχρι τη 10^η ημέρα (3,44 log cfu/g) και είχε μικρή αύξηση την ημέρα απόρριψης (12^η ημέρα) στο επίπεδο των 3,56 log cfu/g φτάνοντας στο επίπεδο της αρχικής OMX της μεταχείρισης. Η μεταχείριση Δ είχε μειωμένο επίπεδο OMX κατά 0,67 log cfu/g την 12^η ημέρα σε σχέση με την Β.

Οι αρχικοί πληθυσμοί (d 0) της OMX των μεταχειρίσεων Α και Β διέφεραν περίπου 0,21 log cfu/g (4,88 και 4,67 log cfu/g αντίστοιχα) ενώ στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής της μεταχείρισης Α (d 8) η διαφορά τους αυξήθηκε κατά 1,57 log cfu/g (6,24 και 4,67 log cfu/g

αντίστοιχα). Στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των μυδιών της μεταχείρισης Β (d 12) το επίπεδο της OMX μειώθηκε περαιτέρω φτάνοντας 4,23 log cfu/g.

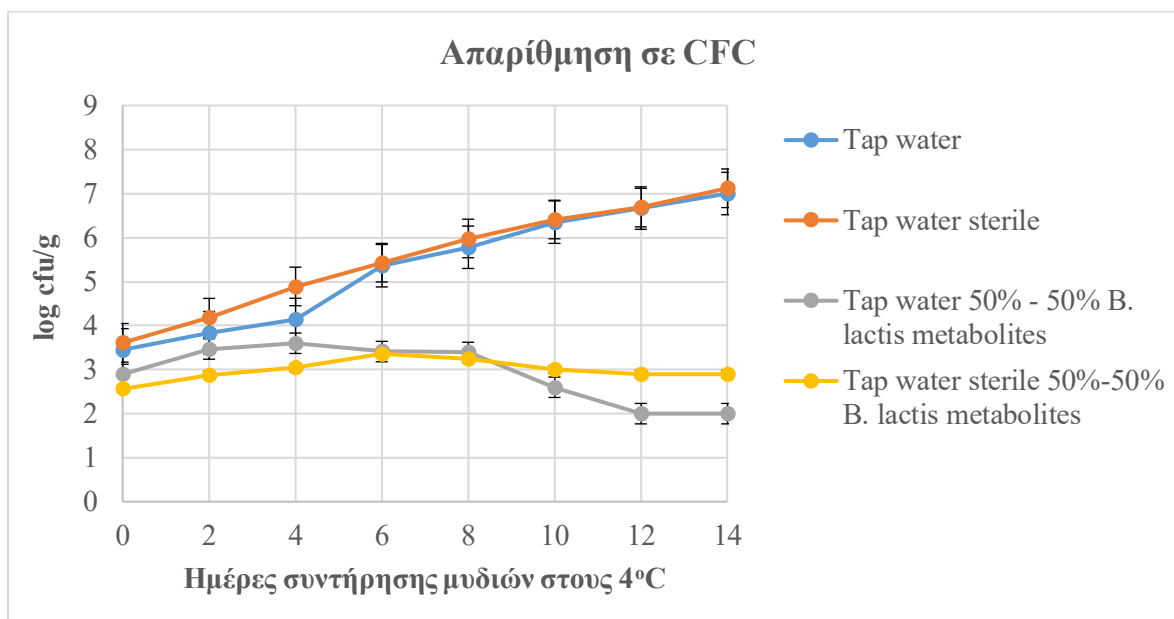
Όσον αφορά τις μεταχειρίσεις Γ και Δ ενώ οι αρχικοί πληθυσμοί (d 0) της OMX δε διέφεραν σημαντικά (3,67 και 3,56 log cfu/g αντίστοιχα), στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των μυδιών της μεταχείρισης Γ (d 8) η διαφορά τους αυξήθηκε κατά 1,22 log cfu/g (4,89 και 3,67 log cfu/g αντίστοιχα). Την ημέρα απόρριψης των μυδιών της μεταχείρισης Δ (d 12) η OMX ήταν 3,56 log cfu/g.

Συνοψίζοντας για την OMX στις μεταχειρίσεις που περιελάμβαναν νερό δικτύου (Α και Β με μεταβολίτες) οι αρχικοί πληθυσμοί (d 0) ήταν μεγαλύτεροι των 4,50 log cfu/g λόγω και της φυσικής χλωρίδας που περιείχε το νερό του δικτύου και ενώ στην μεταχείριση Α το επίπεδο αυξανόταν μέχρι την ημέρα απόρριψης των δειγμάτων (d 8), στη Β που περιείχε τους μεταβολίτες αυξήθηκε λίγο και μετά την 6^η ημέρα αποθήκευσης μειώθηκε μέχρι την d12 (ημέρα απόρριψης) κατά περίπου 0,20 log cfu/g. Στις μεταχειρίσεις που χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένο νερό (Γ και Δ με μεταβολίτες) το αρχικό πληθυσμιακό επίπεδο της OMX (d0) ήταν μικρότερο από 3,70 log cfu/g λόγω και της απουσίας της μικροχλωρίδας του νερού και ενώ στη Γ αυξήθηκε μέχρι την ημέρα 8 (απόρριψης), στη Δ αυξήθηκε μέχρι την 4^η ημέρα και μειώθηκε μέχρι την ημέρα απόρριψης (d12) φτάνοντας στα αρχικά επίπεδα της ημέρας d0.

Pseudomonas spp.

Οι πληθυσμιακές μεταβολές των βακτηρίων *Pseudomonas* spp. για τις 4 μεταχειρίσεις κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C απεικονίζονται στην εικόνα 9. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Pseudomonas spp.



Εικόνα 9: Πληθυσμιακές μεταβολές των *Pseudomonas spp.* για τις 4 μεταχειρίσεις κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Η αρχική πληθυσμιακή πυκνότητα (d0) των βακτηρίων *Pseudomonas spp.* ήταν: για τις μεταχειρίσεις-μάρτυρες Α:3,45log cfu/g, Γ:3,61 log cfu/g και ακολούθησε ανοδική πορεία και για τις δύο μεταχειρίσεις μέχρι την ημέρα απόρριψης (d8) με τιμές 5,78 και 5,98 log cfu/g αντίστοιχα.

Τα αρχικά επίπεδα (d0) των βακτηρίων *Pseudomonas spp.* στα δείγματα που προστέθηκαν μεταβολίτες ήταν για τη μεταχείριση Β: 2,89 log cfu/g και για τη Δ:2,56 log cfu/g φτάνοντας την ημέρα απόρριψης (d12) στα μειωμένα επίπεδα των 2 και 2,90 log cfu/g αντίστοιχα (η μεταχείριση Β είχε μικρότερο πληθυσμό των παραπάνω βακτηρίων από τη Δ κατά 0,90 log cfu/g).

Στις μεταχειρίσεις Α και Β ο αρχικός πληθυσμός (d0) των βακτηρίων *Pseudomonas spp.* ήταν 3,45 και 2,89 log cfu/g αντίστοιχα. Ο πληθυσμός των παραπάνω βακτηρίων την 8^η ημέρα ήταν για την Α μεταχείριση στο επίπεδο των 5,78 log cfu/g και για τη Β 3,39 log cfu/g (δηλαδή της Α αυξημένο κατά 2,39 log cfu/g σε σχέση με τη Β).

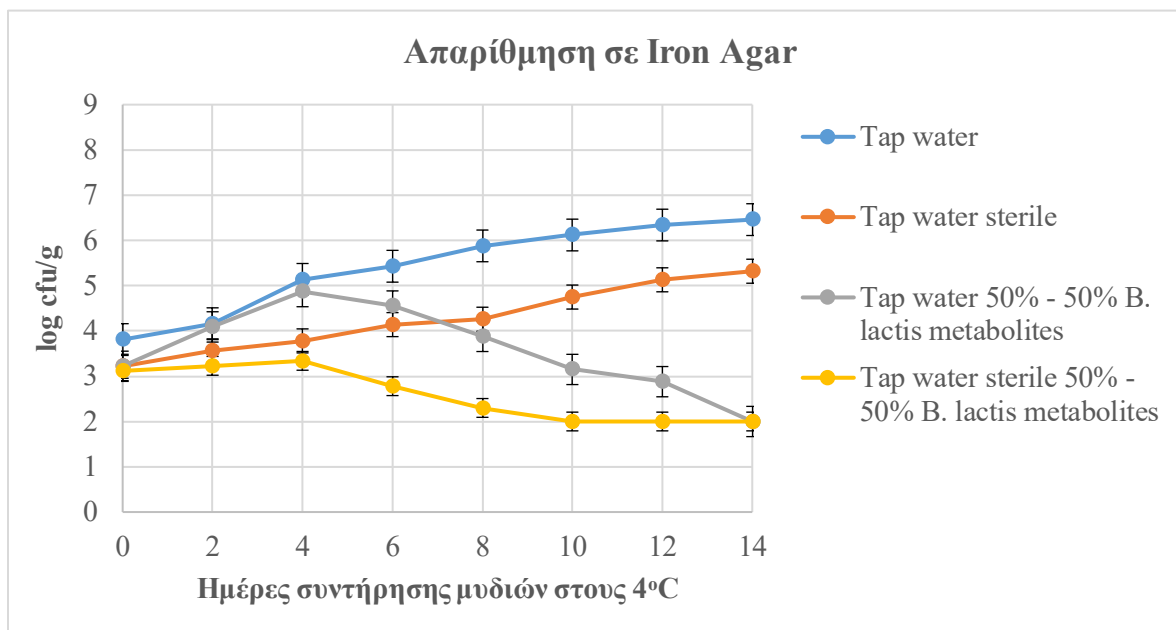
Όσον αφορά τις μεταχειρίσεις Γ και Δ ενώ το αρχικό επίπεδο (d0) των βακτηρίων *Pseudomonas* spp. ήταν 3,61 και 2,56 log cfu/g αντίστοιχα, την ημέρα απόρριψης (d8) των μυδιών της μεταχείρισης Γ τα επίπεδα των παραπάνω βακτηρίων έφτασαν στις δύο μεταχειρίσεις 5,98 και 3,25 log cfu/g αντίστοιχα με τη μεταξύ τους διαφορά να είναι 2,73 log cfu/g.

Με βάση τα παραπάνω εξάγεται το συμπέρασμα ότι ο πληθυσμός των βακτηρίων *Pseudomonas* spp. ήταν αρκετά μικρότερος στις μεταχειρίσεις που περιείχαν μεταβολίτες (Β και Δ) σε σχέση με τους μάρτυρες (Α και Γ), με τη διαφορά να είναι μεγαλύτερη από 2 log cfu/g σε όλη τη διάρκεια αποθήκευσης των μυδιών μέχρι την ημέρα της απόρριψης των δειγμάτων των μεταχειρίσεων.

Υδροθιοπαραγωγά βακτήρια

Οι διακυμάνσεις των πληθυσμών των βακτηρίων που παράγουν H_2S για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C παρουσιάζονται στην εικόνα 10. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Υδροθειοπαραγωγά βακτήρια



Εικόνα 10: Πληθυσμιακές μεταβολές των υδροθειοπαραγωγών βακτηρίων, για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Η αρχική πληθυσμιακή πυκνότητα (d0) των υδροθειοπαραγωγών βακτηρίων ήταν για τις μεταχειρίσεις χωρίς μεταβολίτες Α: 3,81 log cfu/g, Γ: 3,22 log cfu/g ακολουθώντας συνεχόμενη ανοδική πορεία και οι δύο μεταχειρίσεις και φτάνοντας την 8^η ημέρα (d8, ημέρα απόρριψης) στα επίπεδα 5,88 και 4,26 log cfu/g αντίστοιχα. Δηλαδή η μεταχείριση Γ (με το αποστειρωμένο νερό) την ημέρα απόρριψης είχε μειωμένο πληθυσμό των παραπάνω βακτηρίων κατά 1,62 log cfu/g σε σχέση με την Α (με το νερό βρύσης).

Στις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες, ο πληθυσμός των H₂S βακτηρίων την ημέρα 0 (d0) ήταν για τη Β: 3,22 log cfu/g και για τη Δ: 3,11 log cfu/g. Μέχρι την 4^η ημέρα αποθήκευσης παρατηρήθηκε μικρή αύξηση των πληθυσμιακών επιπέδων των παραπάνω βακτηρίων και για τις δύο μεταχειρίσεις (4,87 και 3,84 log cfu/g αντίστοιχα) ενώ κατόπιν υπήρξε σημαντική μείωσή τους που έφτασε στα επίπεδα των 2,88 και 2,00 log cfu/g αντίστοιχα, την ημέρα απόρριψης των δειγμάτων (d12) των παραπάνω μεταχειρίσεων.

Ενώ η αρχική πληθυσμιακή πυκνότητα (d_0) των υδροθειούχων βακτηρίων των μεταχειρίσεων Α και Β δεν είχε μεγάλη διαφορά 3,81 και 3,22 log cfu/g αντίστοιχα, την 8^η ημέρα αποθήκευσης (ημέρα απόρριψης των δειγμάτων της Α μεταχείρισης) η μεταχείριση Α είχε αυξημένα επίπεδα των παραπάνω βακτηρίων κατά 2 log cfu/g σε σχέση με τη Β (η Α: 5,88 log cfu/g και η Β: 3,88 log cfu/g).

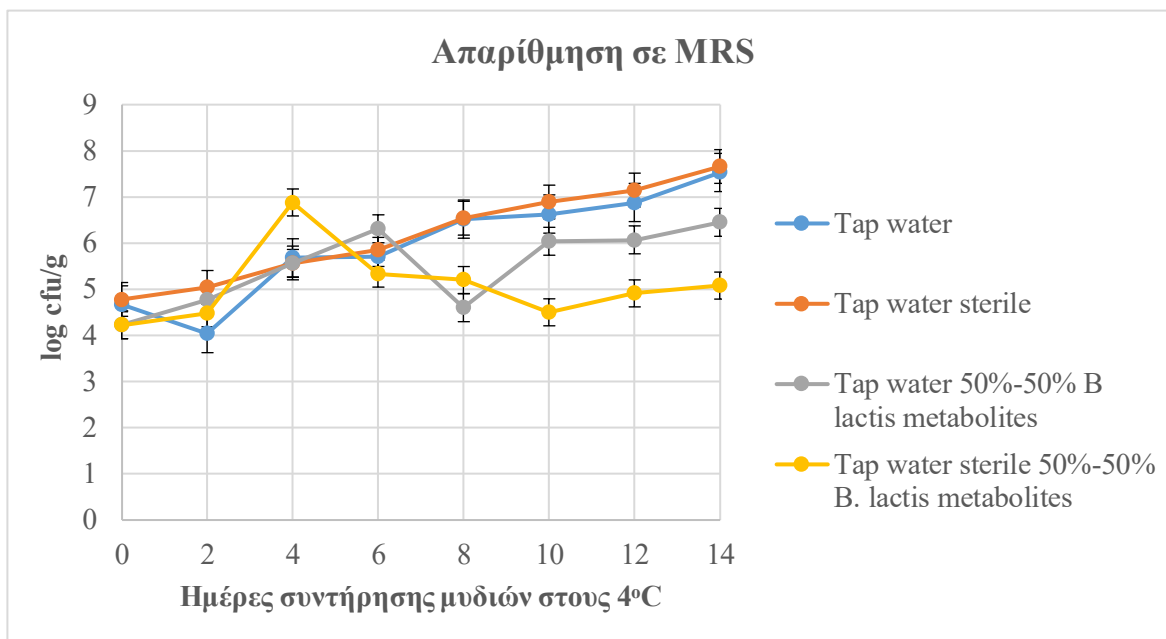
Ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα για τις μεταχειρίσεις Γ και Δ δηλαδή ενώ τα αρχικά πληθυσμιακά επίπεδα των H_2S βακτηρίων την ημέρα 0 ήταν 3,22 και 3,11 log cfu/g αντίστοιχα, οι πληθυσμοί των βακτηρίων της μεταχείρισης Γ αυξήθηκαν φτάνοντας την 8^η ημέρα αποθήκευσης (ημέρα απόρριψης) στο επίπεδο των 4,26 log cfu/g και της μεταχείρισης Δ στο επίπεδο των 2,30 log cfu/g με τη μεταξύ τους διαφορά να είναι 1,96 log cfu/g.

Για τα υδροθειούχα βακτήρια συνοπτικά μπορεί να αναφερθεί ότι στη μεταχείριση Α (νερό βρύσης, χωρίς μεταβολίτες) καταγράφηκε ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός και η μεγαλύτερη πληθυσμιακή αύξηση και ακολούθησε η μεταχείριση Γ (αποστειρωμένο νερό, χωρίς μεταβολίτες). Στις δύο μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες (Β και Δ) υπήρξε μείωση του επιπέδου των H_2S βακτηρίων, με τη μεγαλύτερη να παρατηρείται στη Δ (αποστειρωμένο νερό, με μεταβολίτες).

Οξυγαλακτικά Βακτήρια

Στην εικόνα 11 απεικονίζονται οι πληθυσμιακές μεταβολές των οξυγαλακτικών βακτηρίων, για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Οξυγαλακτικά βακτήρια



Εικόνα 11: Πληθυσμιακές μεταβολές των οξυγαλακτικών βακτηρίων, για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Στις μεταχειρίσεις-μάρτυρες Α και Γ ο αρχικός πληθυσμός (d0) των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 4,66 και 4,78 log cfu/g αντίστοιχα, αυξανόμενος για όλες τις ημέρες αποθήκευσης φτάνοντας στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των δειγμάτων (d8) στα επίπεδα 6,52 και 6,54 log cfu/g αντίστοιχα.

Στις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες Β και Δ τα αρχικά επίπεδα (d0) των LAB βακτηρίων ήταν 4,23 και 4,22 log cfu/g αντίστοιχα και ενώ για τη μεταχείριση Β παρατηρήθηκε αύξηση μέχρι την 6^η ημέρα αποθήκευσης (d6) 6,31 log cfu/g, στη Δ η αύξηση ήταν μέχρι την 4^η ημέρα αποθήκευσης (d4) 6,88 log cfu/g. Κατόπιν το επίπεδο των παραπάνω βακτηρίων για τη Β μεταχείριση ακολούθησε πτωτική πορεία μέχρι την 8^η ημέρα αποθήκευσης και κατόπιν ανοδική φτάνοντας στο 6,07 log cfu/g την ημέρα απόρριψης (d12). Για τη Δ μεταχείριση η πληθυσμιακή πυκνότητα των LAB βακτηρίων μετά την 4^η ημέρα αποθήκευσης ακολούθησε καθοδική πορεία και έφτασε στο επίπεδο 4,91 τη 12^η ημέρα.

Όσον αφορά τις μεταχειρίσεις Α και Β με αρχικό πληθυσμό (d0) οξυγαλακτικών βακτηρίων 4,66 και 4,23 log cfu/g αντίστοιχα, παρατηρήθηκε για την Α μεταχείριση μείωση μέχρι τη 2^η ημέρα αποθήκευσης (4,04 log cfu/g) και κατόπιν ανοδική πορεία μέχρι την ημέρα απόρριψης των δειγμάτων (d8) στο επίπεδο των 6,52 log cfu/g. Αντίθετα στη μεταχείριση Β υπήρξε αύξηση των παραπάνω πληθυσμιακών επιπέδων μέχρι την 6^η ημέρα αποθήκευσης (6,31 log cfu/g) ενώ μετά ακολούθησε πτωτική τάση μέχρι την 8^η ημέρα (4,60 log cfu/g) και ανοδική μέχρι την ημέρα απόρριψης (d12) των μυδιών αυτής της μεταχείρισης (6,07 log cfu/g). Αξιοσημείωτη είναι η πληθυσμιακή διαφορά των LAB βακτηρίων μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων την d8 (ημέρα απόρριψης των δειγμάτων της Α μεταχείρισης). Η μεταχείριση Α: 6,52 log cfu/g και η Β: 4,60 log cfu/g δηλαδή η Α είχε αυξημένα επίπεδα βακτηρίων LAB κατά 1,92 log cfu/g σε σχέση με τη Β.

Για τη μεταχείριση Γ ο αρχικός βακτηριακός πληθυσμός LAB (d0) ήταν 4,78 log cfu/g με πληθυσμιακό επίπεδο την ημέρα απόρριψης (d8) 6,54 log cfu/g ενώ για τη Δ τα επίπεδα ήταν για d0: 4,22 log cfu/g, για d8: 5,20 log cfu/g και για τη d12(ημέρα απόρριψης των δειγμάτων της μεταχείρισης): 4,91 log cfu/g. Η πληθυσμιακή διαφορά των LAB βακτηρίων μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων την d8 (ημέρα απόρριψης των δειγμάτων της Γ μεταχείρισης) ήταν 1,34 log cfu/g (για τη Γ: 6,54 και για τη Δ μεταχείριση 5,20 log cfu/g).

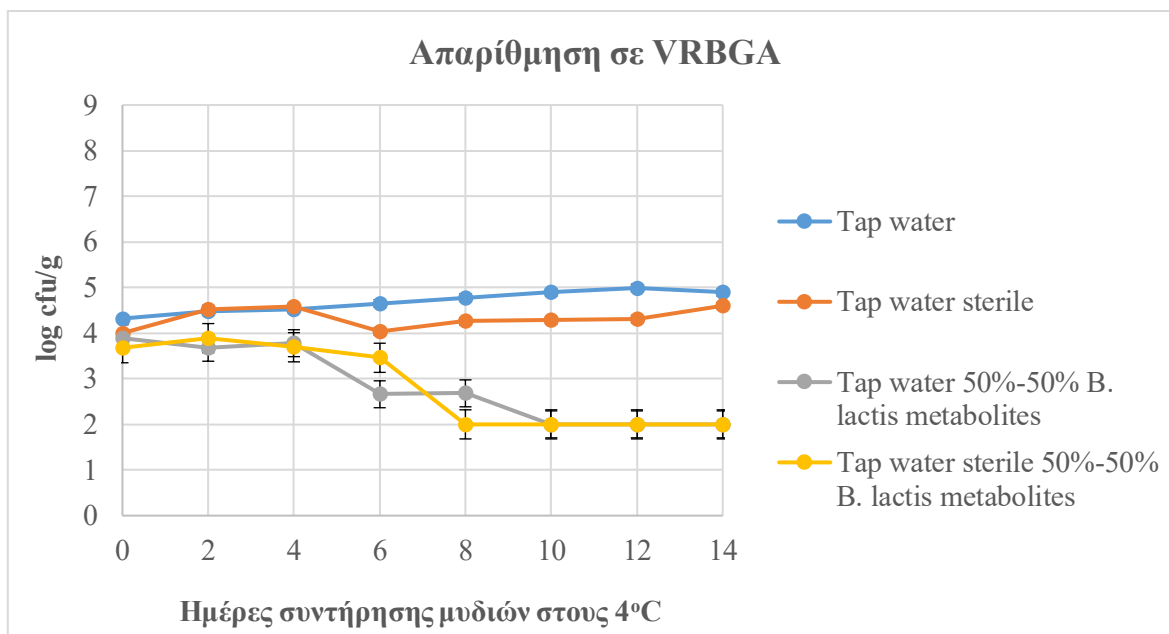
Αναλύοντας τα παραπάνω δεδομένα για τα LAB βακτήρια των παραπάνω μεταχειρίσεων εξάγεται το συμπέρασμα ότι μόνο στη μεταχείριση Γ (αποστειρωμένο νερό) υπήρξε καθαρά μικρή πληθυσμιακή ανοδική πορεία μέχρι την ημέρα απόρριψης των δειγμάτων (d8) ενώ για τη μεταχείριση Α (νερό βρύσης) υπήρξε μικρή πληθυσμιακή μείωση τη 2^η ημέρα αποθήκευσης και μετά ακολούθησε ανοδική πορεία μέχρι την ημέρα απόρριψης (d8), με τους πληθυσμούς των βακτηρίων να είναι παρόμοιοι και στις 2 μεταχειρίσεις την ημέρα της απόρριψης των δειγμάτων (για Α: 6,52 και για Γ: 6,54 log cfu/g) . Όσο αφορά τις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες (Β,Δ)

για τη μεταχείριση Β (νερό, μεταβολίτες) παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων των βακτηρίων μέχρι την 6^η ημέρα αποθήκευσης και ακολούθησε μείωση την 8^η και αύξηση μέχρι την ημέρα απόρριψης των δειγμάτων (d12: 6,07 log cfu/g), για τη Δ μεταχείριση (αποστειρωμένο νερό, μεταβολίτες) η αύξηση ήταν μέχρι την 6^η ημέρα και μετά ακολούθησε μείωση μέχρι την ημέρα απόρριψης να φτάνει στο χαμηλότερο επίπεδο σε σχέση με όλες τις παραπάνω μεταχειρίσεις d12: 4,91 log cfu/g.

Βακτήρια Οικογένειας Enterobacteriaceae

Οι πληθυσμιακές μεταβολές των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae για τις 4 μεταχειρίσεις κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C αποτυπώνονται στην εικόνα 12.. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Βακτήρια οικογένειας Enterobacteriaceae



Εικόνα 12: Πληθυσμιακές μεταβολές των βακτηρίων Enterobacteriaceae, για τις 4 μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μυδιών στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων.

Οι αρχικοί πληθυσμοί των παραπάνω βακτηρίων(d0) για τις μεταχειρίσεις Α και Γ ήταν 4,32 και 4,00 log cfu/g αντίστοιχα ενώ ακολούθησαν μικρή ανοδική πορεία και κινήθηκαν σε παρόμοια επίπεδα σε όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης των δειγμάτων φτάνοντας την ημέρα απόρριψής τους (d8) σε επίπεδα 4,78 και 4,26 log cfu/g αντίστοιχα.

Στις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες Β και Δ τα αρχικά επίπεδα (d0) των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae ήταν 3,89 και 3,67 log cfu/g αντίστοιχα, φτάνοντας την ημέρα απόρριψης (d12) και στις δύο μεταχειρίσεις στα επίπεδα των 2,00 log cfu/g.

Στις μεταχειρίσεις Α και Β η αρχική πληθυσμιακή πυκνότητα (d0) των παραπάνω βακτηρίων ήταν 4,32 και 3,89 log cfu/g αντίστοιχα και ενώ στην Α μεταχείριση υπήρξε ανοδική πορεία στη Β καθοδική φτάνοντας την 8^η ημέρα αποθήκευσης (d8,ημέρα απόρριψης των μυδιών της Α μεταχείρισης) στα επίπεδα των 4,78 και 2,68 log cfu/g αντίστοιχα (μειωμένα επίπεδα βακτηρίων στη Β μεταχείριση σε σχέση με την Α κατά 2,10 log cfu/g). Η Β μεταχείριση την τελευταία ημέρα εμπορικού χρόνου ζωής των μυδιών(d12) είχε φτάσει στο επίπεδο των 2,00 log cfu/g.

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν για τις Γ και Δ μεταχειρίσεις δηλαδή η αρχική πληθυσμιακή πυκνότητα (d0) των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae ήταν 4,00 και 3,67 log cfu/g αντίστοιχα, στη Γ μεταχείριση υπήρξε ανοδική πορεία στη Δ καθοδική φτάνοντας την 8^η ημέρα αποθήκευσης (d8,ημέρα απόρριψης των μυδιών της Γ μεταχείρισης) στα επίπεδα των 4,26 και 2,00 log cfu/g αντίστοιχα (μειωμένα επίπεδα βακτηρίων στη Δ μεταχείριση σε σχέση με την Γ κατά 2,26 log cfu/g).

Σύμφωνα με τα προαναφερόμενα, τα πληθυσμιακά επίπεδα των βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae ήταν μεγαλύτερα στις μεταχειρίσεις χωρίς την προσθήκη μεταβολιτών (Α, Γ) σε σχέση με τις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες (Β,Δ) και η διαφορά τους

ξεπέρασε το επίπεδο των 2,00 log cfu/g κατά την ημέρα απόρριψης των δειγμάτων των μεταχειρίσεων.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η χημική σύσταση των αλιευμάτων (υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, υψηλός συντελεστής ενεργότητας νερού (a_w) και υψηλό pH), τα καθιστούν ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών (Leroi & Joffraud, 2011) ενώ η μικροβιακή αλλοίωση αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία απώλειας αλιευμάτων παγκοσμίως. Η άμεση ψύξη των αλιευτικών προϊόντων επιβραδύνει τις διεργασίες αλλοίωσης (αυτολυτικές, μικροβιολογικές, χημικές) όμως δεν μπορεί να τις αποτρέψει (Sampels, 2015) και για αυτό θα πρέπει να ολοκληρώνεται με άλλη μέθοδο συντήρησης π.χ: ο χρόνος συντήρησης των μυδιών στην ψύξη 4°C είναι 4 ημέρες μετά αλλοιώνονται και είναι ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση (Pastoriza et al, 2004). Για αυτό το λόγο, έχουν μελετηθεί διάφορες μέθοδοι συντήρησης συμπεριλαμβανομένων της χρήσης αντιμικροβιακών ουσιών (αιθέρια έλαια και φυτικά εκχυλίσματα, οργανικά οξέα, βακτηριοσίνες), και συσκευασίας, που έχουν σκοπό τη διατήρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των αλιευμάτων για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και συνεπώς την επιμήκυνση του εμπορικού χρόνου ζωής τους.

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει μία διαφορετική προσέγγιση στη συντήρηση των τροφίμων με την εφαρμογή βιοπροστατευτικών μικροοργανισμών ή/και των αντιμικροβιακών μεταβολιτών τους προκειμένου να διατηρηθεί η ποιότητα τους και να παραταθεί ο εμπορικός χρόνος ζωής τους (Kontominas et al., 2021a). Ως βιοσυντηρητικά χρησιμοποιούνται ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια αλλά και προβιοτικά Gram (+), βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*, τα οποία καταβολίζουν τη γλυκόζη και παράγουν γαλακτικό και οξικό οξύ, αμινοξέα και βιταμίνες του συμπλέγματος Β.

Η αρχική πληθυσμιακή πυκνότητα της OMX ακόμα και σε μεταχειρίσεις με αποστειρωμένο νερό υποδηλώνει ότι η ολική μεσόφιλη χλωρίδα προήλθε από το περιβάλλον καλλιέργειας και το μικροβίωμα των μυδιών.

Τα κύρια αλλοιωγόνα βακτήρια στις μεταχειρίσεις χωρίς μεταβολίτες ήταν τα *Pseudomonas* spp. και τα υδροθειούχα, τα οποία κινήθηκαν σε υψηλά επίπεδα στις μεταχειρίσεις-μάρτυρες Α και Γ καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης των μυδιών αποτελώντας τους κυρίαρχους μικροοργανισμούς στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής (d8) αυτών των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τη βιβλιογραφία που αναφέρει ότι η μικροχλωρίδα αλλοίωσης αρκετών ειδών αλιευμάτων που αποθηκεύονται αερόβια σε χαμηλές θερμοκρασίες έχει βρεθεί να είναι κυρίως τα ψυχρότροφα Gram (-) βακτήρια του γένους: *Pseudomonas* και *Shewanella* (H₂S βακτήρια) (Adams & Moss, 1999; Dalgaard, 2003; Gram, 1992; Parlapani, 2021).

Αντίθετα στις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες (Β και Δ) τα *Pseudomonas* spp. και τα H₂S βακτήρια δεν αποτέλεσαν τους κυρίαρχους μικροοργανισμούς στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των δειγμάτων (d12) με επίπεδα για τη Β μεταχείριση: 2,00 και 2,80 log cfu/g και για τη Δ: 2,90 και 2,00 log cfu/g αντίστοιχα. Άρα υπήρξε σημαντική συνεισφορά των μεταβολιτών του προβιοτικού *B. lactis* στον πληθυσμιακό έλεγχο των παραπάνω κύριων ΕΑΜ.

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρέθηκαν να είναι κυρίαρχα σε όλες τις μεταχειρίσεις στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των δειγμάτων, με το μικρότερο επίπεδο να καταγράφεται στη μεταχείριση Δ (d12: 4,91 log cfu/g).

Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να εξηγηθεί με το ότι η αλλοίωση των μαλακίων είναι κυρίως γλυκολυτική (περιέχουν 1-5% γλυκογόνο) και όχι πρωτεολυτική οδηγώντας σε μείωση του pH και σε τέτοιες συνθήκες οξύτητας, στα τελευταία στάδια αλλοίωσης επικρατούν τα βακτήρια των γενών *Enterobacter*, *Lactobacillus* και ορισμένες ζύμες (Kontominas et al., 2021a). Επίσης η

αποθήκευση αλιευμάτων σε χαμηλές θερμοκρασίες μπορεί να ευνοήσει την ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων (Parlapani, 2021) π.χ: οι Chen et al., (2019) μελέτησαν νωπά στρείδια που αποθηκεύτηκαν στην ψύξη και βρήκαν τα σημαντικότερα βακτήρια αλλοίωσης τα *Psychrobacter* και *Psychromonas* ενώ οι Odeyemi et al., (2019) ανίχνευσαν τα παραπάνω βακτήρια σε νωπά μύδια (το *Psychromonas* στα μεσαία στάδια αποθήκευσης ενώ τελικά κυριάρχησε το *Acinetobacter*) ή σε νερό πλήρωσης συσκευασίας (*Psychrobacter*) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης υπό ψύξη.

Τα βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae, βρέθηκαν σε αρκετά χαμηλότερους πληθυσμούς την ημέρα της οργανοληπτικής απόρριψης των δειγμάτων: 4,78 και 4,26 log cfu/g τη d8 για τις μεταχειρίσεις Α και Γ αντίστοιχα και 2,00 log cfu/g τη d12 για τις μεταχειρίσεις Β και Δ. Ο αρχικός μικροβιακός πληθυσμός ήταν για τις μεταχειρίσεις Α και Γ 4,00 και 4,32 log cfu/g ενώ για τις Β και Δ 3,89 και 3,67 log cfu/g αντίστοιχα.

Συνήθως τα βακτήρια *Enterobacter*, *Enterococcus* καταλήγουν στη στήλη νερού από το χερσαίο περιβάλλον (Klase et al., 2019) και στη συγκεκριμένη περίπτωση προήλθαν από την περιοχή συλλογής των δειγμάτων δηλαδή από τη μυδοκαλλιέργεια στη Χαλάστρα Θεσσαλονίκης. Επίσης όπως προαναφέρθηκε στα τελευταία στάδια αλλοίωσης των μαλακίων (γλυκολυτική αλλοίωση) επικρατούν τα βακτήρια των γενών *Enterobacter*, *Lactobacillus* και ορισμένες ζύμες (Kontominas et al., 2021a).

Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι τα μύδια που αποθηκεύθηκαν στους 4°C και προστέθηκαν μεταβολίτες του προβιοτικού *B. lactis* παρουσίασαν μεγαλύτερη διάρκεια εμπορικού χρόνου ζωής κατά 4 ημέρες σε σχέση με τα δείγματα χωρίς τους μεταβολίτες, δηλαδή τα δείγματα των μεταχειρίσεων Α και Γ (μάρτυρες) απορρίφθηκαν βάση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους την 8^η ημέρα ενώ των μεταχειρίσεων με τους μεταβολίτες (Β και Δ) τη 12^η

ημέρα αποθήκευσης τους. Επίσης ήταν εμφανή τα χαμηλότερα επίπεδα των κύριων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών *Pseudomonas* spp και υδροθειοπαραγωγών βακτηρίων στις μεταχειρίσεις με τους μεταβολίτες σε σχέση με τους μάρτυρες.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη, εφαρμόστηκαν μεταβολίτες του προβιοτικού *B. lactis* με νερό δικτύου ή αποστειρωμένο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μύδια που αποθηκεύθηκαν στους 4°C και προστέθηκαν μεταβολίτες παρουσίασαν μεγαλύτερο εμπορικό χρόνο ζωής κατά 4 ημέρες και χαμηλότερο βακτηριακό φορτίο (σε όλους τους μικροοργανισμούς αλλοίωσης που μελετήθηκαν δηλαδή: *Pseudomonas* spp., υδροθειούχα, οξυγαλακτικά και βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae) σε σύγκριση με τους μάρτυρες.

Τα ευρήματα αυτής της μελέτης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για περαιτέρω και εκτενέστερη έρευνα χρήσης των μεταβολιτών του προβιοτικού *B. lactis* για τη συντήρηση των μυδιών.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abbas, K.A.; Saleh, A.M.; Mohamed, A.; Lasekan, O. (2009). The relationship between water activity and fish spoilage during cold storage: A review. *Journal of Food Agriculture and Environment* 7, 86–90
- Abdu, M.; Bereket, A.; Melake, S.; Hamada, M.; Winta, A.; Elham, M., (2018). Fish preservation: A multi-dimensional approach. *MOJ Food Processing & Technology* 6, 303–310.
- Adams, M.R. & Moss, M.O. (1999). Microbiology of primary food commodities. In *Food Microbiology*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, pp. 103–135.
- Ahmed, OM., (2019). Bacteria associated with fresh-water aquaculture tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) in Suez, Egypt. *Food Science and Nutrition Research* 2:1-7.
- Anagnostopoulos D., Parlapani F., Boziaris I., (2022). The evolution of knowledge on seafood spoilage microbiota from the 20th to the 21st century: Have we finished or just begun? *Trends in Food Science & Technology* 120 (2022) 236–247.
- Antunes P, Campos J, Mourao J, Pereira J, Novais C, Peixe L., (2018). Inflow water is a major source of trout farming contamination with *Salmonella* and multidrug resistant bacteria. *Science of The Total Environment*, 642:1163-1171..
- Baptista, R. C., Horita, C. N., & Sant’Ana, A. S. (2020). Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: A review. *Food Research International*, 127, 108762. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108762>.
- Benner, R. A., Staruszkiewicz, W. F., & Otwell, W. S. (2004). Putrescine, cadaverine, and indole production by bacteria isolated from wild and aquacultured penaeid shrimp stored at 0, 12, 24, and 36°C. *Journal of Food Protection*, 67(1), 124–133. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.1.124>.
- Boziaris, I. S., & Parlapani, F. F. (2017). Specific Spoilage Organisms (SSO) in Fish. In A. Bevilacqua, M. R. Corbo, M. Sinigaglia, & R. Sykes (Eds.), *Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers* (pp. 60–887). Elsevier, Woodhead Publishing.
- Boziaris, I.S. (2014). Current trends on the study of microbiological spoilage of fresh fish. *Fisheries and Aquaculture Journal* 6, 1000e115.
- Cao, J., Wang, Q., Ma, T., Bao, K., Yu, X., Duan, Z., et al. (2020a). Effect of EGCG-gelatin biofilm on the quality and microbial composition of tilapia fillets during chilled storage. *Food Chemistry*, 305..

- Chaillou, S., Chaulot-Talmon, A., Caekebeke, H., Cardinal, M., Christeans, S., Denis, C., et al. (2015). Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. *The ISME Journal*, 9(5), 1105–1118. .
- Chatzidaki, M. D., Balkiza, F., Gad, E., Alexandraki, V., Avramiotis, S., Georgalaki, M., Xenakis, A. (2019). Reverse micelles as nano-carriers of nisin against foodborne pathogens. Part II: The case of essential oils. *Food Chemistry*, 278(November 2018), 415–423. .
- Chen, H., Wang, M., Yang, C., Wan, X., Ding, H. H., Shi, Y., et al. (2019). Bacterial spoilage profiles in the gills of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) and Eastern oysters (*C. virginica*) during refrigerated storage. *Food Microbiology*, 82, 209–217. [https:// doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.008](https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.008).
- Cheng, J.H.; Sun, D.W.; Pu, H.; Zhu, Z. (2015). Development of hyperspectral imaging coupled with chemometric analysis to monitor K-value for evaluation of chemical spoilage in fish fillets. *Food chemistry* 185, 245–253.
- Chinivasagam, H. N., Bremner, H. A., Thrower, S. J., & Nottingham, S. M. (1996). Spoilage pattern of five species of australian prawns: Deterioration is influenced by environment of capture and mode of storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 5(1), 25–50. .
- Connell, J.J. (2017). *Control of Fish Quality*, 4th ed.; JohnWiley and Sons: Hoboken, NJ, USA.
- Cotter, P.D.; Hill, C.; Ross, R.P. (2005). Bacteriocins: Developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*. 10, 777–788.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Infectious Diseases*, 12, 564–582.
- da Silva Vieira, G.R.A.; Soares, M.; Boliva Ramírez, N.C.; Schleder, D.D.; Corre da Silva, B.; Pedreira Mouriño, J.L.; Andreato, E.R.; do Nascimento Vieira, F. (2016). Lactic acid bacteria used as preservative in fresh feed for marine shrimp maturation. *Pesquisa agropecuária Brasil*, 5, 1799–1805. .
- Dalgaard, P. (2003). Spoilage of seafood. In B. Caballero, L. Trugo, & P. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of food science and nutrition* (pp. 2462–2472). London: Academic Press.
- Dalgaard, P., Gram, L., & Huss, H. H. (1993). vacuum or modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 19. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(93\)90020-h](https://doi.org/10.1016/0168-1605(93)90020-h), 283–94.
- Dalgaard, P.; Madsen, H.L.; Samieian, N.; Emborg, J. (2006). Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish (*Belone belone*) effect of modified atmosphere packaging and previous frozen storage. *Journal of applied microbiology*. 101, 80–95.

- de Lira, A. D., de Castro, I. M. S., Mann, M. B., Mallmann, L. P., Kothe, C. I., Varela, A. P. M., et al. (2020). Evaluating *Sardinella brasiliensis* quality indicators through the quantification of histamine and bacterial communities. *Heliyon*, 6(8). .
- Doyle, M.P.; Beuchat, L.R.; Montville, T.J. (2001). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 2nd ed.; ASM Press: Washington, DC, USA, pp. 91–105.
- Drosinos, E. H., & Nychas, J. G. E. (1996). *Brochothrix thermosphacta*, a dominant organism in Mediterranean fresh fish (*Sparus aurata*) stored under modified atmosphere. *Italian Journal of Food Science*, 4, 323–329.
- Duan S, Zhou X, Xiao H, Miao J, Zhao L., (2019). Characterization of bacterial microbiota in tilapia fillets under different storage temperatures. *Journal of Food Science*, 84:1487-1493 <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.14630>.
- Duncan, P.F. (2003). *Aquaculture of Commercially Important Molluscs and Crustaceans*, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Elsevier Science and Technology Books, pp 5245 – 525.
- Erkan, N., (2005). Changes in quality characteristics during cold storage of shucked mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and selected chemical decomposition indicators, *Science Food Agriculture* (85) p:2625-2630.
- EU. Commission Regulation No 1129/2011 of 11 November 2011 Amending Annex II to Regulation (EC) No1333/2008 of the European Parliament and of the Council by Establishing a Union List of Food Additives. Available online:.
- Eurostat, (2022). Your key to European statistics. Available at https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Aquaculture_statistics#EU_Aquaculture.
- FAO, (2020). *The state of World Fisheries and Aquaculture 2020*. Rome: Sustainability in action. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>, 2020.
- FAO, (1997). Reduction of wastage in fisheries. *Info Fish Int.*;3:14.
- FAO, (2024). The state of world fisheries and aquaculture. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Διαθέσιμο: <https://openknowledge.fao.org/items/06690fd0-d133-424c-9673-1849e414543d>.
- Felis G. and Dellaglio F., (2015). Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Current issues in intestinal microbiology*. 8: 44–61.
- Francoise, L. (2010). Occurance and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food microbiology*, 27, 698–709.

- Fraser, O. & Sumar, S. (1998). Compositional changes and spoilage in fish. *Nutrition & Food Science* 5, 275–279.
- Ghaly, A.E.; Dave, D.; Budge, S.; Brooks, M.S. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review. *American Journal of Applied Sciences* 7, 859–877.
- Gram, L. (1992). Evaluation of the bacteriological quality of seafood. *International Journal of Food Microbiology*, 16, 25–39. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(92\)90123-K](https://doi.org/10.1016/0168-1605(92)90123-K)
- Gram, L., & Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria - problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(3), 262–266. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00309-9](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00309-9).
- Gram, L., & Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 605, 121–137. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1113-3_7.
- Gutierrez A, Lozano G, Hardisson A, Rubio C, Gonzalez T, (2004). Content of toxic and essential metals in canned mussels commonly consumed in Tenerife, Canary Islands, Spain. *Journal of Food Protection*, 67(7):1526-1532.
- Halstead, F. D., Rauf, M., Moimen, N. S., & Bamford, A. (2015). The antibacterial activity of acetic acid against biofilm-producing pathogens of relevance to burns patients. *PLoS ONE*, 10(9), 1–15. DOI:10.1371/journal.pone.0136190.
- Hassoun, A., Çoban, Ö.E. (2017). Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. *Trends in Food Science & Technology*. Vol 68, pp 26-36.
- Heinsz, L. J., Harrison, M. A., & Leiting, V. A. (1988). Microflora of brown shrimp (*Penaeus aztecus*) from Georgia coastal waters. *Food Microbiology*, 5(3), 141–145.
- Huang W. & Xie J., (2020). Characterization of the volatiles and quality of Hybrid Grouper and their relationship to changes of microbial community during storage at 4°C. *Molecules* 2020, 25:818 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25040818>.
- Huang, Z., Liu, X., Jia, S., Zhang, L., & Luo, Y. (2018). The effect of essential oils on microbial composition and quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during chilled storage. *International Journal of Food Microbiology*, 266, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.003>. July 2017.
- Huis in't Veld, J.H.J. (1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 1–18.

- Hultin, H.O., (1994). Oxidation of lipids in seafoods. In *Seafoods Chemistry, Processing Technology and Quality*, 1st ed.; Shahidi, F., Botta, J.R., Eds.; Blackie Academic and Professional: London, UK, pp. 49–74
- Hyldgaard, M.; Mygind, T.; Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Environmental Microbiology*, 3, 12.
- Jaaskelainen, E., Jakobsen, L.M.A., Hultman, J., Eggers, N., Bertram, H.C., Bjorkroth, J., (2019). Metabolomics and bacterial diversity of packaged yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and salmon (*Salmo salar*) show fish species-specific spoilage development during chilled storage. *International Journal of Food Microbiology* 293:44-52 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.021>.
- Jeyasekaran, G., Ganesan, P., Anandaraj, R., Jeya Shakila, R., & Sukumar, D. (2006). Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice. *Food Microbiology*, 23(6), 526–533..
- Kiriazzi – Papadopoulou A., Varelzis K. (2003), «Development of suitable technology for the canning of smoked Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in tomatoe juice», *Journal of Hellenic Veterinary Medicine Society*, 54 (2) : 131 – 139.
- Klase G, Lee S, Liang S, Kim J, Zo Y-G, Lee J., (2019). The microbiome and antibiotic resistance in integrated fishfarm water: Implications of environmental public health. *Science of The Total Environment*. 649:1491-1501
- Kontominas, M.G., (2014). Packaging: Modified atmosphere packaging of foods. In *Encyclopedia of Food Microbiology*; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands,; pp. 1012–1016. ISBN 9780123847331.
- Kontominas, M.G., Badeka, A.V., Kosma, I.S., Nathanailides, C.I., (2021b). Recent Developments in Seafood Packaging Technologies *Foods*, 10(5), 940.
- Kontominas, M.G.; Badeka, A.V.; Kosma, I.S.; Nathanailides, C.I., (2021a). Innovative Seafood Preservation Technologies: Recent Developments. *Animals* 2021, 11, 92..
- Kuuliala, L., Al Hage, Y., Ioannidis, A. G., Sader, M., Kerckhof, F. M., Vanderroost, M., et al. (2018). Microbiological, chemical and sensory spoilage analysis of raw Atlantic cod (*Gadus morhua*) stored under modified atmospheres. *Food Microbiology*, 70, 232–244..

- Leroi, F., & Joffraud, J. J. (2011). Microbial degradation of seafood. *Aquaculture Microbiology and Biotechnology*, 2, 47–72..
- Li, M.; Lin, J.; Chen, J.; Fang, T., (2016). Pulsed electric field-assisted enzymatic extraction of protein from abalone (*Haliotis Discus Hannai* Ino) viscera. *Journal of Food Engineering*, 39, 702–710.
- Li, Q, Zhang, L, Luo, Y., (2018b). Changes in microbial communities and quality attributes of white muscle and dark muscle from common carp (*Cyprinus carpio*) during chilled and freeze- chilled storage. *Food microbiology* 2018, 73:237e [http://dx.doi.org/ 10.1016/j.fm.2018.01.011](http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.011).
- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X., & Zhao, J. (2012). Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry*, 135(1), 140–145.
- Li, T., Sun, X., Chen, H., He, B., Mei, Y., Wang, D., et al. (2020). Effect of the combination of vanillin and chitosan coating on the microbial diversity and shelf-life of refrigerated turbot (*Scophthalmus maximus*) filets. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- Liston, J. (1980). Microbiology in fishery science. In *Advances in Fish Science and Technology*; Connell, J.J., Ed.; Fishing News Books Ltd.: Farnham, UK,; pp. 138–157.
- Liu, Q., Zhang, M., Bhandari, B., Xu, J., & Yang, C., (2020). Effects of nanoemulsion-based active coatings with composite mixture of star anise essential oil, polylysine, and nisin on the quality and shelf life of ready-to-eat Yao meat products. *Food Control*, 107(March 2019), 106771. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106771>.
- Matamoros, S.; Leroi, F.; Cardinal, M.; Gigout, F.; Kasbi Chadli, F.; Cornet, J.; Prevost, H.; Pilet, M.F. (2009). Psychrotrophic lactic acid bacteria used to improve the safety and quality of vacuum-packaged cooked and peeled tropical shrimp and cold-smoked salmon. *Journal of Food Protection*, 72, 365–374.
- Merdzhanova, A., Dobрева, D. A., Georgieva, S., (2016). Nutritional evaluation of aquaculture mussels (*M. galloprovincialis*) from the Black Sea, Bulgaria. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 27(1) 1-7.
- Minich JJ, Poore GD, Jantawongsri K, Johnston C, Bowie K, Bowman J, Knight R, Nowak B, Allen EE., (2020). Microbial ecology of atlantic salmon (*Salmo salar*) hatcheries: impacts of the built environment on fish mucosal microbiota. *Applied and environmental microbiology*, 86:e00411-20 <http://dx.doi.org/10.1128/ AEM.00411-20>.

- Møretrø, T., Moen, B., Heir, E., Hansen, A., & Langsrud, S. (2016). Contamination of salmon fillets and processing plants with spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 98–108.
- Ng, C., Chen, H., Goh, S.G., Haller, L., Wu, Z., Charles, F.R., Trottet, A., Gin, K., (2018). Microbial water quality and the detection of multidrug resistant *E. coli* and antibiotic resistance genes in aquaculture sites of Singapore. *Marine Pollution Bulletin*, 135:475–480 <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.055>.
- No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., & Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 65–72.
- Novak, J., Draxler, L., Göhler, I., & Franz, C. M. (2005). Essential oil composition of *Vitex agnus-castus* — comparison of accessions and different plant organs. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 186–192.
- Nychas, G.-J. E., & Panagou, E. (2011). Microbiological spoilage of foods and beverages. *Food and Beverage Stability and Shelf-Life*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857092540.1.3>.
- Odeyemi, O.A., Burke, C.M., Bolch, C.C.J., Stanley, R., (2019). Spoilage microbial community profiling by 16S rRNA amplicon sequencing of modified atmosphere packaged live mussels stored at 4°C. *Food Research International*, 121:568-576 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.017>.
- Olaimat, A. N., Al-nabulsi, A. A., Osaili, T. M., Al-holy, M., Ayyash, M. M., Mehyar, G. F., Abu, M. (2017). Survival and inhibition of *Staphylococcus aureus* in commercial and hydrated tahini using acetic and citric acids. *Food Control*, 77, 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.022>.
- Onjong, H.A., Ngayo, M.O., Mwaniki, M., Wambui, J., Njage, P.M.K., (2018). Microbiological safety of fresh tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Kenyan fresh water fish value chains. *J Food Prot* 2018, 81:1973-1981
- Papadopoulou, C.; Economou, E.; Zakas, G.; Salamoura, C.; Dontorou, C.; Apostolou, J., (2007). Microbiological and pathogenic contaminants of seafood in Greece. *Journal of Food Quality*. 30, 28–42.
- Parlapani, F. F. (2021). Microbial diversity of seafood. *Current Opinion in Food Science*, 37, 45–51..

- Parlapani, F. F., & Boziaris, I. S. (2016). Monitoring of spoilage and determination of microbial communities based on 16S rRNA gene sequence analysis of whole sea bream stored at various temperatures., *LWT - Food Science and Technology* 66, 553–559. .
- Parlapani, F. F., Ferrocino, I., Michailidou, S., Argiriou, A., Haroutounian, S. A., Kokokiris, L., et al. (2020). Microbiota and volatilome profile of fresh and chill-stored deepwater rose shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *Food Research International*, 132, 1–8..
- Parlapani, F. F., Kormas, K. A., & Boziaris, I. S. (2015). Microbiological changes, shelf-life and identification of initial and spoilage microbiota of sea bream fillets stored under various conditions using 16S rRNA gene analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(12), 2386–2394.
- Parlapani, F. F., Meziti, A., Kormas, K. A., & Boziaris, I. S. (2013). Indigenous and spoilage microbiota of farmed sea bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis. *Food Microbiology*, 33(1), 85–89. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.00>.
- Parlapani, F. F., Michailidou, S., Anagnostopoulos, D. A., Koromilas, S., Kios, K., Pasentsis, K., et al. (2019). Bacterial communities and potential spoilage markers of whole blue crab (*Callinectes sapidus*) stored under commercial simulated conditions. *Food Microbiology*, 82, 325–333..
- Parlapani, F. F., Michailidou, S., Anagnostopoulos, D. A., Sakellariou, A. K., Pasentsis, K., Psomopoulos, F., et al. (2018a). Microbial spoilage investigation of thawed common cuttlefish (*Sepia officinalis*) stored at 2°C using next generation sequencing and volatilome analysis. *Food Microbiology*, 76, 518–525.
- Parlapani, F. F., Michailidou, S., Pasentsis, K., Argiriou, A., Krey, G., & Boziaris, I. S. (2018b). A meta-barcoding approach to assess and compare the storage temperature-dependent bacterial diversity of gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) originating from fish farms from two geographically distinct areas of Greece. *International Journal of Food Microbiology*, 278, 36–43.
- Parlapani, F. F., Syropoulou, F., Tsiartsafis, A., Ekonomou, S., Madesis, P., Exadactylos, A., et al. (2020a). HRM analysis as a tool to facilitate identification of bacteria from mussels during storage at 4°C. *Food Microbiology*, 85. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103304>.
- Pastoriza L., Bernardez M., Sampedro G., Cabo M., Herrera J. (2004). Elevated concentrations of oxygen on the stability of live mussel stored refrigerated, *European Food Research Technology*, 218 : 415 – 419

- Pedersen, M.B.; Gaudu, P.; Lechardeur, D.; Petit, M.-A.; Gruss, A., (2012). Aerobic respiration metabolism in lactic acid bacteria and uses in biotechnology. *Review of Food Science and Technology*, 3, 37–58.
- Prudêncio, C.V.; dos Santos, M.T.; Vanetti, M.C.D., (2015). Strategies for the use of bacteriocins in Gram-negative bacteria: Relevance in food microbiology. *Journal of food science and technology*, 52, 5408–5417.
- Ramachandran, P., Reed, E., & Ottesen, A. (2018). Exploring the microbiome of *Callinectes sapidus* (Maryland blue crab). *Genome Announcements*, 6(22), 1–3..
- Rosado D, Perez-Losada M, Severino R, Cable J, Xavier R., (2019). Characterization of the skin and gill microbiomes of the farmed seabass (*Dicentrarchus labrax*) and seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 500:57-64.
- Sampels, S., (2015). The effects of processing technologies and preparation on the final quality of fish products. *Trends in Food Science & Technology*. Vol 44, Issue 2, pp 131-146.
- Silbande, A., Adenet, S., Chopin, C., Cornet, J., Smith-Ravin, J, Rocheforta, K., Leroi, F., (2018). Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the microbiological, chemical and sensory properties of tropical red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets stored at 4 °C. *International journal of food microbiology*, 266:31-41 [http:// dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.015](http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.015).
- Syropoulou, F., Parlapani, F. F., Bosmali, I., Madesis, P., & Boziaris, I. S. (2020). HRM and 16S rRNA gene sequencing reveal the cultivable microbiota of the European sea bass during ice storage. *International Journal of Food Microbiology*, 327(May), 108658..
- Terio, V.; Tantillo, G.; Martella, V.; Pinto, P.D.; Buonavoglia, C.; Kingsley, D.H., (2010). High pressure inactivation of HAV within mussels. *Food and environmental virology*. 2, 83–88.
- Tiwari, B.K.; Valdramidis, V.P.; O'Donnell, C.P.; Muthukumarappan, K.; Bourke, P.; Cullen, P.J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57, 5987–6000.
- Turgis, M., Dang, K., Dupont, C., & Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Research International*, 48(2), 696–702.. 2012.06.016.
- Undeland, I.; Hall, G.;Wendin, K.; Gangby, I.; Rutgersson, A., (2005). Preventing lipid oxidation during recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) fillets by an acid solubilization process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 5624–5634.

- Vasakou A, Vareltzis K, Bloukas J.G (2003). Effect of sodium lactate and potassium sorbate on quality characteristics and shelf-life of Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* meat during chilled storage in pouches with water, *Italian Journal Food Science* (15), p: 359-360.
- Vaught KC (1989), A classification of the living mollusca. R T Abbot and KS Boss (Edito). American Malacologists Inc.
- Wu, T., Wu, C., Fang, Z., Ma, X., Chen, S., & Hu, Y. (2017). Effect of chitosan microcapsules loaded with nisin on the preservation of small yellow croaker. *Food Control*, 79, 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.016>.
- Xi, D.; Liu, C.; Su, Y., (2012). Effects of green tea extract on reducing *Vibrio parahaemolyticus* and increasing shelf life of oyster meats. *Food Control*, 25, 368–373.
- Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(1), 6–11..
- Ye, M.; Huang, Y.; Chen, H., (2012). Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in oysters by high-hydrostatic pressure and mild heat. *Food Microbiol.* 32, 179–184.
- Zhang J, Chen M, Huang J, Guo X, Zhang Y, Liu D, Wu Ribang, He H, Wang J. (2019a). Diversity of the microbial community and cultivable protease-producing bacteria in the sediments of the Bohai Sea, Yellow Sea and South China Sea. *PLoS One*, 14:e0215328.
- Zhang, J., Li, Y., Liu, X., Lei, Y., Regenstein, J.M., Luo, Y., (2019b). Characterization of the microbial composition and quality of lightly salted grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets with vacuum or modified atmosphere packaging. *International journal of food microbiology*, 293:87-93 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.022>.
- Zhou, Y.; He, Q.; Zhou, D., (2017). Optimization extraction of protein from mussel by high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation.* 41, e12962.
- Zotta, T., Parente, E., Ianniello, R. G., De Filippis, F., & Ricciardi, A. (2019). Dynamics of bacterial communities and interaction networks in thawed fish fillets during chilled storage in air. *International Journal of Food Microbiology*, 293, 102–113. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.008>.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βαρελτζής Κ., (1999). Ποιοτικός Έλεγχος και Τεχνολογία Αλιευμάτων. ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΠΑΙΔΕΙΑ, σελ.141 – 144.
- ΕΣΥΕ, 2022. Έρευνα υδατοκαλλιεργειών (Αθήνα). <https://www.statistics.gr/el/statistics/-/publication/SPA06/->.
- Κολίσης, Φ., & Μαμμά, Δ. (2023). Εισαγωγή στη Συστημική και Συνθετική Βιοτεχνολογία., Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις. Creative Commons <http://dx.doi.org/10.57713/kallipos-114>
- Καναβούρας, Α., (2015). *Εισαγωγικές σημειώσεις σε θέματα υλικών συσκευασίας*. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο.
- Λαζαρίδου -Δημητριάδου Μ., (1992). Γενική Ζωολογία. ΓΙΑΧΟΥΔΗ, σελ.164 – 178.
- Μουρατίδου Θ., (2005). «Μελέτη της συσσώρευσης του οκαδικού οξέος σε μύδια καλλιέργειας (*Mytilus galloprovincialis*) στο φυσικό τους περιβάλλον. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.
- Τριανταφύλλου Ε., (2014). Μελέτη της επίδρασης του αιθέριου ελαίου ρίγανης σε μύδια που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα κατά τη συντήρησή τους στην ψύξη και κατά του *Vibrio parahaemolyticus*. Μεταπτυχιακή διατριβή, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα.
- Τσιαρτσάφης Α., (2022). Πηγές μικροβιακής επιμόλυνσης και ιχνηλάτηση μικροβιακών δεικτών κατά την παραγωγική αλυσίδα μυδιών στον Θερμαϊκό Κόλπο. Μεταπτυχιακή διατριβή, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών. Βόλος.
- Στάικου Α., (2015). Καλλιέργεια δίθυρων μαλακίων. Στο *Υδατοκαλλιέργειες* Βουλτσιάδου Ε. (Επιμ.) (σ.209-239), Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.
- Χατζηλάρη Κ., (2012). Επίδραση της χιτοζάνης στο χρόνο συντήρησης (shelf-life) αποκελυφόμενων μυδιών *Mytilus galloprovincialis*. Μεταπτυχιακή διατριβή, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα.

ABSTRACT

In this study, metabolites produced by the probiotic *Bifidobacterium lactis* were added to filling water in mussel packages in order to prevent microbial growth and prolong the shelf life of mussels under refrigeration at 4°C. To achieve the above purpose, sachets were prepared containing: a) 150ml tap water and mussels, b) 75ml tap water, 75ml cell free liquid culture and mussels, c) 150ml sterile tap water and mussels and d) 75ml sterile tap water, 75ml cell free liquid culture and mussels. According to organoleptic evaluation, mussels treated with metabolites (B, D) had longer shelf life than those treated without metabolites (A, C) (the shelf life for mussels of treatments B, D was 12 days while for A, C: 8 days). Regarding microbial populations, initially, Total Volatile Count (TVC) was at levels of 4.88 and 3.67 log cfu/g for treatments without metabolites (A and C respectively) and 4.67 and 3.56 log cfu/g for treatments with metabolites (B and D respectively) while on the day of organoleptic rejection (day 8) for treatments A and C reached levels of 6.24 and 4.89 log cfu/g respectively and for mussels of B and D (day 12) at levels 4.23 and 3.56 log cfu/g respectively. *Pseudomonas* spp. and H₂S bacteria (including *Shewanella* spp.) were the predominant microorganisms at the end of shelf-life in control treatments (A and C), while this was not the case for treatments with metabolites (B and D). Lactic acid bacteria were found to be dominant in all treatments at the end of shelf-life of samples, with the lowest level recorded in treatment D (day 12: 4.91 log cfu/g). Bacteria of the family Enterobacteriaceae, were found in much lower populations on the day of organoleptic rejection of samples with the lowest levels of 2.00 log cfu/g recorded in treatments B and D. According to the results of this thesis, the addition of metabolites of the probiotic *Bifidobacterium lactis* prolonged the shelf life of mussels at 4°C by 4 days.

Keywords: Probiotics, post-biotics, metabolites, *Bifidobacterium lactis*, shelf life, spoilage microorganisms , mussels.