



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ



ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίδραση εδώδιμων μεμβρανών και υγρού καπνού στην βακτηριακή
αύξηση και εμπορικό χρόνο ζωής τσιπούρας (*Sparus aurata*) κατά την
συντήρηση υπό ψύξη»**

ΤΣΙΡΕΛΗΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ

ΒΟΛΟΣ 2022

«Effect of edible films and liquid smoke on bacterial growth and shelf-life of gilt-head seabream (*Sparus aurata*) during chill storage »

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1) **Ιωάννης Σ. Μποζιάρης**, Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*.
- 2) **Φωτεινή Παρλαπάνη**, Επίκουρος Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.
- 3) **Δημήτριος Κλαουδάτος**, Επίκουρος Καθηγητής Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.

*Στην οικογένειά μου,
Νικόλαο, Ζωή, Ελένη, Δανιήλ & Δέσποινα,
που με ανέχονταν και με βοηθούσαν όταν είχα ανάγκη
και στην γιαγιά μου,
που θα ήθελε πολύ να μπορέσει να με δει στην ορκωμοσία μου.*



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου κ. Μποζιάρη Ιωάννη και κα Παρλαπάνη Φωτεινή, που μου έδωσαν την δυνατότητα να συμβάλω στην πραγματοποίηση ενός τόσο ενδιαφέροντος πειράματος, ενώ επίσης με βοήθησαν να φέρω σε πέρας και την πειραματική αλλά και την γραπτή διαδικασία της εργασίας, μέσα από τις πάντα χρήσιμες συμβουλές τους και την έμπρακτη καθοδήγησή τους.

Επιπλέον, χρωστώ ιδιαίτερες ευχαριστίες στους υποψήφιους διδάκτορες κ. Κακάση Στέφανο και κα. Συροπούλου Φαίδρα, οι οποίοι ήταν πάντα διαθέσιμοι και ανεκτικοί σε περίπτωση που χρειαζόμουν κάποια βοήθεια.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και στους φίλους μου που ήταν συμπαραστάτες μου καθόλη την διάρκεια των σπουδών μου και μου παρείχαν την απαραίτητη ψυχολογική υποστήριξη για να μπορέσω να ξεπεράσω όλες τις δυσκολίες που συνάντησα σε αυτά τα 5 χρόνια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα προπτυχιακή εργασία διερευνήθηκε η επίδραση και η αποτελεσματικότητα των εδώδιμων μεμβρανών με την παρουσία υγρού καπνού, έναντι ορισμένων βακτηρίων που συναντώνται συχνά στα αλιευτικά προϊόντα. Πιο συγκεκριμένα έγινε χρήση δύο (2) διαφορετικών καπνών (G6 και L9) σε εδώδιμα επικαλύμματα αλγινικών, στο εσωτερικό των οποίων εμφαπτίστηκαν φιλέτα τσιπούρας (*Sparus aurata*) των 10 g. Οι πληθυσμιακές μεταβολές των μικροοργανισμών που μετρήθηκαν στο πείραμα ήταν α) ο Ολικός Μικροβιακός Πληθυσμός (OMX), β) τα *Pseudomonas* spp., γ) τα οξυγαλακτικά βακτήρια και δ) τα υδροθειοπαραγωγά βακτήρια. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, τα δείγματα διατηρούνταν υπό ψύξη σε θερμοκρασία 4°C. Όλες οι μεταχειρίσεις ήταν πιο δραστικές, σε σχέση με τον μάρτυρα, στην καθυστέρηση της ανάπτυξης των προαναφερθέντων μικροοργανισμών. Τα αποτελέσματα μετά το πέρας του πειράματος έδειξαν ότι η παρουσία του καπνού στις εδώδιμες μεμβράνες είναι καταλυτική για την προστασία του τροφίμου και συγκεκριμένα ο πιο αποτελεσματικός καπνός είναι ο L9.

Λέξεις-Κλειδιά: εδώδιμα επικαλύμματα, αλγινικά, τσιπούρα, υγρή κάπνιση, ψύξη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1. Αλλοίωση των ιχθύων.....	8
1.2. Μέθοδοι συντήρησης ιχθύων.....	8
1.3. Ειδικοί αλλοιωγόνι μικροοργανισμοί στους ιχθύες.....	12
1.4. Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων.....	13
1.5. Σκοπός της μελέτης.....	14
2. Υλικά και μέθοδοι.....	15
2.1. Προέλευση φιλέτων.....	15
2.2. Γενικός πειραματικός σχεδιασμός.....	15
2.3. Εκτίμηση εμπορικού χρόνου ζωής με οργανοληπτική αξιολόγηση.....	15
2.4. Μικροβιολογική ανάλυση.....	16
3. Αποτελέσματα.....	19
4. Συζήτηση.....	25
5. Συμπεράσματα.....	28
6. Βιβλιογραφία.....	29

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Αλλοίωση των ιχθύων

Ως αλλοίωση τροφίμων θεωρείται κάθε μεταβολή η οποία καθιστά το προϊόν ακατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση (Huis in't Veld, 1996). Υπάρχουν τρεις (3) διαφορετικοί μηχανισμοί οι οποίοι οδηγούν στην αλλοίωση των ιχθύων: α) η μικροβιακή δραστηριότητα, β) η αυτόλυση και γ) η χημική οξείδωση των λιπιδίων τους (Gram & Huss 1996).

Η αλλοίωση των ιχθύων, είναι αποτέλεσμα ορισμένων χημικών αντιδράσεων, όπως η αποδόμηση πρωτεϊνών και λιπιδίων. Αρχικά υφίστανται υποβάθμιση της ποιότητάς τους λόγω μεταβολών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της σάρκας τους, ενώ η διάρκεια ζωής τους καθορίζεται από την μικροβιολογική τους δραστηριότητα. Οι αλλαγές αυτές παρατηρούνται αφότου γίνει αλίευση των ιχθύων, και μπορεί να είναι είτε εύκολα ορατές με γυμνό μάτι (σχηματισμός βλέννας), είτε να είναι δύσκολο να αναγνωριστούν (αλλαγές στην δομή της σάρκας τους). Το κατά πόσο θα αλλοιωθεί ένας ιχθύς από τους μηχανισμούς που προαναφέρθηκαν εξαρτάται και από άλλους παράγοντες, όπως το είδος του ιχθύος, τις θερμοκρασίες στις οποίες συντηρήθηκε και τις πρακτικές χειρισμού του.

1.2 Μέθοδοι συντήρησης ιχθύων

Τα μέτρα τα οποία λαμβάνονται προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι αιτίες που ευθύνονται για την ποιοτική υποβάθμιση ή αλλοίωση των τροφίμων, ορίζονται ως μέθοδοι συντήρησης τροφίμων (food preservation). Αυτές είναι υπεύθυνες για να εξασφαλίσουν στον καταναλωτή ότι τα τρόφιμα είναι ασφαλή για την υγεία του όταν διατηρούνται κάτω από

ορισμένες συνθήκες για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Οι κύριες μέθοδοι συντήρησης ιχθύων είναι:

- Ψύξη
- Κατάψυξη
- Κάπνιση
- Αλάτιση
- Αποστείρωση
- Κονσερβοποίηση
- Χρήση Συσκευασιών Τροποποιημένης Ατμόσφαιρας (MAP)

Κάπνιση

Σε πολλά μέρη του κόσμου, η κάπνιση πρόκειται για μια από τις παραδοσιακές μεθόδους συντήρησης των ιχθύων. Είναι πολύ διαδεδομένη γιατί συνδυάζει τα αποτελέσματα της αλάτισης, της θέρμανσης και της αφυδάτωσης, με τις ιδιότητες του καπνού (αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, κ.ά.) σε μία παραγωγική διαδικασία (Beltrán et al., 1990). Τα ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των καπνιστών ιχθύων, που επιτυγχάνονται με τις διάφορες τεχνολογικές εφαρμογές της κάπνισης, όπως η ψυχρή, η θερμή και η υγρή, αλλά και η μακρόχρονη συντήρησή τους, αποτελούν τους κυριότερους λόγους για τους οποίους οι καπνιστοί ιχθύες έχουν γίνει αποδεκτοί από τους σύγχρονους καταναλωτές, κυρίως στις αναπτυγμένες χώρες (Beltrán et al., 1989).

Ψυχρή κάπνιση

Κατά τη διαδικασία της ψυχρής κάπνισης, τα προϊόντα υφίστανται ξήρανση αντί για ψήσιμο, ενώ συνήθως αλατίζονται με νιτρικά/νιτρώδη άλατα προτού καπνιστούν. Η διαδικασία λαμβάνει χώρα σε θάλαμο, του οποίου η θερμοκρασία κυμαίνεται στους 37°C. Η διάρκειά της μπορεί να είναι ακόμα και μικρότερη από μία μέρα, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις ενδέχεται να φτάσει μέχρι τον ένα μήνα. (Μποζιάρης, 2012)

Θερμή κάπνιση

Η διαδικασία της θερμής κάπνισης χωρίζεται σε δύο (2) στάδια. Στο πρώτο στάδιο και σε θερμοκρασίες από 30°C έως 55°C, οι ιχθύες αφυδατώνονται. Στο δεύτερο στάδιο και σε θερμοκρασίες από 80°C έως 120°C, οι ιχθύες ψήνονται και εκεί γίνεται η κύρια κάπνισή τους. Η θερμοκρασία στο κέντρο του ιχθύος φθάνει σε θερμοκρασίες από 70°C έως 80°C. Για να ολοκληρωθεί η διαδικασία, πριν συσκευαστεί το προϊόν, υφίσταται ψύξη (Μποζιάρης, 2012).

Υγρή κάπνιση

Κατά τη διαδικασία της υγρής κάπνισης πραγματοποιείται ψεκασμός, διαπότιση ή εμβάπτιση σε διάλυμα υγρού καπνού. Ο τύπος αυτός του καπνού μπορεί ακόμα να εισαχθεί στο καπνιστήριο μέσω του συστήματος ανακυκλώσεως του αέρα. Ο υγρός καπνός παράγεται από καπνό καύσης ξύλων έπειτα από συμπύκνωση και κλασματική απόσταξη. Το διάλυμα καπνού διαλύεται σε νερό, λάδι ή οργανικούς διαλύτες. Η χρήση αυτού του είδους καπνού είναι πιο βολική γιατί: α) το κόστος είναι μικρότερο σε σχέση με τα άλλα είδη, β) είναι πιο εύκολο να προσδιοριστούν με ακρίβεια τα ποσοστά των συστατικών αρωμάτων που περιέχονται στο κάθε προϊόν, γ) η γεύση του προϊόντος μπορεί να ελεγχθεί και δεν διαφέρει στην εξωτερική και εσωτερική συγκέντρωση της κάπνισης της πρώτης ύλης (Maga, 1988) και

δ) με την υγρή κάπνιση απομακρύνονται όλα τα πολυκυκλικά αρωματικά υδρογονανθράκων (PAHs) αφού πριν την χρήση τους, τα κλάσματα του καπνού καθαρίζονται (Μποζιάρης, 2012).

Συντήρηση υπό ψύξη

Η θερμοκρασία αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στα τρόφιμα καθώς οι μικροοργανισμοί δεν μπορούν να αναπτυχθούν φυσιολογικά όταν τα προϊόντα διατηρούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, η θερμοκρασία λειτουργεί ως εκλεκτικός παράγοντας καθώς οι κυρίαρχοι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί έχουν το δικό τους θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξης. Γενικότερα, συντήρηση υπό ψύξη έχουμε όταν τα τρόφιμα αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 1 έως 15°C. Τα αλιεύματα, ωστόσο, επειδή θεωρούνται ευαλλοιώτα τρόφιμα, είναι ιδανικό να συντηρούνται σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 0 έως το πολύ 7°C (Μποζιάρης, 2012). Η διάρκεια ζωής των αλιευμάτων υπό ψύξη εξαρτάται από:

- Τη θερμοκρασία ψύξης
- Το αρχικό μικροβιακό φορτίο: όσο μεγαλύτερο τόσο μικρότερη η διάρκεια ζωής, καθώς ο μικροβιακός πληθυσμός φτάνει ταχύτερα στα επίπεδα αλλοίωσης
- Τη λιποπεριεκτικότητα των ιχθύων: η χημική οξείδωση των λιπιδίων καθιστά τα λιπαρά ψάρια πιο ευάλωτα σε αλλοιώσεις, σε σχέση με τα μη λιπαρά
- Το είδος του αλιεύματος: στους ιχθύες των τροπικών νερών η μικροβιακή χλωρίδα αποτελείται κυρίως από μεσόφιλους οργανισμούς, σε αντίθεση με τους ιχθύες των ψυχρών νερών, όπου η μικροβιακή χλωρίδα αποτελείται από ψυχρότροφους και ψυχρόφιλους

μικροοργανισμούς. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οι ιχθύες των ψυχρών νερών να έχουν μικρότερη διάρκεια ζωής σε χαμηλές θερμοκρασίες σε σχέση με αυτούς των τροπικών νερών

Από τις πιο δημοφιλείς μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση των ιχθύων είναι η ψύξη σε θερμοκρασίες κοντά στους 0°C χωρίς να υποστεί κρυστάλλωση ο μυϊκός τους ιστός (Μποζιάρης, 2012).

1.3 Ειδικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί στους ιχθύες

Οι Ειδικοί Αλλοιογόνοι Μικροοργανισμοί (EAM) [στα αγγλικά γνωστοί ως Specific Spoilage Organisms (SSO)] αποτελούν την κύρια αιτία της ποιοτικής υποβάθμισης στα νωπά αλιευτικά προϊόντα (Gram & Huss, 1996 - Gram & Dalgaard, 2002). Οι EAM αναπτύσσονται πολύ ταχύτερα σε σχέση με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς και όταν ο πληθυσμός τους πλησιάσει στο επίπεδο αλλοίωσης (spoilage level) οι ουσίες που έχουν παραχθεί λόγω του μεταβολισμού τους, έχουν φτάσει σε συγκεντρώσεις τέτοιες όπου προκαλούν την οργανοληπτική απόρριψη του προϊόντος (Dalgaard *et al.*, 1993; Gram & Huss, 1996; Huis in't Veld, 1996). Τα *Pseudomonas* spp και *Shewanella putrefaciens* είναι αυτά που αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού των ιχθύων που προέρχονται από ύδατα των εύκρατων κλιμάτων (οι οποίοι αποθηκεύονται σε πάγο όταν το τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής τους πλησιάζει), κυρίως γιατί οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί διπλασιάζονται πολύ γρήγορα σε χαμηλές θερμοκρασίες (Gram *et al.*, 1987; Gram *et al.*, 1990; Morita 1975). Οι μικροοργανισμοί αυτοί ευθύνονται για την αλλοίωση των ελληνικών αλιευμάτων τα οποία συντηρούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες και υπό αερόβιες συνθήκες (Koutsoumanis & Nychas, 2000; Tryfinopoulou *et al.*, 2002; Tryfinopoulou *et al.*, 2007; Boziaris *et al.*, 2011).

1.4 Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

Η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών τα τελευταία χρόνια, έχει αρχίσει να αυξάνεται και να γίνεται διαδεδομένη σε όλο τον κόσμο. Αυτό συμβαίνει, διότι, σε αντίθεση με τα μη εδώδιμα συνθετικά υλικά συσκευασίας, προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα και στους καταναλωτές, αλλά και στη βιομηχανία των τροφίμων. Πιο συγκεκριμένα:

- Είναι δυνατή η κατανάλωσή τους μαζί με το προϊόν
- Δεν μολύνουν το περιβάλλον μιας και αποικοδομούνται εύκολα και δεν δημιουργούν απόβλητα
- Το κόστος τους είναι χαμηλό

Όλα τα παραπάνω, ίσως οδηγήσουν στο μέλλον στην αύξηση αξιοποίησης των εδώδιμων συσκευασιών, και άρα στην μείωση της χρήσης της πλαστικής συσκευασίας.

Ο κυριότερος ρόλος των εδώδιμων μεμβρανών είναι η βελτίωση της συντήρησης, καθώς και των μηχανικών, οργανοληπτικών και διατροφικών ιδιοτήτων του τροφίμου. Οι μεμβράνες ρυθμίζουν το ρυθμό μεταφοράς της υγρασίας, επιβραδύνουν τη μεταφορά οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα, επιβραδύνουν την απομάκρυνση λιπαρών ουσιών και επιπλέον επιβραδύνουν τη μεταφορά ουσιών διαλυμένων στο τρόφιμο. Επίσης, συγκρατούν τις αρωματικές ουσίες του προϊόντος και παράλληλα μπορούν να λειτουργήσουν ως φορείς λειτουργικών συστατικών, όπως αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών και άλλων συντηρητικών ελέγχοντας την απελευθέρωσή τους στην επιφάνεια του προϊόντος (Guilbert *et al.*, 1996; Rojas-Grau *et al.*, 2009a).

1.5 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης εδώδιμων επικαλυμμάτων αλγινικών αλάτων (coatings) μόνα τους και σε συνδυασμό με υγρό καπνό ο οποίος χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία αλιευτικών προϊόντων-τροφίμων για την συντήρηση των ιχθυηρών με κάπνιση, στο μικροβιακό προφίλ και στον εμπορικό χρόνο ζωής φιλέτων τσιπούρας αποθηκευμένων υπό ψύξη (4°C).

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Προέλευση φιλέτων

Ολόκληροι ιχθύες τσιπούρας υδατοκαλλιέργειας βάρους περίπου 400 g ελήφθησαν από την αγορά του Βόλου και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βόλο.

2.2 Γενικός πειραματικός σχεδιασμός

Οι ιχθύες αρχικά φιλετοποιήθηκαν σε τεμάχια βάρους 10 g το καθένα και στην συνέχεια ο συνολικός αριθμός των φιλέτων που προέκυψε, χωρίστηκε σε τέσσερα (4) ισόποσα μέρη. Αναλυτικά τα φιλέτα του πρώτου μέρους εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1,5% (w/v) και γλυκερόλη 10% (v/v) (μεταχείριση Α). Τα φιλέτα του δεύτερου μέρους εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1,5% (w/v), γλυκερόλη 10% (v/v) και 0,4% υγρό καπνό L9 (μεταχείριση Β). Αυτά του τρίτου μέρους εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1,5% (w/v), γλυκερόλη 10% (v/v) και 0,4% καπνό G6 (μεταχείριση Γ), ενώ τα φιλέτα του τέταρτου μέρους δεν υπέστησαν κάποια επιπλέον μεταχείριση και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες (control).

Στη συνέχεια, τα φιλέτα από όλες τις μεταχειρίσεις αποθηκεύτηκαν στους 4°C για 10 ημέρες. Οι δειγματοληψίες για μικροβιολογική ανάλυση πραγματοποιούνταν κάθε δύο μέρες.

2.3 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 (εμφάνιση, οσμή, ελαστικότητα, κτλ.) έγινε σύμφωνα με τον Οδηγό της Ευρωπαϊκής Ένωσης Multilingual Guide to EU Freshness Grades for Fishery Products (Howgate et al., 1992). 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 ορίστηκε ο χρόνος όπου το προϊόν βαθμολογήθηκε με 2 έστω από τους 2 εκ των 5 κριτών.

2.4 Μικροβιολογική ανάλυση

Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν διπλά δείγματα σάρκας των 10g (για τον μάρτυρα και για τις δύο μεταχειρίσεις), μεταφέρονταν ασηπτικά σε αποστειρωμένες σακούλες, προστίθονταν 90 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 ακολούθησαν 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.

Μικροβιολογικά υλικά και εδώδιμα χημικά αντιδραστήρια

Τα μικροβιολογικά υλικά προέρχονταν από την LAB M (Lancashire, UK) εκτός από το 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). Η γλυκερόλη (φυτική) και το αλγινικό νάτριο προέρχονταν από την εταιρεία Manis Chemicals (Ελλάδα).

Διαδικασία παρασκευής θρεπτικών υποστρωμάτων:

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 (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 ρυθμίστηκε στο 7.4. Τα χημικά αντιδραστήρια προέρχονταν από την Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

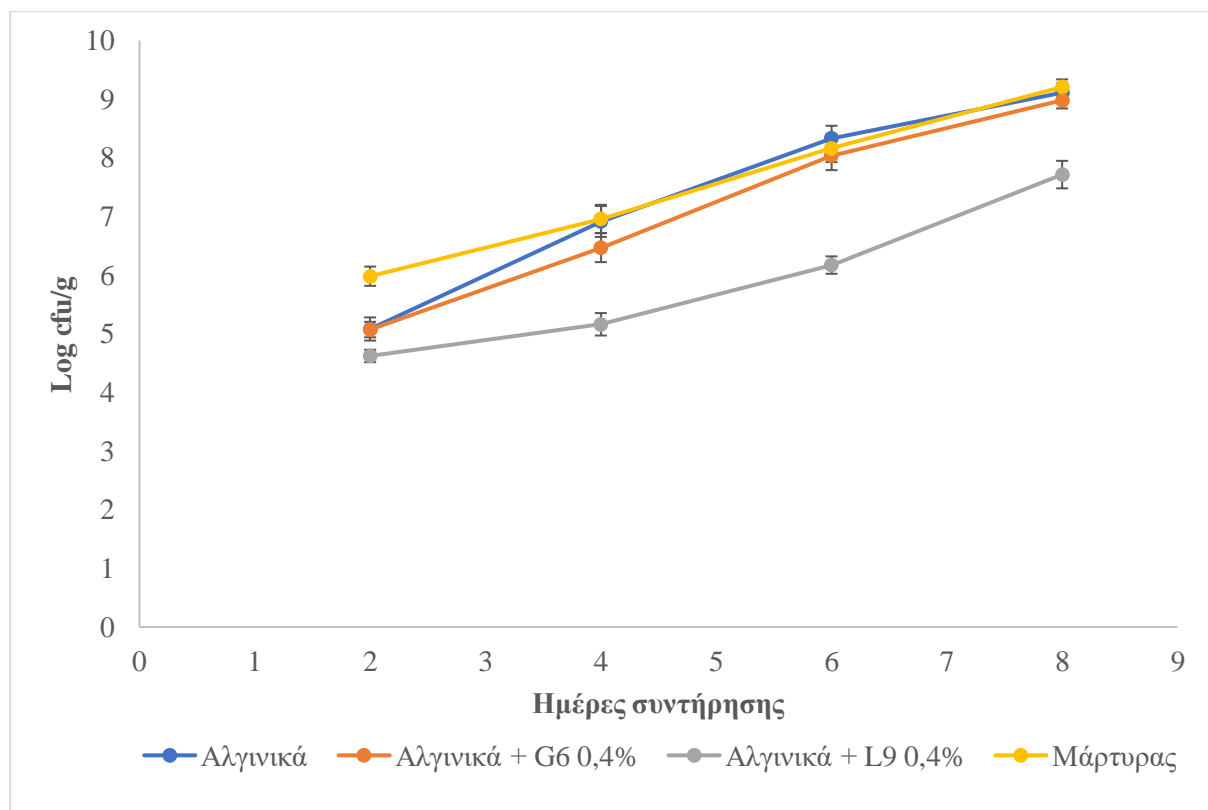
De Man, Rogosa, Sharpe agar (MRS)

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.

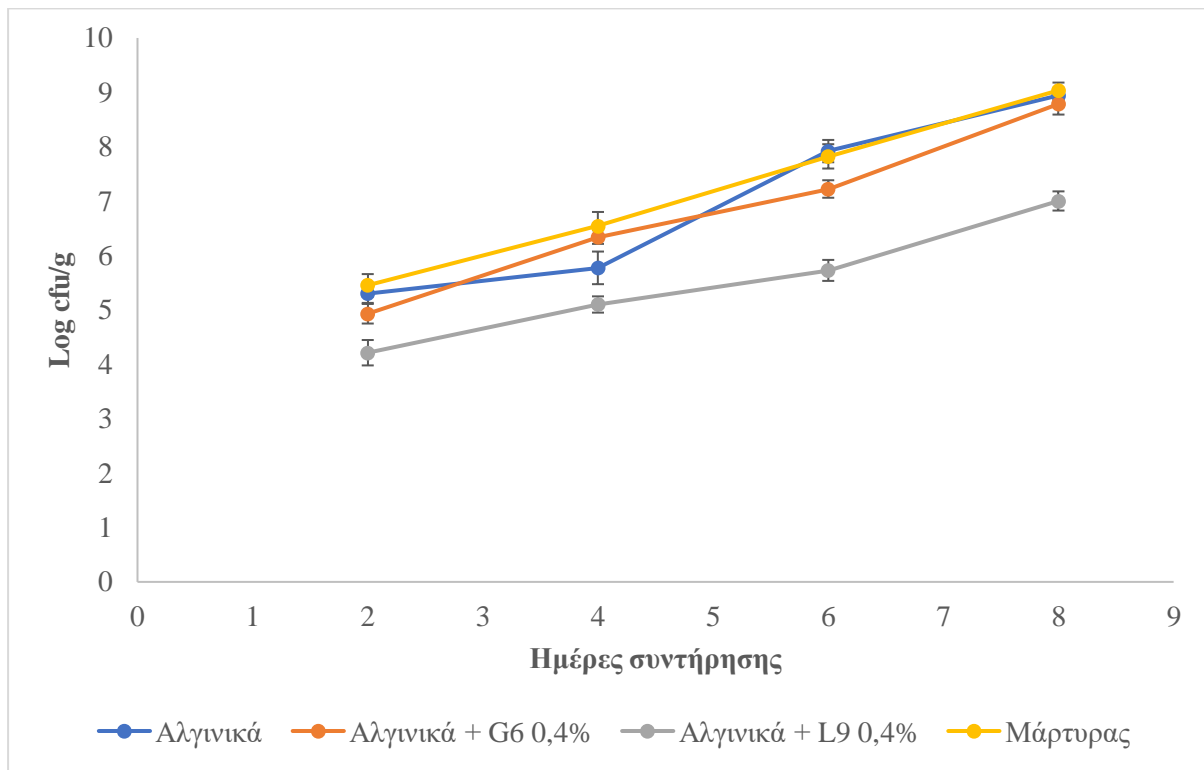
3. Αποτελέσματα

Οι πληθυσμιακές μεταβολές της OMX αλλά και των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, συγκεκριμένα των *Pseudomonas* spp., υδροθειοπαραγωγών (H_2S) βακτηρίων και οξυγαλακτικών βακτηρίων στα τεμάχια τσιπούρας κάθε μεταχείρισης, αποθηκευμένων στους $4^\circ C$, φαίνονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 3.1-3.4).

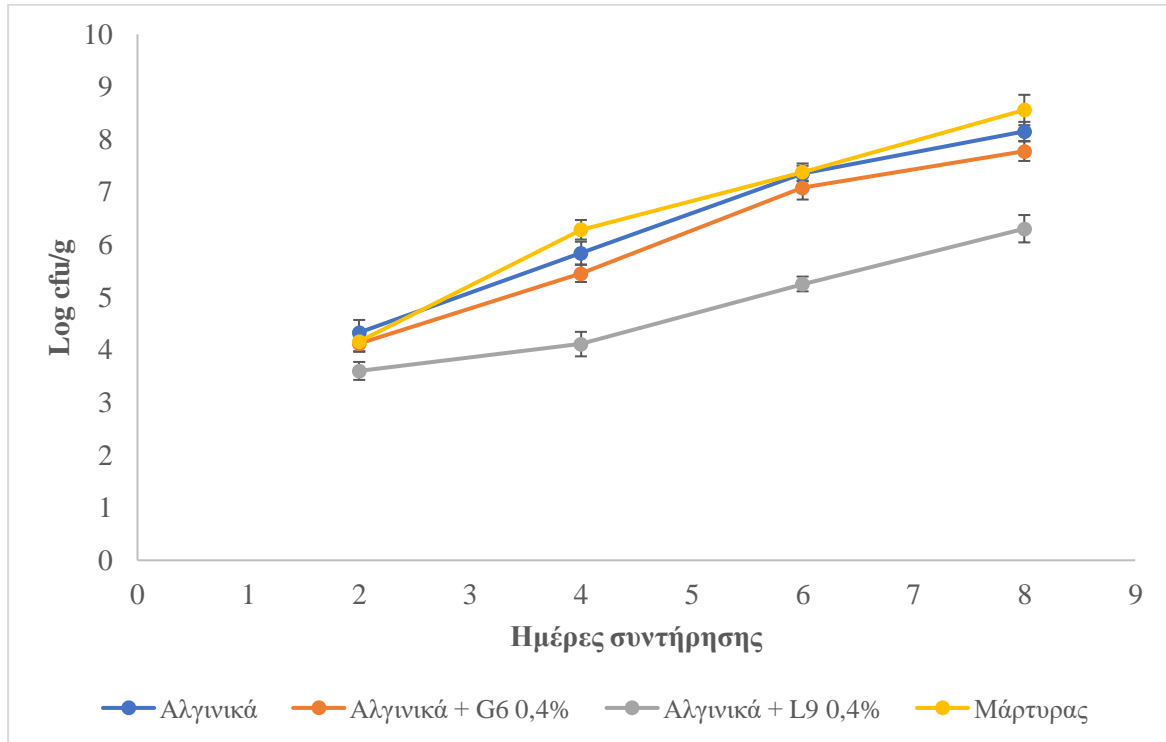
ΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΦΙΛΗ ΧΛΩΡΙΔΑ (OMX):



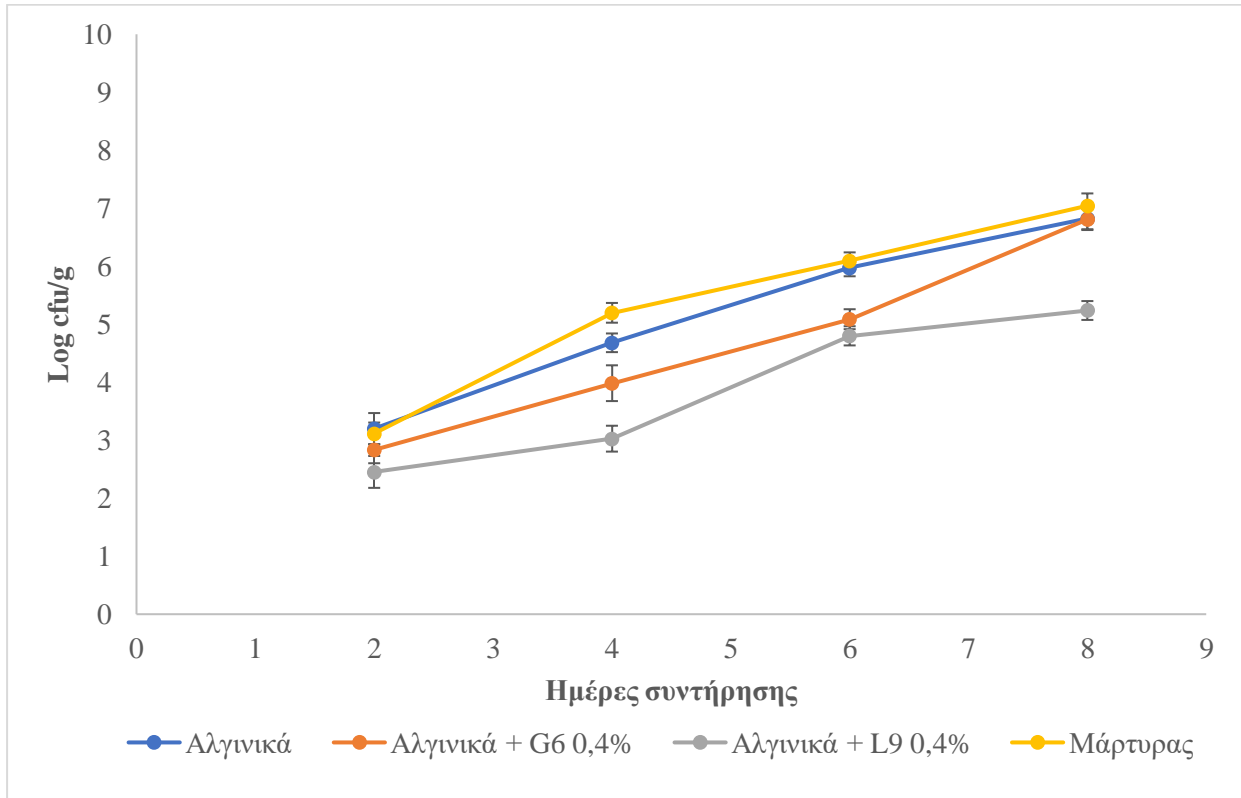
Εικόνα 3.1 Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX για όλες τις μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των τεμαχίων φιλέτων τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες στους $4^\circ C$. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 3 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση της OMX.

Pseudomonas spp.:

Εικόνα 3.2 Πληθυσμιακές μεταβολές των *Pseudomonas* spp. για όλες τις μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των τεμαχίων φιλέτων τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 3 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση των *Pseudomonas* spp.

ΥΔΡΟΘΕΙΟΠΑΡΑΓΩΓΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ:

Εικόνα 3.3 Πληθυσμιακές μεταβολές των υδροθειοπαραγωγών βακτηρίων, για όλες τις μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των τεμαχίων φιλέτων τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 3 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση των υδροθειοπαραγωγών βακτηρίων.

ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ:

Εικόνα 3.4 Πληθυσμιακές μεταβολές των οξυγαλακτικών βακτηρίων, για όλες τις μεταχειρίσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησης των τεμαχίων φιλέτων τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 3 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Τη δεύτερη ημέρα της συντήρησης τα αποτελέσματα ήταν τα εξής: στον μάρτυρα η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των $5,98 \pm 0,16 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $5,45 \pm 0,21 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $4,16 \pm 0,19 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους $3,12 \pm 0,19 \log \text{ cfu/g}$. Στα φιλέτα τσιπούρας με την επικάλυψη αλγινικών, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των $5,08 \pm 0,2 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $5,3 \pm 0,17 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $4,33 \pm 0,24 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους $3,2 \pm 0,27 \log \text{ cfu/g}$. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού G6 (0,4% v/v), η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των $5,07 \pm 0,13 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $4,93 \pm 0,18 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $4,12 \pm 0,16 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους $2,83 \pm 0,23 \log \text{ cfu/g}$. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού L9 (0,4% v/v), η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των $4,62 \pm 0,11 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $4,21 \pm 0,23 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $3,6 \pm 0,17 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους $2,45 \pm 0,27 \log \text{ cfu/g}$ (2η ημέρα συντήρησης).

Την τέταρτη ημέρα της συντήρησης, στον μάρτυρα η OMX υπολογίστηκε στους $6,96 \pm 0,24 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $6,55 \pm 0,25 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $6,28 \pm 0,19 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στα $5,2 \pm 0,17 \log \text{ cfu/g}$. Στα φιλέτα με την επικάλυψη αλγινικών, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των $6,92 \pm 0,26 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $5,77 \pm 0,3 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $5,84 \pm 0,22 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους $4,68 \pm 0,16 \log \text{ cfu/g}$. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού G6 (0,4% v/v), η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των $6,47 \pm 0,25 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $6,34 \pm 0,13 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $5,45 \pm 0,16 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους $3,98 \pm 0,31 \log \text{ cfu/g}$. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού L9 (0,4% v/v), η OMX υπολογίστηκε στους $5,16 \pm 0,19 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους

5,10 ± 0,15 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 4,11 ± 0,23 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους 3,03 ± 0,22 log cfu/g (4^η ημέρα συντήρησης).

Την έκτη ημέρα της συντήρησης, στον μάρτυρα η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 8,17 ± 0,24 log cfu/g, τα *Pseudomonas* στους 7,82 ± 0,22 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 7,38 ± 0,16 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους 6,09 ± 0,15 log cfu/g. Στα φιλέτα με την επικάλυψη αλγινικών, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 8,33 ± 0,22 log cfu/g, τα *Pseudomonas* στους 7,92 ± 0,21 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 7,35 ± 0,15 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους 5,97 ± 0,15 log cfu/g. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού G6 (0,4% v/v), η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 8,04 ± 0,25 log cfu/g, τα *Pseudomonas* στους 7,22 ± 0,16 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 7,08 ± 0,23 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους 5,09 ± 0,17 log cfu/g. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού L9 (0,4% v/v), η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 6,17 ± 0,15 log cfu/g, τα *Pseudomonas* στους 5,73 ± 0,19 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 5,25 ± 0,14 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους 4,8 ± 0,17 log cfu/g (6^η ημέρα συντήρησης).

Τέλος, την όγδοη ημέρα της συντήρησης, στον μάρτυρα η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 9,21 ± 0,13 log cfu/g, τα *Pseudomonas* στους 9,04 ± 0,14 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 8,56 ± 0,29 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους 7,04 ± 0,21 log cfu/g. Στα φιλέτα με την επικάλυψη αλγινικών, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 9,11 ± 0,16 log cfu/g, τα *Pseudomonas* στους 8,94 ± 0,11 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 8,15 ± 0,18 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους 6,82 ± 0,19 log cfu/g. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού G6 (0,4% v/v), η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 8,98 ± 0,14 log cfu/g, τα *Pseudomonas* στους 8,79 ± 0,2 log cfu/g, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H₂S) στους 7,78 ± 0,19 log cfu/g και τα οξυγαλακτικά

βακτήρια στους $6,81 \pm 0,18 \log \text{ cfu/g}$. Στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη υγρού καπνού L9 (0,4% v/v), η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των $7,72 \pm 0,23 \log \text{ cfu/g}$, τα *Pseudomonas* στους $7 \pm 0,18 \log \text{ cfu/g}$, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια (H_2S) στους $6,3 \pm 0,26 \log \text{ cfu/g}$ και τα οξυγαλακτικά βακτήρια στους $5,24 \pm 0,16 \log \text{ cfu/g}$ (8^η ημέρα συντήρησης).

Από τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνεται ότι ο υγρός καπνός L9 ήταν αποτελεσματικός στην καθυστέρηση της ανάπτυξης όλων των ειδών μικροοργανισμών που εξετάστηκαν, το οποίο επιβεβαιώνεται και από την στατιστική ανάλυση η οποία απέδειξε ότι οι τιμές του, διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από τις τιμές του μάρτυρα και των υπόλοιπων μεταχειρίσεων.

4. Συζήτηση

Στην παρούσα προπτυχιακή εργασία έγινε διερεύνηση της επίδρασης των εδώδιμων μεμβρανών με την παρουσία δύο διαφορετικών καπνών που χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων –παραγωγής καπνιστών αλιευτικών προϊόντων, έναντι της ανάπτυξης των βακτηρίων *Pseudomonas*, των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των υδροθειοπαράγωγα βακτηρίων.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, διαπιστώθηκε ότι, πράγματι η παρουσία καπνού επηρεάζει την ανάπτυξη των συγκεκριμένων βακτηρίων, ωστόσο τα αποτελέσματα ποικίλουν ανάλογα με τον καπνό που χρησιμοποιήθηκε. Οι διαφορές αυτές πιθανόν να προκύπτουν λόγω της διαφορετικής συγκέντρωσης σε καρβονύλια και φαινολικές ουσίες στους καπνούς αυτούς, σύμφωνα με τη σύσταση που διατίθεται από την εταιρεία

παρασκευής τους στην Ολλανδία. Οι Sikorski et al. (1995) αναφέρουν ότι οι καρβονυλικές ενώσεις ή καρβονύλια, όπως η φορμαλδεΐδη και η μεθυλογλυοξάλη, δρουν ως βακτηριοκτόνα. Ειδικότερα η φορμαλδεΐδη έχει τη δυνατότητα να αποτελεί ένα ισχυρό βακτηριοκτόνο χάρη στις ιδιαίτερες αντιβακτηριακές ιδιότητές της, ενώ συνάμα μπορεί να διασφαλιστεί η υγιεινή μέσω της χρήσης της. Η συγκέντρωσή της εξαρτάται από τη θερμοκρασία καύσης και το είδος του ξύλου. Οι Dien et al. (2019) αναφέρουν τις δυνατότητες του καπνού έναντι των βακτηρίων και την επίδρασή τους σε αυτά. Πιο συγκεκριμένα, αναφέρουν ότι οι φαινολικές ενώσεις από τις οποίες συντίθεται ο καπνός, έχουν τη δυνατότητα, εκτός από το να καταστρέφουν τη δομή των βακτηριακών κυττάρων, να αναστέλλουν τη διαδικασία σχηματισμού του βακτηριακού τοιχώματος και να προκαλούν την λύση του. Ο μηχανισμός δράσης των αντιβακτηριακών φαινολικών ενώσεων είναι ποικίλος και πολύπλοκος διότι εκτός από βλάβες στο βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα, οι φαινολικές ενώσεις του καπνού προκαλούν μετουσίωση των πρωτεϊνών της κυτταροπλασματικής μεμβράνης γεγονός που επιφέρει θανάτωση του βακτηριακού στελέχους.

Επιπλέον είναι απαραίτητο να σημειωθεί ότι και η παρουσία των εδώδιμων μεμβρανών από μόνη της παίζει σημαντικό ρόλο στη συντήρηση και στην προστασία των τροφίμων από τους συγκεκριμένους μικροοργανισμούς. Αυτό ισχύει διότι, οι μεμβράνες έχουν τη δυνατότητα να προσκολλώνται στις επιφάνειες του εκάστοτε τροφίμου (στην προκειμένη περίπτωση, στα φιλέτα τσιπούρας). Με αυτόν τον τρόπο περιορίζουν τη διαπερατότητα του οξυγόνου και αποτρέπουν τη γρήγορη εξάτμιση του νερού αλλά και άλλων ουσιών από αυτό και έτσι δημιουργούν συνθήκες στις οποίες ελαττώνεται η λειτουργικότητα και η δυνατότητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών.

Στην παρούσα προπτυχιακή εργασία παρατηρήθηκε, αρχικά στα φιλέτα με επικάλυψη αλγινικών (που δεν υπήρξε χρήση καπνού στις εδώδιμες μεμβράνες), ότι παρότι υπήρχαν

διαφοροποιήσεις στις τιμές όλων των βακτηρίων σε σχέση με τον μάρτυρα, αυτές ήταν πολύ μικρές καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, χωρίς να παρουσιάζουν και στατιστικά σημαντική διαφορά. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι μικροοργανισμοί που παρατηρήθηκαν, παρότι δυσκολεύτηκαν να αναπτυχθούν από την αρχή, μπόρεσαν να προσαρμοστούν γρήγορα και να έχουν μια σταθερή ανάπτυξη στην συγκεκριμένη μεταχείριση.

Έπειτα, κάτι παρόμοιο συνέβη και στην μεταχείριση όπου υπήρξε χρήση του καπνού G6 στις εδώδιμες μεμβράνες. Εδώ, τις πρώτες 6 μέρες του πειράματος υπήρχαν σχετικά μεγάλες διαφορές σε σχέση με τον μάρτυρα που έφταναν μέχρι και τον 1 λογάριθμο στα οξυγαλακτικά βακτήρια, 0,6 log στα *Pseudomonas*, τα 0,9 log στην OMX και 0,83 log στα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια. Διαπιστώθηκε, όμως, ότι την τελευταία μέρα του πειράματος, οι διαφορές αυτές μικραίνουν αισθητά σε όλους τους πληθυσμούς των μικροοργανισμών που εξετάστηκαν, πράγμα που σημαίνει ότι οι μικροοργανισμοί μπόρεσαν και προσαρμόστηκαν στις συνθήκες που εκτέθηκαν με την πάροδο του χρόνου.

Η μεταχείριση όπου υπήρξε χρήση του καπνού L9 στις εδώδιμες μεμβράνες, ήταν και αυτή στην οποία οι πληθυσμοί των βακτηρίων που βρέθηκαν, ήταν αρκετά χαμηλότεροι σε σχέση με αυτούς του μάρτυρα, των φιλέτων τσιπούρας με επικάλυψη αλγινικών και των φιλέτων τσιπούρας με επικάλυψη αλγινικών και προσθήκη του υγρού καπνού G6.

Με βάση όσα προαναφέρθηκαν, είναι ασφαλές να βγάλουμε το συμπέρασμα ότι η χρήση και των δύο υγρών καπνών στις εδώδιμες μεμβράνες, μπορεί να καθυστερήσει την ανάπτυξη των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα. Παρατηρήθηκε, όμως, ότι ο καπνός L9, μπορεί να αποτρέψει τους μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν σταθερά καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος, άρα είναι και πιο αποτελεσματικός σε σχέση με τον G6, καθώς ήταν και ο μόνος του οποίου οι τιμές των πληθυσμών εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τον μάρτυρα και τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.

Όλα αυτά είναι πολύ σημαντικά, αν αναλογιστούμε το πόσο εύκολο είναι να μολυνθούν τα τρόφιμα από τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι μπορούν και αναπτύσσονται με ραγδαίους ρυθμούς και αλλοιώνουν την ποιότητα των τροφίμων. Προκειμένου αυτό να αποφευχθεί, είναι απαραίτητο πρώτον, να τηρούνται οι κανόνες υγιεινής από όλους όσους έρχονται σε επαφή ή μεταχειρίζονται τα τρόφιμα, δεύτερον, να υπάρχουν χώροι κατάλληλα διαμορφωμένοι για να μπορούν να τηρηθούν οι απαραίτητες συνθήκες διατήρησης της ποιότητας του τροφίμου, και τρίτον, θα πρέπει να βρεθούν νέες τεχνικές που θα αποσκοπούν στην όσο το δυνατόν πιο ασφαλή διατήρηση των τροφίμων. Η χρήση του υγρού καπνού θα μπορούσε να αποτελέσει μία τέτοια τεχνική, που σε βάθος χρόνου θα μπορεί να αυξήσει την διάρκεια ζωής των τροφίμων, χωρίς να εγκυμονεί κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία.

5. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών είχε ως αποτέλεσμα τη μειωμένη ανάπτυξη των παρατηρούμενων μικροοργανισμών σε σχέση με τον μάρτυρα, χωρίς να αλλοιώνονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του φιλέτου (πχ αλλαγή χρώματος, αλλαγή ελαστικότητας).

Η χρήση των δύο ειδών υγρού καπνού ξεχωριστά, σε συνδυασμό με τις εδώδιμες μεμβράνες, επέφερε μια μεγαλύτερη χρονική καθυστέρηση στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Επιβεβαιώθηκε ότι οι αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί είναι οι κύριοι υπεύθυνοι της ποιοτικής υποβάθμισης των αλιευτικών προϊόντων και κρίνεται απαραίτητο στο μέλλον να βρεθούν τρόποι καταπολέμισής τους, με σκοπό να παραταθεί η διάρκεια ζωής των προϊόντων και να μην είναι τόσο σύντομη η οργανοληπτική απόρριψή τους.

Από τους δύο καπνούς, ο καπνός L9, ήταν αποτελεσματικότερος σε συγκριση με τον καπνό G6 και τα αλγινικά, όσον αφορά την ικανότητα αντιμετώπισης της μικροβιακής αλλοίωσης και θα μπορούσε κάλλιστα να χρησιμοποιηθεί ως μέσο για την καλύτερη συντήρηση των αλιευτικών προϊόντων.

6. Βιβλιογραφία

Ξένη Βιβλιογραφία

Augustin, J.-C., Rosso, L., & Carlier, V. (1999) Estimation of temperature dependent growth rate and lag time of *Listeria monocytogenes* by optical density measurements. *Journal of Microbiological Methods*, 38:137-146.

Dien, H. A., Montolalu, R. I., & Berhimpon, S. (2019) Liquid smoke inhibits growth of pathogenic and histamine forming bacteria on skipjack fillets. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 278

Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. (2005) Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93:511-520.

Gram L., Dalgaard P. (2002) Fish spoilage bacteria – problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology* 13, 262–266.

Gram, L., & Huss, H. H. (1996) Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33:121-137.

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., & Givskov, M. (2002) Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78:79-97.

Guilbert, S., Gontard, N., & Gorris, L. G. M. (1996) Prolongation of the Shelf-life of Perishable Food Products using Biodegradable Films and Coatings. *LWT - Food Science and Technology*, 29:10-17.

Huis in't Veld, J. H. J. (1996) Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33:1-18.

Horner W F A. (1997) Preservation of fish by curing (drying, salting, and smoking). In: *Fish Processing Technology*, Hall, G.M. 2nd Editions. Blackie Academic and Professional, London.

Koutsoumanis, K., & Nychas, G.-J. E. (2000) Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions. *International Journal of Food Microbiology*, 60:171-184.

Maga, J. A. (1988) *Smoke in food processing*. Boca Raton, Fla.: Crc Press.

Nychas G.J.E., Skandamis P.N., Tassou C.C., Koutsoumanis K.P. (2008) Meat spoilage during distribution.

Sathish K.K., Smoke-Drying Technology in Fish Preservation, Fish Processing Division ICAR-Central Institute of Fisheries Technology, Cochin.

Sikorski et al (1995), Use of cyclodextrins for encapsulation in the use and treatment of food products.

Tryfinopoulou, P., Tsakalidou, E., & Nychas, G.-J. . E. (2002) Characterization of *Pseudomonas* spp. Associated with Spoilage of Gilt-Head Sea Bream Stored under Various Conditions. Applied and Environmental Microbiology, 68:65-72.

Ward, D. R., & Cameron Ray Hackney (1991) Microbiology of marine food products. New York: Van Nostrand Reinhold.

Ελληνική Βιβλιογραφία

Μπακλώρη Χρ. (2010) Κινητική μελέτη δεικτών διατηρησιμότητας καπνιστού χελιού. Προπτυχιακή Διατριβή, Μετσόβιο Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Μποζιάρης Ι. (2013) Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις, 3η Έκδοση.

Μποζιάρης Ι. (2012) Υγιεινή και Συντήρηση Εδώδιμων Αλιευμάτων, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις, 2η Έκδοση.

Μοδίτση Μ. (2012) Μελέτη μεμβρανών από πρωτεΐνες γάλακτος ως συστήματα μεταφοράς και ελεγχόμενης απελευθέρωσης αντιμυκητιακών ουσιών. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Παρλαπάνη Φ. (2013) Ειδικοί Αλλοιωγόνιοι Μικροοργανισμοί και η επίδρασή τους στην ποιότητα και στην τύχη των παθογόνων μικροοργανισμών στα αλιευτικά προϊόντα. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, αλιεύματα.

Τζεράχογλου Γ. (2019) Προσδιορισμός οξειδωσης λιπών αλιευμάτων υπό διάφορες συνθήκες συντήρησης. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Τόρτοκα Β. (2020) Επίδραση υγρών εναιωρημάτων καπνού στην αύξηση της *Yersinia enterocolitica*. Προπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Τούλη Άφρ. (2013) Έξυπνη συσκευασία: Μελέτη και εφαρμογή χρονο-θερμοκρασιακών δεικτών (ΤΤΙ) στη ψυκτική αλυσίδα κατεψυγμένων θαλασσινών. Προπτυχιακή Διατριβή, Μετσόβιο Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Χειμωνά Δ. (2018) Επίδραση της προσθήκης γλυκόζης στις μικροβιολογικές μεταβολές και τον εμπορικό χρόνο ζωής φιλέτων λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) σε συντήρηση υπό ψύξη. Προπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

ABSTRACT

The aim of the present undergraduate thesis was to investigate the effectiveness of edible films with liquid smoke, against certain spoilage bacteria commonly found in marine species. More specifically, 2 (two) different types of liquid smokes (G6, L9) were used with edible alginate films, on gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). Over an 8-day period alternations in a) the Total Microbial Population, b) *Pseudomonas* spp., c) *Lactobacillus* spp and d) H₂S-producing bacteria were recorded. Throughout the experiment, samples were kept refrigerated at 4 °C. Results indicated that the use of L9 smoke reduces the growth of the spoilage microorganisms studied.

Keywords: edible films, alginate, *Sparus aurata*, liquid smoke, refrigeration