

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΚΑΙ ΕΜΠΟΡΙΚΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΤΗΣ ΚΑΡΑΒΙΔΑΣ
(*Nephrops norvegicus*) ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΗΣ ΣΕ
ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ



ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ Ι. ΚΟΡΔΙΛΑ

ΒΟΛΟΣ, 2009

«ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΚΑΙ ΕΜΠΟΡΙΚΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΤΗΣ ΚΑΡΑΒΙΔΑΣ
(*Nephrops norvegicus*) ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΗΣ ΣΕ
ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ»



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 7727/1
Ημερ. Εισ.: 13-11-2009
Δωρεά: Συγγραφέας
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΙΥΠ
2009
ΚΟΡ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- **Μποζιάρης Ιωάννης:** Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής και Συντήρησης Ιχθυηρών, τμήματος Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων.**
- **Αρβανιτογιάννης Ιωάννης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Ασφάλειας και Διασφάλισης ποιότητας τροφίμων, τμήματος Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος.**
- **Μεντέ Ελένη:** Μόνιμη Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωϊκών Οργανισμών, τμήματος Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος.**

*Στην αδερφή μου,
Χαρίκλεια Ι. Κορδίλα*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, τον επιβλέποντα αυτής της πτυχιακής και καθηγητή μου, κ. Ιωάννη Μποζιάρη για τη συνεχή και πολύτιμη καθοδήγησή του καθώς και για τις πολύ χρήσιμες συμβουλές του, κατά τη διάρκεια του πειράματος αλλά και κατά τη διάρκεια της συγγραφής της πτυχιακής μου διατριβής.

Θα ήθελα επιπλέον να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ιωάννη Αρβανιτογιάννη, αρχικά για τις πολύτιμες γνώσεις που μου παρείχε κατά τη διάρκεια των μαθημάτων του, οι οποίες μου φάνηκαν ιδιαίτερα χρήσιμες για τη διεκπεραίωση της πτυχιακής μου διατριβής, καθώς και για τις συμβουλές και παρεμβάσεις του για την συγγραφή της εργασίας αυτής.

Επιπλέον θεωρώ υποχρέωση μου να ευχαριστήσω την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Ελένη Μεντέ, για τις διορθώσεις και συμβουλές της κατά την συγγραφή της πτυχιακής μου εργασίας, καθώς επίσης, και για τις γνώσεις και συμβουλές της, κατά τη διεξαγωγή του πειράματος πάνω στην φυσιολογία της караβίδας (*Nephrops norvegicus*).

Κλείνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους αυτούς οι οποίοι με στήριξαν ηθικά κατά την διάρκεια της διεκπεραίωσης της πτυχιακής μου διατριβής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αλλοίωση των νωπών αλιευμάτων οφείλεται κυρίως σε μικροβιακή ή καλύτερα βακτηριακή δραστηριότητα. Οι μικροοργανισμοί παράγουν μεταβολίτες οι οποίοι συνεισφέρουν αρνητικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (κυρίως οσμή) του αλιεύματος. Επιπλέον στα καρκινοειδή, εκτός της βακτηριακής αλλοίωσης, η ενζυματική αμαύρωση στον εξωσκελετό συνεισφέρει σημαντικά στη μείωση της αποδοχής τους από τους καταναλωτές.

Η μικροβιακή χλωρίδα αλλοίωσης της караβίδας φαίνεται να αποτελείται κυρίως από *Pseudomonas* sp καθώς και άλλους μικροοργανισμούς σε μικρότερους πληθυσμούς όπως βακτήρια που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*), Enterobacteriaceae, κτλ.

Ο εμπορικός χρόνος ζωής ήταν μεγαλύτερος στις караβίδες που αποθηκεύτηκαν σε πάγο (0°C) σε σχέση με αυτές που αποθηκεύτηκαν σε αέρα υπό ψύξη (5°C).

Το μικροβιολογικό προφίλ αλλοίωσης δεν φαίνεται να διαφέρει σημαντικά από τα άλλα αλιεύματα που συντηρούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Εν τούτοις οι διαφορές επικεντρώνονται στο γεγονός ότι η μικροβιακή αύξηση και αποδόμηση της σάρκας ξεκινά από τη στιγμή θανάτου της караβίδας, η οποία συμβαίνει σε κάποια χρονική στιγμή μετά την αλίευσή της ανάλογα με τη θερμοκρασία συντήρησής της, λόγω ικανότητάς της να επιβιώνει για κάποιο χρονικό διάστημα εκτός υδάτινου περιβάλλοντος.

Η θερμοκρασία συντήρησης επιδρά στον εμπορικό χρόνο ζωής της караβίδας, όχι μόνο διότι επηρεάζει τον ρυθμό ανάπτυξης των αλλοιογόνων αλλά και τη χρονική στιγμή θανάτου της.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Γενικά.....	2
1.2 Αλλοίωση αλιευμάτων.....	2
1.2.1 Ενζυμική μελάνωση.....	4
1.3. Μικροβιακή αλλοίωση.....	6
1.3.1 Ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί (EAM).....	6
1.4. Μέθοδοι συντήρησης αλιευμάτων.....	7
1.4.1. Συντήρηση αλιευμάτων υπό ψύξη.....	7
1.5 Καραβίδα (<i>Nephrops norvegicus</i>).....	10
1.5.1 Η καραβίδα ως τρόφιμο.....	11
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	12
2.1. Γενικά.....	12
2.2. Παραλαβή και αποθήκευση των καραβίδων.....	12
2.3. Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	12
2.4. Εκτίμηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών.....	14
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	15
3.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων των θρεπτικών υλικών Tryptone Soy Agar (TSA) και Iron Agar (IA) για τη μέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (OMX).	17
3.3. Μεταβολή του pH στη σάρκα της καραβίδας.....	19
3.4. Μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της καραβίδας κατά την αποθήκευση της στις θερμοκρασίες 20°C, 5°C και 0°C.	20
3.5. Μεταβολή μικροβιακού πληθυσμού αλλοίωσης.....	23
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	28
4.1. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο χρόνο θανάτου της καραβίδας (<i>Nephrops norvegicus</i>) και στη μεταβολή της ολικής μικροβιακής χλωρίδας OMX..	28
4.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων των θρεπτικών υλικών Tryptone Soy Agar (TSA) και Iron Agar (IA) για την μέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (OMX).....	30
4.3. Μεταβολή του pH στη σάρκα της καραβίδας.....	31
4.4. Μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της καραβίδας κατά την αποθήκευσή της στις θερμοκρασίες 20°C, 5°C και 0°C.	32
4.5. Μεταβολή μικροβιακού πληθυσμού αλλοίωσης.....	34
4.6. Συμπεράσματα.....	36
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	38
5.1. Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	38
5.2. Ελληνική βιβλιογραφία.....	44
ABSTRACT.....	45

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά

Οι ιχθύες και γενικά τα θαλασσινά αποτελούν από αρχαιοτάτων χρόνων ένα βασικό είδος διατροφής για τον άνθρωπο. Λόγω της μεγάλης θρεπτικής τους αξίας θεωρούνται τροφή υψηλής ποιότητας, απαραίτητη για κάθε άνθρωπο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι προμηθεύουν τον ανθρώπινο οργανισμό με πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας, λιπαρές ύλες, βιταμίνες, ανόργανα άλατα και ιχνοστοιχεία (Rosa *et al.*, 2003).

Στις μέρες μας, η αυξανόμενη ζήτηση για ιχθύες και θαλασσινά, σε συνδυασμό με την καταναλωτική ανησυχία για την ποιότητα τους, απαιτεί την παραγωγή τροφίμων υψηλής ποιότητας. Εντούτοις, τα ψάρια και τα θαλασσινά είναι εξαιρετικά ευαλλοιώτα, σε σχέση με άλλα τρόφιμα, καθιστώντας πολύ δύσκολη τη διατήρηση της ποιότητάς τους για μεγάλο χρονικό διάστημα (Metcalf *et al.*, 2004). Αυτό καθιστά σαφές, την ανάγκη για τη δημιουργία προϋποθέσεων τέτοιων ώστε να μπορούν να εγγυηθούν την υψηλή ποιότητα και ασφάλεια των τροφίμων (McDonald *et al.*, 1999).

Πολλοί παράγοντες είναι εκείνοι που ασκούν επιρροή στην καταναλωτική αποδοχή των ιχθύων και γενικότερα των θαλασσινών, όπως γεύση, μυρωδιά και εμφάνιση (Marshall *et al.*, 1993)

Η ποιότητα των ιχθύων και των θαλασσινών εξαρτάται, από το βαθμό αλλοίωσης ή το βαθμό αποσύνθεσης του προϊόντος. Διάφορες μέθοδοι έχουν υιοθετηθεί για την αξιολόγηση της φρεσκάδας των θαλασσινών συμπεριλαμβανομένων, μικροβιακών και χημικών μεθόδων, αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και φυσικών ιδιοτήτων του τροφίμου (Botta, 1994).

Ως αλλοίωση θαλασσινών ορίζεται η αλλαγή στις οργανοληπτικές ιδιότητες (οπτικές, προτίμηση, μυρωδιά και σύσταση) των θαλασσινών προϊόντων που τα καθιστά ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση (Gram, 1993).

Ως συντήρηση ορίζεται η λήψη μέτρων που συμβάλουν στη σταθεροποίηση των τροφίμων σε σχέση με τους παράγοντες που προκαλούν την ποιοτική υποβάθμιση ή αλλοίωση τους. Στόχος των διεργασιών συντήρησης είναι η

επιβράδυνση των αντιδράσεων καταβολισμού, περιορισμός της ανάπτυξης μικροοργανισμών, καθώς και ο περιορισμός απώλειας υγρασίας από το προϊόν.

Η συντήρηση των τροφίμων βασίζεται κυρίως σε 2 βασικές αρχές:

- στην καταστροφή, αδρανοποίηση ή απομάκρυνση ενός ή όλων των παραγόντων που συμβάλουν στην υποβάθμιση και αλλοίωση των τροφίμων, και
- στη δημιουργία κατάλληλων συνθηκών στο τρόφιμο ή στο περιβάλλον του τροφίμου για να περιοριστεί η δράση των παραγόντων αυτών.

Επειδή η αλλοίωση των τροφίμων προκαλείται κυρίως από μικροοργανισμούς και ένζυμα, οι περισσότερες μέθοδοι συντήρησης στηρίζονται στη λήψη μέτρων για την αντιμετώπιση τους.

Οι μέθοδοι συντήρησης διακρίνονται κυρίως σε φυσικές, χημικές και βιολογικές. Οι μέθοδοι που κυρίως χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση των ναπών προϊόντων είναι συντήρηση σε ψυκτικούς θαλάμους ή αποθήκευση σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα ή επικάλυψη των προϊόντων με βιοαποικοδομήσιμες ή εδώδιμες μεμβράνες ή συσκευασία υπό κενό ή τροποποιημένη ατμόσφαιρα και η χρήση ενεργούς συσκευασίας (Αρβανιτογιάννης, 2001).

1.2 Αλλοίωση αλιευμάτων

Αλλοίωση ενός τροφίμου γενικότερα εννοούμε τη μείωση της ποιότητας του όσον αφορά κυρίως τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Ένα τρόφιμο θεωρείται αλλοιωμένο όταν έχουν πραγματοποιηθεί αλλαγές σε αυτό οι οποίες το καθιστούν μη αποδεκτό για ανθρώπινη κατανάλωση. Η αλλοίωση μπορεί να προέλθει από μικροβιακή δράση, χημικές αντιδράσεις, δράση ενδογενών ενζύμων του τροφίμου, προσβολή από έντομα ή και τρωκτικά (Huis in't Veld, 1996). Περίπου το 25% της παγκόσμιας παραγωγής χάνεται εξαιτίας μικροβιακής αλλοίωσης ή προσβολών. Στις ανεπτυγμένες χώρες οι μικροβιακή αλλοίωση οφείλεται κυρίως σε ψυχρότροφα βακτήρια και μύκητες (Huis in't Veld, 1996).

Η υποβάθμιση της ποιότητας των θαλασσινών αποδίδεται στις ιδιαίτερα ευαίσθητες πρωτεΐνες και λίπη που περιέχονται στα θαλασσινά. Ο σημαντικότερος παράγοντας υποβάθμισης με επιπτώσεις στη σύσταση, το χρώμα και τη γεύση των θαλασσινών είναι μικροβιακή αλλοίωση, αυτολυτικές διεργασίες, πολυμερισμός, και βιοχημικές αντιδράσεις. Αμέσως μετά το θάνατο των ψαριών, οι μικροοργανισμοί

εισβάλλουν στη σάρκα, με συνέπεια των μεταβολισμό μεγάλων μορίων όπως (πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και λίπη) που περιέχονται σε αυτή (Liston, 1980). Οι ιστοί των ψαριών παρέχουν ένα ιδανικό μέσο αύξησης για τους μικροοργανισμούς (Connell, 1995).

Τα ποσοστά της μικροβιακής και αυτολυτικής υποβάθμισης εμφανίζονται να ποικίλουν ανάλογα με το είδος, τη μέθοδο σύλληψης και προ πάντων, από την επεξεργασία και θερμοκρασία αποθήκευσης του προϊόντος (Banwart 1989: Chandrasekaran, 1994).

Πολλοί παράγοντες είναι εκείνοι που συνεισφέρουν στη μικροβιολογική πολυπλοκότητα των θαλασσινών. Όπως, οι συνθήκες αύξησης των μικροοργανισμών εξαιτίας συγκεκριμένων εγγενών και εξωγενών παραγόντων,

- θερμοκρασία, a_w , Eh, μικροβιακές αλληλεπιδράσεις
- η ποικιλόθερμη φύση των ψαριών και του υδρόβιου περιβάλλοντός τους
- ένα υψηλό μεταθανάτιο pH στη σάρκα τους (συνήθως > 6.0)
- η παρουσία μεγάλων ποσών μη πρωτεϊνικού αζώτου (NPN)
- η παρουσία οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (TMAO) ως τμήμα του NPN (Gram & Huss, 1996).

Τέλος, η μεγάλη ποικιλία βιοτόπων των ιχθύων και γενικότερα των θαλασσινών, παίζει σημαντικό ρόλο στο ποια θα είναι η επικρατούσα μικροβιακή χλωρίδα που θα αλλοίωση τελικά το προϊόν.

Τα σημάδια αλλοίωσης ενός ιχθύος και γενικότερα ενός τροφίμου είναι:

- η ανίχνευση ανεπιθύμητων οσμών
- παραγωγή αερίων
- οι αλλαγές στο χρώμα
- οι αλλαγές στην υφή
- ο σχηματισμός «γλίτσας» (Gram & Huss, 1996).

Για δεκαετίες, οι συνηθέστερες χρησιμοποιημένες χημικές αναλύσεις για να αξιολογηθεί η φρεσκάδα και η ποιότητα των ψαριών είναι ο προσδιορισμός των συνολικών πτητικών βάσεων του αζώτου (TVBN [mg/100g]) και η τριμεθυλαμίνη (TMA-N [mg/100g]). Το TVBN και το TMA-N δίνουν την έκταση της μικροβιολογικής αλλοίωσης (Thailaban, 2006).

Η αλεία καρκινοειδών σχετίζεται με προϊόντα μεγάλης οικονομικής σημασίας σε πολλές χώρες ανά τον κόσμο (Aiken, 1980). Εντούτοις, τα καρκινοειδή

παρουσιάζουν περιορισμένη διάρκεια ζωής, και σε πολλές περιπτώσεις μικρότερη από εκείνη των ιχθύων, εξαιτίας της γρήγορης υποβάθμισης της ποιότητας τους, ως αποτέλεσμα διάφορων παραγόντων, όπως το μικρό μέγεθος τους, αδυναμία αφαίρεσης των εντοσθίων τους, και τέλος παρουσιάζουν υψηλό περιεχόμενο σε μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ενώσεις (NPN), πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) και μελανίνη. Κατά συνέπεια, αντιδράσεις όπως αυτολυτικές αλλαγές, μικροβιακή αλλοίωση και αμαύρωση, έχουν αποδειχθεί ότι έχουν καταστρεπτική επίδραση στην ποιότητα τους (Losada *et al.*, 2006).

1.2.1 Ενζυμική μελάνωση

Στα καρκινοειδή ένας από τους βασικούς παράγοντες που συμβάλει στη γρήγορη υποβάθμιση της ποιότητάς τους και τα καθιστά οργανοληπτικά απαράδεκτα για κατανάλωση είναι η γρήγορη αμαύρωση του σκελετού που τα περιβάλλει. Το κύριο αίτιο της ενζυμικής αμαύρωσης είναι η μετατροπή των φαινολικών ενώσεων αρχικά σε κινόνες και τελικά σε μελανοιδίνες. Τα ένζυμα τα οποία είναι υπεύθυνα για την αντίδραση αυτή, είναι γνωστά ως οξειδάσες της πολυφαινόλης (πολυφαινολοξυδάσες ή φαινολάσες). Για να καταλυθεί η αντίδραση από το ένζυμο απαραίτητο είναι το οξυγόνο, που δρα ως αποδέκτης υδρογόνων, καθώς και ο χαλκός που αποτελεί την πρόσθετη ομάδα του ένζυμου. Το ένζυμο απαντάται σε φυσικούς και ζωικούς ιστούς (Aubourg *et al.*, 2007).

1.3. Μικροβιακή αλλοίωση

Τα βακτήρια εγκαθίστανται στις εξωτερικές και εσωτερικές επιφάνειες των ζωντανών ψαριών (βράγχια, δέρμα, γαστροεντερικό κομμάτι). Η ποικιλόθερμη φύση των ψαριών επιτρέπει στα βακτήρια με ευρύ θερμοκρασιακό εύρος να αυξάνονται. Κατά συνέπεια, η κυρίαρχη μικροχλωρίδα των ψαριών αποτελείται από τα ψυχρότροφα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, ραβδοειδούς σχήματος, βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrionaceae* και *Aeromonadaceae*, αλλά και Gram θετικοί οργανισμοί όπως *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* και *Corynebacterium*, μπορούν επίσης να βρεθούν σε ποικίλες αναλογίες. Η μικροβιακή χλωρίδα στα τροπικά ψάρια φέρει συχνά ένα ελαφρώς υψηλότερο φορτίο από Gram

θετικά και εντερικά βακτήρια, ειδάλλως είναι παρόμοια με τη χλωρίδα των ψαριών των εύκρατων υδάτων (Liston, 1980).

Ένας σημαντικός εγγενής παράγοντας σχετικός με τη σάρκα των ψαριών είναι το πολύ υψηλό μεταθανάτιο pH (> 6.0). Τα περισσότερα ψάρια περιέχουν μόνο λίγους υδατάνθρακες (< 0.5%) στους ιστούς και μόνο μικρά ποσά γαλακτικού οξέος παράγονται μεταθανάτια. Αυτό έχει σημαντικές συνέπειες για τη μικροβιολογία των ψαριών όπως μεταξύ άλλων παραγόντων αυτό επιτρέπει στα ευαίσθητα στο pH αλλοιωγόνα βακτήρια όπως η *Shewanella putrefaciens*, να αυξηθούν.

Το μέρος του μη-πρωτεϊνικού-αζώτου (NPN) της σάρκας των ψαριών αποτελείται από μικρού μοριακού βάρους υδροδιαλυτό άζωτο που περιέχει ενώσεις όπως τα ελεύθερα αμινοξέα και τα νουκλεοτίδια και αποτελεί εύκολα διαθέσιμο βακτηριακό υπόστρωμα αύξησης. Η αποσύνθεση του θείου που περιέχεται στα αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη είναι ιδιαίτερα σημαντική στην αλλοίωση δεδομένου ότι προκαλεί άσχημες οσμές και γεύση λόγω του σχηματισμού σουλφιδίου του υδρογόνου και μεθυλμερκαπτάνης αντίστοιχα (Herbert & Shewan, 1975, 1976).

Το διοξειδίο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) είναι μέρος του NPN και παρουσιάζεται σε όλα τα ψάρια της θάλασσας (Hebard *et al.*, 1982) και μερικά ψάρια του γλυκού νερού. Το TMAO είναι γνωστό ότι προκαλεί υψηλό (θετικό) δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh) στη σάρκα των ψαριών (Huss and Larsen, 1979 1980) εντούτοις η σημασία αυτού δεν είναι σαφής. Η αλλοίωση των φρέσκων ψαριών επηρεάζεται βεβαίως από την παρουσία του TMAO, ιδιαίτερα υπό συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Αριθμός καλά ορισμένων αλλοιωγόνων βακτηρίων (*Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Vibrionaceae*) είναι σε θέση να χρησιμοποιήσει TMAO ως τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων με αναερόβια αναπνοή με συνέπεια τη δημιουργία άσχημων οσμών και γεύσης λόγω σχηματισμού τριμεθυλαμίνης (TMA) (Gram *et al.*, 1987, 1990: Dalgaard *et al.*, 1993).

Η αλλοίωση που σχετίζεται με την ανάπτυξη σε αποθηκευμένα ψάρια σε αερόβιες συνθήκες αποτελείται κυρίως από Gram αρνητικούς, ψυχρότροφους και μη ζυμωτικούς ράβδους. Κατά συνέπεια, κάτω από αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης σε πάγο, η μικροβιακή χλωρίδα αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από *Pseudomonas sp* και *Shewanella putrefaciens*. Αυτό ισχύει για όλα τα ψάρια και τα καρκινοειδή που αλιεύονται από εύκρατα (Levin, 1968: Gram *et al.*, 1987) ή υποτροπικά και τροπικά ύδατα (Lannelongue *et al.*, 1982a: Gram *et al.*, 1990). Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25°C), η κυριαρχούσα μικροχλωρίδα αποτελείται από μεσόφιλα *Vibrionaceae*

(Gorczyca & Pek Poh Len, 1985: Gram *et al.*, 1990) και ιδιαίτερα εάν τα ψάρια πιάνονται σε μολυσμένα ύδατα, από μεσόφιλα *Enterobacteriaceae* (Gram, 1992). Ενώ η *Shewanella putrefaciens* είναι ο σημαντικότερος αλλοιωγόνος μικροοργανισμός στα ψάρια που αποθηκεύονται υπό ψύξη, άλλα αλλοιωγόνα βακτηρίδια που ανήκουν στα *Vibrionaceae* είναι σημαντικά στην αλλοίωση των ιχθύων που αποθηκεύονται σε υψηλότερες θερμοκρασίες (Gorczyca *et al.*, 1985).

1.3.1 Ειδικοί αλλοιωγόνιοι μικροοργανισμοί (EAM)

Ως «ειδικοί αλλοιωγόνιοι μικροοργανισμοί» (EAM) ορίζεται συγκεκριμένη ομάδα μικροοργανισμών που παράγουν τις χαρακτηριστικές δυσάρεστες οσμές κατά την αλλοίωση. Κατά την διάρκεια της συντήρησης, οι EAM αναπτύσσονται με γρηγορότερους ρυθμούς σε σχέση με τους ρυθμούς ανάπτυξης της υπόλοιπης μικροβιακής χλωρίδας του τροφίμου, και παράγουν αυτούς τους μεταβολίτες που είναι υπεύθυνοι για τη δημιουργία δυσάρεστων οσμών με άμεσο αποτέλεσμα την οργανοληπτική απόρριψη του τροφίμου. Σε αυτό το σημείο ο πληθυσμός των EAM μπορεί να χαρακτηριστεί ως το «επίπεδο αλλοίωσης» ενώ η συγκέντρωση του μεταβολίτη που αντιπροσωπεύει την αλλοίωση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας αντικειμενικός χημικός δείκτης μικροβιακής αλλοίωσης (Huis in't Veld, 1996).

Το *Shewanella putrefaciens* είναι ειδικός αλλοιωγόνος μικροοργανισμός των ψαριών των θαλάσσιων υδάτων που αποθηκεύονται σε αερόβιες συνθήκες σε πάγο και ο αριθμός του *S. putrefaciens* είναι αντιστρόφως ανάλογος με τον εμπορικό χρόνο ζωής των ιχθύων που αποθηκεύονται υπό ψύξη (Jorgensen *et al.*, 1988).

Το *Pseudomonas sp.* είναι ειδικός αλλοιωγόνος μικροοργανισμός των αποθηκευμένων σε πάγο τροπικών ψαριών (Lima Dos Santos, 1978: Gram *et al.*, 1990), και μαζί με το *Shewanella putrefaciens*, αποτελούν τους κύριους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς των ψαριών που αποθηκεύονται σε πάγο (Gillespie & MacRae, 1975: Gram, 1992). Το *Shewanella putrefaciens* έχει απομονωθεί από τροπικό ψάρι γλυκού νερού, αλλά δεν εμφανίζεται να έχει σημαντικό ρόλο στην αλλοίωση των ψαριών του γλυκού νερού από τροπικά ύδατα που αποθηκεύονται σε πάγο (Lima Dos Santos, 1978: Gram *et al.*, 1990). Αυτό μπορεί να συμβαίνει εξαιτίας του πολύ χαμηλού πληθυσμού του και στην ανικανότητα του μικροοργανισμού να ανταγωνιστεί τον υψηλό πληθυσμό του *Pseudomonas sp.* (Gram, 1993: Gram & Melchiorson, 1996).

Στα αλιεύματα της Μεσογείου οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί αλλά και αυτοί που χαρακτηρίζονται ως ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί είναι κυρίως οι *Pseudomonas spp.* εξαιτίας των μεγάλων τους πληθυσμών και της μικρής περιεκτικότητας των ψαριών σε ΤΜΑΟ (Koutsoumanis & Nychas 1999).

Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, το γένος *Aeromonas* είναι ειδικός αλλοιωγόνος μικροοργανισμός σε ψάρια του γλυκού νερού που αποθηκεύονται σε αερόβιο περιβάλλον (Gorzycza & Pek Poh Len, 1985; Gram *et al.*, 1990).

1.4. Μέθοδοι συντήρησης αλιευμάτων

Οι διάφοροι μέθοδοι συντήρησης και επεξεργασίας αποβλέπουν στην παραγωγή και διατήρηση των διαφόρων τροφίμων χωρίς να λάβουν χώρα ανεπιθύμητες μεταβολές (Αρβανιτογιάννης, 2001).

Στις μέρες μας η βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιεί μια σειρά από παράγοντες όπως η θερμοκρασία, το pH, την a_w , τη συσκευασία σε μείγμα αερίων και τα διάφορα πρόσθετα συντηρητικά, για να περιορίσει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και να επεκτείνει, τον εμπορικό χρόνο ζωής του προϊόντος, παράλληλα με την εξασφάλιση της υγιεινής και της ασφάλειας του (Jeyasekaran *et al.*, 2008).

1.4.1. Συντήρηση αλιευμάτων υπό ψύξη

Η ψύξη και η κατάψυξη συγκαταλέγονται στις παλαιότερες μεθόδους συντήρησης των τροφίμων (Αρβανιτογιάννης, 2001). Γενικά ως συντήρηση με ψύξη εννοείται η αποθήκευση των τροφίμων σε θερμοκρασίες από -1°C έως $+15^{\circ}\text{C}$. Η θερμοκρασία είναι από τους πιο σημαντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων στα ψάρια. Η συντήρηση των τροφίμων – αλιευμάτων σε χαμηλές θερμοκρασίες καθυστερεί τη μικροβιακή ανάπτυξη με αποτέλεσμα να παρατείνεται ο εμπορικός χρόνος ζωής του προϊόντος. Η ψύξη επιβραδύνει την ενζυμική δραστηριότητα και εμποδίζει την αύξηση των μικροοργανισμών (Μποζιάρης, 2008).

Η διάρκεια ζωής των αλιευμάτων υπό ψύξη εξαρτάται από παράγοντες όπως (Gram *et al.*, 1992):

- η θερμοκρασία ψύξης
- το αρχικό μικροβιακό φορτίο
- η λιποπεριεκτικότητα
- το είδος του αλιεύματος

Το φρέσκο ψάρι είναι ευαίσθητο στην περιβαλλοντική θερμοκρασία λόγω αυτόλυσης και μικροβιακής αύξησης (Surendran *et al.*, 1983). Μείωση στη θερμοκρασία αποθήκευσης κατά 5 με 6 °C μειώνει τον ρυθμό των βιοχημικών αντιδράσεων στο μισό διπλασιάζοντας έτσι το χρόνο ζωής του προϊόντος (Mjelda *et al.*, 1974). Είναι γεγονός ότι τα φρέσκα ψάρια στις χαμηλές θερμοκρασίες διατηρούνται καλά, αφού η χαμηλή θερμοκρασία μειώνει το ρυθμό της βακτηριακής αύξησης (Sasi *et al.*, 2000). Η συντήρηση των ψαριών στον πάγο είναι ένας από τους αποδοτικότερους τρόπους συντήρησης (Surendran *et al.*, 1989).

Το μεγαλύτερο μέρος των εξαγωγέων χρησιμοποιούν μόνο τριμμένο πάγο για τη μεταφορά των φρέσκων ψαριών, το οποίο οδηγεί σε υπερβολικές δαπάνες μεταφοράς εξαιτίας της τήξης του πάγου. Εντούτοις, η ποσότητα τριμμένου πάγου που απαιτείται για τα φρέσκα ψάρια που αποθηκεύονται σε πάγο είναι αρκετά ουσιαστική καθώς πρέπει να είναι σε αναλογία τουλάχιστον 1:1 (w/w) και μερικές φορές είναι ακόμα υψηλότερη εξαιτίας τροπικών συνθηκών (Lima Dos Santos *et al.*, 1981). Ως εκ τούτου, προσπάθειες καταβάλλονται συνεχώς για να αναπτυχθούν και να υιοθετηθούν καλύτερες μέθοδοι για τη συντήρηση των ψαριών, ώστε να βελτιωθεί η ποιότητα των φρέσκων ψαριών, να διατηρηθεί η αρχική γεύση τους, ο χρωματισμός τους και η σύστασή τους για μεγάλο χρονικό διάστημα. (Jeyasekaran *et al.*, 2008).

Ο τριμμένος πάγος είναι και συνεχίζει να είναι ένα εργαλείο που χρησιμοποιείται ευρέως για να μειώσει τη θερμοκρασία των φρέσκων υδρόβιων τροφίμων σε επίπεδα ελαφρώς επάνω από τους 0 °C (Heen, 1982). Πρέπει να τονιστεί ότι τα υδρόβια τρόφιμα είναι ποικιλόθερμοι οργανισμοί, με υψηλά ποσοστά νερού και μη πρωτεϊνικού αζώτου στη σάρκα τους (NPN), μαλακή δομή των μυών τους και με χαμηλή περιεκτικότητα σε κολλαγόνο. Τέτοια χαρακτηριστικά γνωρίσματα σημαίνουν ότι αυτά τα προϊόντα θεωρούνται μεταξύ των πιο ευαλλοίωτων τροφίμων, και αυτό απαιτεί γρήγορες μεθόδους συντήρησης μετά την αλιεία του οργανισμού

προκειμένου να συντηρηθεί η ποιότητά του. Κατά συνέπεια, οι αλλοίωση αρχίζει μόλις το ψάρι αλιεύεται (Olasfdottir *et al.*, 2004).

Οι διαδικασίες ψύξης είναι επομένως μεγάλης σπουδαιότητας στην αλυσίδα εμπορίας, ειδικά στην περίπτωση φρέσκου υδρόβιου τροφίμου. Πράγματι, περισσότερο από 50% των τροφίμων στις αναπτυγμένες χώρες, με 1,2 δισεκατομμύρια κατοίκους, είναι εμπορευματοποιημένα υπό συνθήκες ψύξης (Alvarez *et al.*, 2008).

Το ποσοστό στο οποίο η θερμότητα μπορεί να αφαιρεθεί από τα θαλασσινά κατά τη διάρκεια της ψύξης εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους. Στην περίπτωση των συσκευασμένων υδρόβιων τροφίμων, το μέγεθος και η μορφή έχουν επιπτώσεις στο ποσοστό της θερμότητας η οποία θα αφαιρεθεί ενώ στην περίπτωση των μη συσκευασμένων τροφίμων, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στην επικρατούσα υγρασία, με σκοπό να αποτραπεί επιφανειακή αφυδάτωση των ψαριών. Αυτό καθιστά σαφές ότι πρέπει να υπάρξουν βελτιώσεις στα συστήματα ψύξης που χρησιμοποιούνται σε διαδικασίες σχετικές με τη διαχείριση αλιείας, εφόσον η άμεση και σωστή ψύξη των θαλασσινών είναι μεγάλης σπουδαιότητας για την ποιότητα των τροφίμων που φθάνουν στους καταναλωτές. Κατά συνέπεια, οι τεχνολογίες ψύξης και κατάψυξης έχουν υποβληθεί σε σημαντικές βελτιώσεις μέσα τα τελευταία 20 έτη (Losada *et al.*, 2004).

Στην περίπτωση των υδρόβιων τροφίμων, οι τεχνολογίες κατάψυξης είναι ουσιαστικής σημασίας για κάθε βήμα στην αλυσίδα παραγωγής από τη στιγμή που τα ψάρια θα συλληφθούν, και κάθε βήμα που περιλαμβάνεται στην τοπική διανομή και εσωτερική αποθήκευση. Πρόσφατα, τα νεότερα συστήματα κατάψυξης έχουν επιτρέψει την αποθήκευση των υδρόβιων τροφίμων σε θερμοκρασίες υπό το μηδέν, μέσω της προσθήκης αλάτων και άλλων ενώσεων σε μίγματα πάγου-ύδατος. Αυτά καλούνται “slurry ice systems” ή υγρός πάγος. Σε αυτά συνυπάρχουν υγρό (ύδωρ) και το στερεό (πάγος) (Pineiro *et al.*, 2004).

Χαρακτηριστικά γνωρίσματα του υγρού πάγου είναι 1) ταχύτερη ψύξη, (υψηλότερη ικανότητα θερμοανταλλαγής, σε σχέση με τον τριμμένο πάγο) και 2) μειωμένη φυσική ζημία προκαλούμενη στα υδρόβια τρόφιμα από τα σφαιρικά και μικροσκοπικά μόρια του υγρού πάγου, σε σύγκριση με τον τριμμένο πάγο. Αυτό το πλεονέκτημα είναι ιδιαίτερα σημαντικό στην περίπτωση των μαλακών ιστών, ένα χαρακτηριστικό μιας ευρείας ποικιλίας υδρόβιων τροφίμων. Η γενική κάλυψη της επιφάνειας των ψαριών από το μίγμα του υγρού πάγου προστατεύει τα ψάρια από τη

δράση του οξυγόνου και αποτρέπει την οξείδωση και αφυδάτωση. Ο υγρός πάγος μπορεί επίσης να συνδυαστεί με άλλα συντηρητικά, όπως τη χρήση του όζοντος ή ανασταλτικών παραγόντων αμαύρωσης (Huidobro *et al.*, 2002).

Εντούτοις, παρά τα θεωρητικά πλεονεκτήματα που παρουσιάζει, υπάρχουν λίγα εμπειρικά στοιχεία σχετικά με τις πρακτικές εφαρμογές των τεχνολογιών του υγρού πάγου για την αποθήκευση των υδρόβιων τροφίμων που είναι διαθέσιμη σήμερα (Losada *et al.*, 2004).

Σε ότι αφορά τα καρκινοειδή για να επιβραδύνουμε τους μηχανισμούς που συμμετέχουν στην υποβάθμιση της ποιότητας τους, πρέπει να ψύχονται ή να καταψύχονται αμέσως μετά από τη σύλληψη τους. Ως εκ τούτου διαφορετικές μέθοδοι συντήρησης όπως ο παραδοσιακός τριμμένος πάγος, το κατεψυγμένο ή ψυγμένο νερό της θάλασσας, η αποθήκευση κάτω από τροποποιημένη ατμόσφαιρα, βύθιση μέσα σε άλμη και τέλος ενσωμάτωση χημικής ουσίας (συντηρητικά) έχουν εφαρμοστεί επιτυχώς (Losada *et al.*, 2006).

1.5 Καραβίδα (*Nephrops norvegicus*)

Συστηματική κατάταξη του γένους *Nephrops*, σύμφωνα με το Linnaeus. (1758) είναι η εξής:

Βασίλειο	Animalia
Φύλο	Arthropoda
Υπόφυλο	Crustacea
Κλάση	Malacostraca
Τάξη	Decapoda
Υπόταξη	Pleocyemata
Υπο-υπόταξη	Astacidea
Οικογένεια	Nephropidae
Γένος	<i>Nephrops</i>
Είδος	<i>N. Norvegicus</i>

Η караβίδα, *Nephrops norvegicus*, είναι δεκάποδο, καρκινοειδές της θάλασσας, που φτάνει μέχρι τα 24 εκατοστά μήκος. Βρίσκεται στο βορειοανατολικό Ατλαντικό Ωκεανό και στη Βόρεια Θάλασσα ως το μακρινό Βορρά όπως Ισλανδία και βόρεια Νορβηγία και στο νότο στην Πορτογαλία. (Yonge, 1924). Δεν είναι κοινό

είδος στη Μεσόγειο εκτός από την Αδριατική θάλασσα , ειδικότερα στη βόρεια Αδριατική. Η караβίδα είναι μοναχικό, αρπακτικό ζώο, που τρέφεται με άλλα ζώα όπως μικρά ασπόνδυλα και ψάρια (http://en.wikipedia.org/wiki/Norway_lobster).

1.5.1 Η караβίδα ως τρόφιμο

Η караβίδα, *Nephrops norvegicus* (Linnaeus), είναι ένα από τα πολυτιμότερα είδη αλιείας, καθώς εκτιμάται ευρέως από τους καταναλωτές. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι οι ετήσια αλιεία της караβίδας μόνο στην Πορτογαλία φτάνει τους 61,000 tn (Rosa *et al.*, 2003).

Τα καρκινοειδή, και κατά επέκταση η караβίδα, αποτελούν τροφή υψηλής διαιτητικής αξίας, καθώς είναι πολύ θρεπτικά, έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και αποτελούν σημαντική πηγή πρωτεΐνης και μετάλλων. Επιπλέον, για πολλά καρκινοειδή, τα δύο τρίτα των στερολών είναι στερόλες μη-χοληστερόλης, και φαίνεται να παρεμποδίζουν την απορρόφηση χοληστερόλης από τον οργανισμό. Ένα ακόμη διατροφικό πλεονέκτημα των καρκινοειδών αποτελεί το γεγονός ότι περιέχουν Ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), ειδικά εικοσεπεντανοϊκό οξύ (EPA) και δοκοσαεξαονικό οξύ (DHA), τα οποία συμβάλλουν στην προστασία του ανθρώπινου καρδιαγγειακού συστήματος (Rosa *et al.*, 2003).

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Γενικά

Στην παρούσα πειραματική εργασία μελετήθηκε ο χρόνος εμπορικής ζωής και το μικροβιακό προφίλ αλλοίωσης της караβίδας (*Nephrops norvegicus*) όταν αυτή αποθηκεύεται στις θερμοκρασίες των 20°C, 5°C και 0°C. Πιο αναλυτικά μελετήθηκαν:

α) οι μεταβολές του πληθυσμού των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών κατά την αποθήκευση της караβίδας σε διάφορες θερμοκρασίες,

β) η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου συντήρησης στη μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της караβίδας και κατ'επέκταση στον εμπορικό χρόνο ζωής της,

γ) και τέλος η μεταβολή του pH στη σάρκα της караβίδας ανάλογα με το χρόνο και την θερμοκρασία αποθήκευσης της.

2.2. Παραλαβή και αποθήκευση των караβίδων

Οι караβίδες αλιεύθηκαν από νερά του Παγασητικού κόλπου, από αλιείς της περιοχής. Οι караβίδες αμέσως μετά την αλίευσή τους μεταφέρθηκαν ζωντανές στο εργαστήριο όπου αποθηκεύτηκαν, σε κιτία από φελιζόλ (polystyrene). Οι θερμοκρασίες αποθήκευσης ήταν:

- θερμοκρασία περιβάλλοντος (20°C)
- ψυγείο (5°C)
- και πάγο (0°C)

Οι караβίδες που αποθηκεύτηκαν σε 0°C, τοποθετήθηκαν σε κιτία από φελιζόλ με τριμμένο πάγο σε αναλογία 1:1 (w/w), και προσθέτονταν νέος ανά τακτά χρονικά διαστήματα ώστε να διατηρείτε η επιθυμητή θερμοκρασία.

2.3. Μικροβιολογικές αναλύσεις

Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν ασηπτικά 1g σάρκα караβίδας από την κοιλία, (το βρώσιμο μέρος του σώματος της караβίδας), το οποίο τοποθετούνταν σε αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα με 9 ml Maximum Recovery Diluent (MRD-NACL 0.85% και 0.1% Peptone). Πραγματοποιούνταν ομογενοποίηση του δείγματος

σε Vortex για 1 λεπτό και ακολουθούσαν διαδοχικές αραιώσεις και έπειτα επίστρωση ή ενσωμάτωση σε τριβλία pepti ανάλογα με το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιούνταν κάθε φορά.

Οι μικροοργανισμοί που καταμετρήθηκαν ήταν:

α) συνολικός πληθυσμός μετρήθηκε με δύο διαφορετικά θρεπτικά υλικά, με επιφανειακή εξάπλωση σε τρυβλία Tryptone Soy Agar (TSA) και επώαση για 48h στους 25°C και σε Iron Agar (IA) με ενσωμάτωση και επώαση για 48 h, στους 25°C

β) πληθυσμός των *Pseudomonas*, με επιφανειακή εξάπλωση σε τρυβλία cetrinimide fusidin cephaloridine agar (CFC), και επώαση για 48h στους 25°C

γ) βακτήρια που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*), με ενσωμάτωση σε Iron Agar (IA) και επώαση για 48 h, στους 25°C,

δ) Εντεροβακτηριοειδή, με ενσωμάτωση σε VRBG Agar και επώαση για 24 h στους 37°C.

ε) Οξυγαλακτικά με ενσωμάτωση σε Mann, Rogosa, Sharpe Agar (MRS) και επώαση για 96 h στους 25°C

δ) ζύμες μύκητες με επίστρωση σε on Rose-Bengal Chloraphenicol (RBC) agar και επώαση για 96 h στους 25°C

στ) *Brochothrix thermosphacta* με επίστρωση σε Streptomycin Sulphate, Thallus Acetate, Cycloheximide (actidione) Agar (STAA) και επώαση για 96 h στους 25°C

Τέλος ως pH της σάρκας της καραβίδας μετρούνταν συμβατικά το pH της πρώτης δεκαδικής αραιώσης με τη χρήση pH-μέτρου.

Τα μικροβιολογικά υλικά προμηθεύτηκαν από την LAB M (Lancashire UK), εκτός του STAA το οποίο προμηθεύτηκε από την Biolife (Milano, Italy). Το IA παρασκευάστηκε από τα βασικά υλικά του ως εξής: peptone 20g/l, meat extract 3.0 g/l, yeast extract 3.0g/l, ferric citrate 3.0g/l, sodium thiosulphate 0.3g/l, NaCl 5g/l, L-cysteine 0.6g/l, agar 14g/l. Το pH ρυθμίστηκε στην τιμή 7.4).

Το πείραμα επαναλήφθηκε τρεις φορές, σε διαδοχικά χρονικά διαστήματα. Οι συνθήκες εκτέλεσης του πειράματος ήταν οι ίδιες και στις τρεις περιπτώσεις. Καμία παράμετρος δεν τροποποιήθηκε κατά τη διάρκεια των επαναλήψεων.

2.4. Εκτίμηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών

Η ποιότητα των δειγμάτων σε ότι αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της караβίδας κατά την διάρκεια αποθήκευσης της, στις θερμοκρασίες των 20°C, 5°C και 0°C εκτιμήθηκε σύμφωνα με τις παραδοσιακές οδηγίες για την φρεσκάδα των καρκινοειδών. Ποιο αναλυτικά αξιολογήθηκε από πάνελ 5 έμπειρων κριτών η μυρωδιά, η σκληρότητα σάρκας, το χρώμα και τέλος η συνολική εμφάνιση των караβίδων.

Συγκεκριμένα για τη σκληρότητα της σάρκας της караβίδας, αυτή αξιολογήθηκε με βάση την υφή της. Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκε πόσο ελαστική ή αντίθετα μαλακή έγινε με την πάροδο του χρόνου κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής της.

Η αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, έγινε με βάση τις ακόλουθες κατηγορίες: Α (άριστο), Β (καλό), Γ (αποδεκτό), Δ (απαράδεκτο).

Ο χρόνος θανάτου των караβίδων έξω από το νερό εκτιμήθηκε με βάση την κινητικότητα του οργανισμού όταν λαμβάνονταν για δειγματοληψία.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο χρόνο θανάτου της караβίδας (*Nephrops norvegicus*) και στη μεταβολή της ολικής μικροβιακής χλωρίδας OMX

Η μεταβολή του ολικού μικροβιακού πληθυσμού (OMX) που καταμετρήθηκε σε TSA κατά την αποθήκευση της караβίδα (*Nephrops norvegicus*) στους 0°C, 5°C και 20°C παρουσιάζεται στα Γραφήματα 3.1, 3.2 και 3.3 αντίστοιχα.

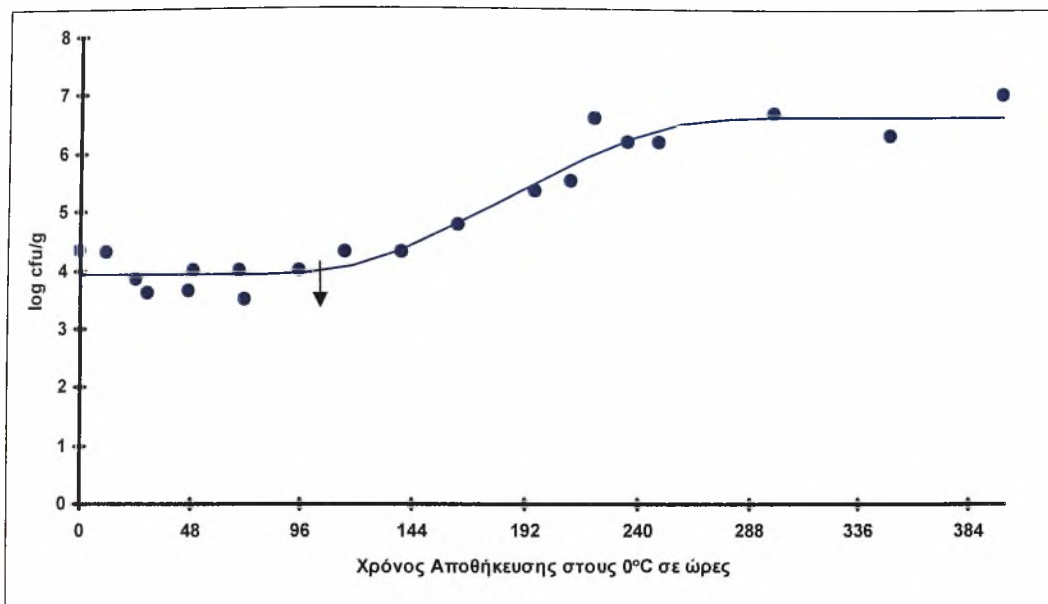
Κατά την αποθήκευση της караβίδας στους 0°C η OMX παρουσιάζει αργή ανάπτυξη, με μακρά φάση προσαρμογής αφού οι μικροοργανισμοί φαίνεται να αρχίζουν τον πολλαπλασιασμό τους μετά τις 97 ώρες αποθήκευσης της караβίδας. Ο πληθυσμός έφθασε τη στατική φάση έπειτα από 280 ώρες. Το επίπεδο του πληθυσμού στη στατική φάση ήταν περί τους 6.6 logs cfu/g (Γράφημα 3.1).

Στους 5°C, η μεταβολή της OMX παρουσιάζει παρόμοια αύξηση αλλά με ταχύτερους ρυθμούς σε σχέση με τη θερμοκρασία των 0°C (Γράφημα 3.2). Η φάση προσαρμογής διήρκεσε περί τις 38 ώρες ενώ ο πληθυσμός έφθασε τη στατική φάση έπειτα από 175 ώρες. Το επίπεδο του πληθυσμού στη στατική φάση ήταν περί τους 6.6 logs cfu/g.

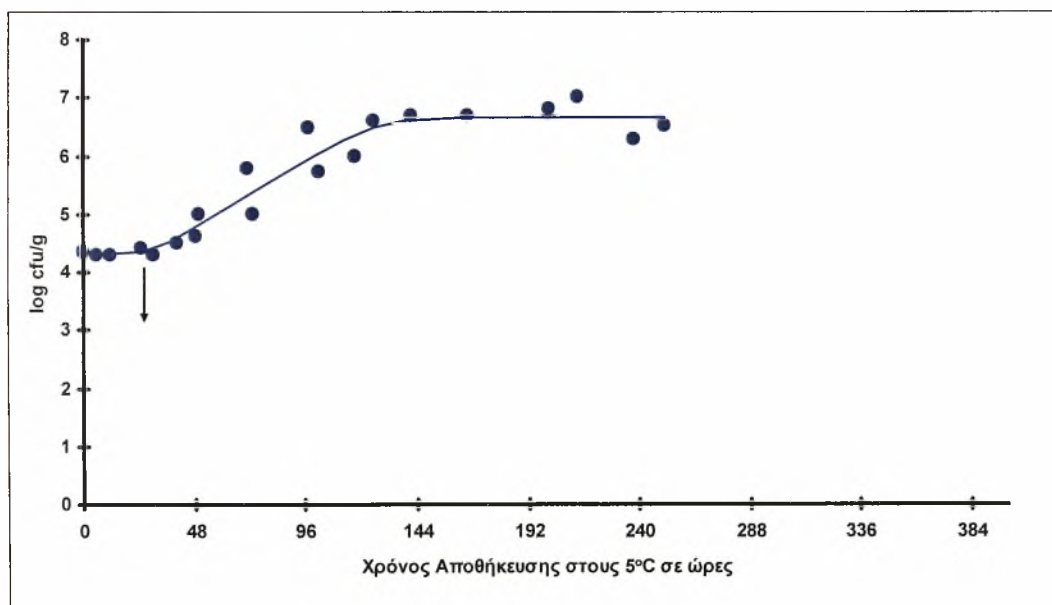
Στους 20°C, παρατηρούμε ότι η OMX αυξάνεται γρηγορότερα (Γράφημα 3.3). Αυτό γίνεται αντιληπτό εφόσον σε 24 ώρες αποθήκευσή της караβίδας η OMX φτάνει τα 7,2 logs cfu/g.

Δεν παρατηρήθηκε φάση προσαρμογής σε σχέση με τη μεταβολή της OMX στις θερμοκρασίες των 0°C και 5°C, όπου η φάση προσαρμογής των μικροοργανισμών φαίνεται να συμπίπτει με τη διάρκεια κατά την οποία η караβίδες μένουν ζωντανές έξω από το νερό. Στην πραγματικότητα, η φάση προσαρμογής των μικροοργανισμών φαίνεται να συμπίπτει με το χρόνο όπου οι караβίδες μένουν ζωντανές. Άρα ουσιαστικά μιλάμε για ψευδή (φαινομενική) φάση προσαρμογής.

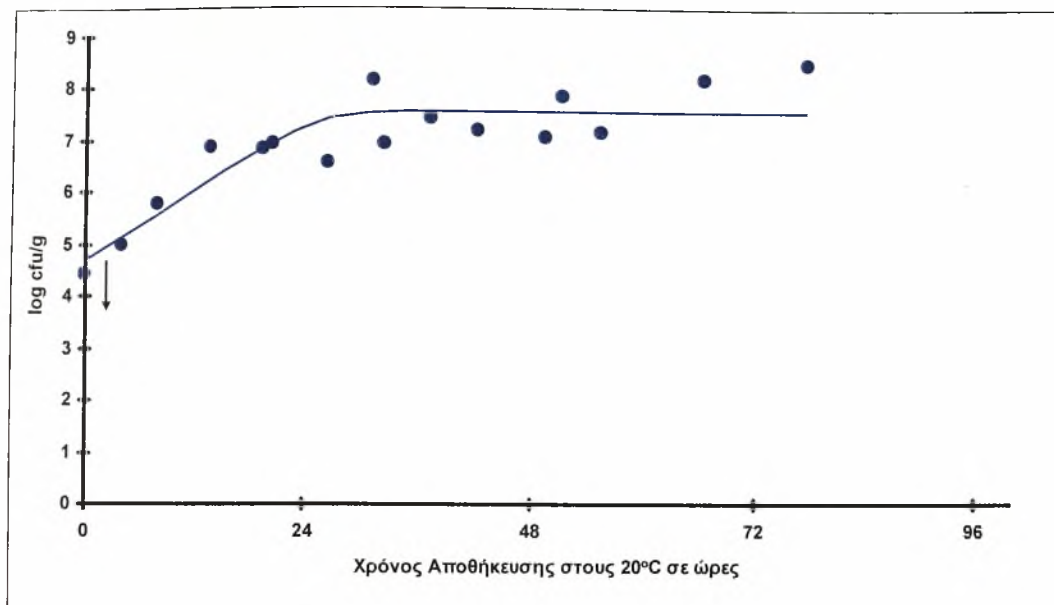
Ο χρόνος ζωής των караβίδων, κατά την έκθεση τους σε ατμοσφαιρικό αέρα, στις τρεις θερμοκρασίες 0°C, 5°C και 20°C προσδιορίστηκε στις (73-97), (48-71) και ~12 ώρες αντίστοιχα. Η έναρξη της μικροβιακής ανάπτυξης μετά το θάνατο της караβίδας στις τρεις θερμοκρασίες αρχίζει από διαφορετικά επίπεδα μικροβιακού πληθυσμού (Πίνακας 3.1).



Γράφημα 3.1.: Η μεταβολή της Ο.Μ.Χ. στη σάρκα της καραβίδας (*Nephrops norvegicus*) κατά τη διάρκεια αποθήκευσής της στους 0°C, και ο χρόνος θανάτου της. Με το βέλος (↓) επισημαίνεται κατά προσέγγιση η μέση χρονική στιγμή θανάτου των καραβίδων.



Γράφημα 3.2.: Η μεταβολή της Ο.Μ.Χ. στη σάρκα της καραβίδας (*Nephrops norvegicus*) κατά τη διάρκεια αποθήκευσής της στους 5°C, και ο χρόνος θανάτου της. Με το βέλος (↓) επισημαίνεται κατά προσέγγιση η μέση χρονική στιγμή θανάτου των καραβίδων.



Γράφημα 3.3.: Η μεταβολή της Ο.Μ.Χ. στη σάρκα της καραβίδας (*Nephrops norvegicus*) κατά τη διάρκεια αποθήκευσής της στους 20°C, και ο χρόνος θανάτου της. Με το βέλος (↓) επισημαίνεται κατα προσέγγιση η μέση χρονική στιγμή θανάτου των καραβίδων.

Πίνακας 3.1.: Χρόνος ζωής της καραβίδας (*Nephrops norvegicus*) έξω από το νερό ανάλογα με τη θερμοκρασία αποθήκευσής τους.

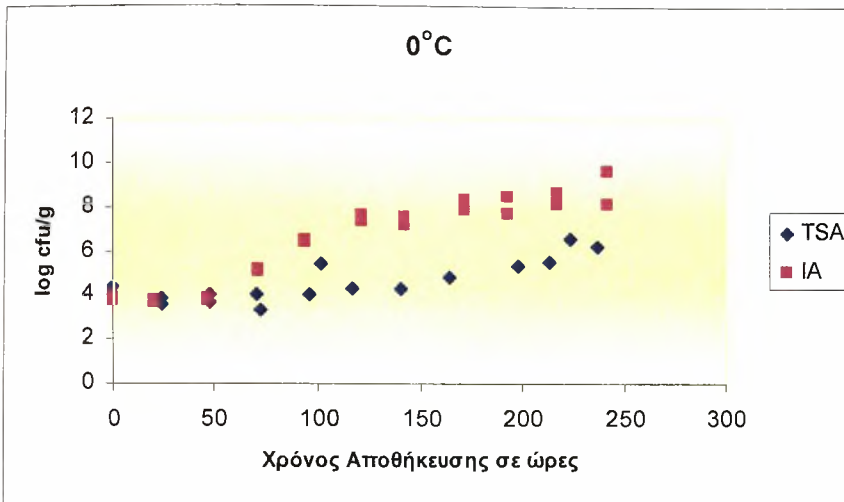
Θερμοκρασία Αποθήκευσης	Χρόνος Θανάτου της Καραβίδας (h)	Μικροβιακός Πληθυσμός τη Στιγμή Θανάτου της Καραβίδας (Log ₁₀ cfu/g)
0°C	73-97	3,9
5°C	48-71	4,3
20°C	~12	5

3.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων των θρεπτικών υλικών Tryptone Soy Agar (TSA) και Iron Agar (IA) για τη μέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (ΟΜΧ).

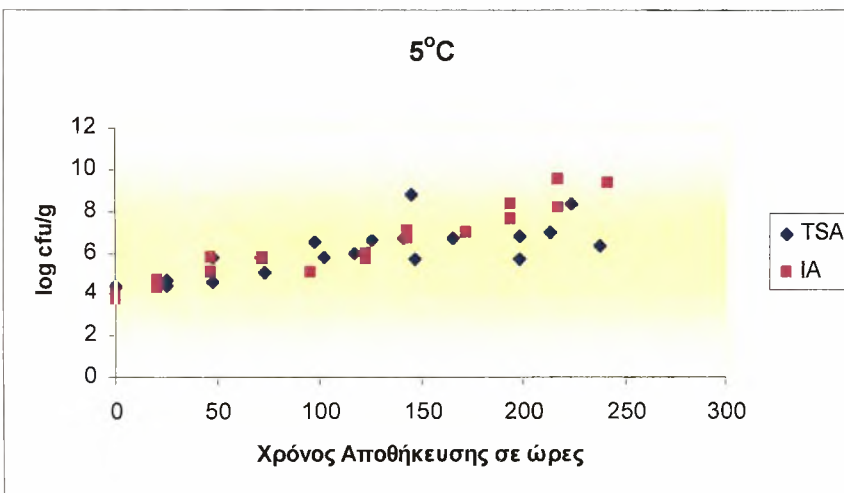
Για τον υπολογισμό της ΟΜΧ της καραβίδας χρησιμοποιήσαμε δύο διαφορετικά θρεπτικά υλικά. Επιφανειακή εξάπλωση σε τρυβλία TSA και επώαση για 48h στους 25°C και IA με ενσωμάτωση και επώαση για 48h, στους 25°C. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω (Γράφημα 3.4, 3.5, 3.6.).

Τα δύο θρεπτικά υλικά δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά την καταμέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας στις θερμοκρασίες των 5°C και των 20°C (Γράφημα 3.5, 3.6). Αντίθετα στη θερμοκρασία των 0°C στο IA φαίνεται να αναπτύσσονται περισσότερες αποικίες μικροοργανισμών σε σύγκριση με το TSA. Η

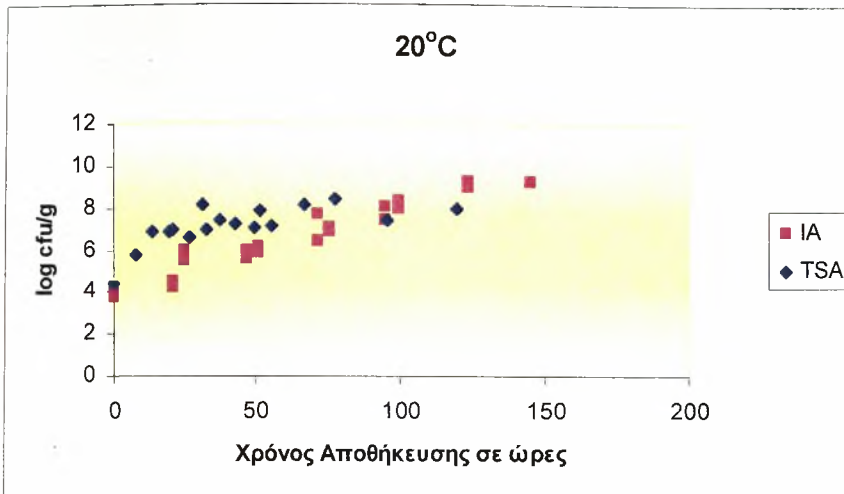
διαφορά αυτή είναι αρκετά σημαντική αφού αγγίζει τον ένα με δύο λογαρίθμους (Γράφημα 3.4)



Γράφημα 3.4.: Σύγκριση αποτελεσμάτων των TSA και IA για την καταμέτρηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας της καραβίδας στους 0°C.



Γράφημα 3.5.: Σύγκριση αποτελεσμάτων των TSA και IA για την καταμέτρηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας της καραβίδας στους 5°C.



Γράφημα 3.6.: Σύγκριση αποτελεσμάτων των TSA και IA για την καταμέτρηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας της караβίδας στους 20°C.

3.3. Μεταβολή του pH στη σάρκα της караβίδας

Ως pH της σάρκας της караβίδας μετρήθηκε συμβατικά το pH της πρώτης δεκαδικής αραιώσης με τη χρήση pH-μέτρου. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω στους Πίνακες 3.2, 3.3 και 3.4.

Η μεταβολή του pH παρουσιάζει αύξηση και στις τρεις μεταχειρίσεις (0°C, 5°C, 20°C). Στις θερμοκρασίες των 0°C και των 5°C η αύξηση είναι παρόμοια με ασήμαντες διαφορές. Αντίθετα στη θερμοκρασία των 20°C η αύξηση του pH συμβαίνει με ταχύτερο ρυθμό φτάνοντας στο 7,9 στις 145 ώρες αποθήκευσης της караβίδας ενώ στους 5°C αγγίζει το 7,9 στο διπλάσιο χρόνο και τέλος στους 0°C θα φτάσει τελικά το 7,6 μετά από 241 ώρες αποθήκευσης.

Πίνακας 3.2: Μεταβολή του pH κατά τη διάρκεια αποθήκευσης της караβίδας στους 0°C.

ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ 0°C (ώρες)	pH
0	6,44
21	6,30
47	6,55
72	6,53
95	7,18
122	7,13
143	7,09
172	6,96
193	7,26
217	7,43
241	7,62

Πίνακας 3.3: Μεταβολή του pH κατά τη διάρκεια αποθήκευσης της καραβίδας στους 5°C.

ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ 5°C (ώρες)	pH
0	6,44
21	6,45
47	6,35
72	6,68
95	6,74
122	6,98
143	6,92
172	7,46
193	7,37
217	7,26
241	7,89

Πίνακας 3.4: Μεταβολή του pH κατά τη διάρκεια αποθήκευσης της καραβίδας στους 20°C.

ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ 20°C (ώρες)	pH
0	6,44
21	7,10
25	7,13
47	7,25
51	7,54
72	7,64
76	7,85
95	8,08
100	7,80
124	7,80
145	7,90

3.4. Μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της καραβίδας κατά την αποθήκευση της στις θερμοκρασίες 20°C, 5°C και 0°C.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο εμπορικός χρόνος ζωής της καραβίδας (*Nephrops norvegicus*). Το πέρας του εμπορικού χρόνου ζωής προσδιορίζεται ως η χρονική στιγμή κατά την οποία τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είναι σε τέτοιο επίπεδο όπου ο καταναλωτής απορρίπτει το προϊόν.

Στην περίπτωση της καραβίδας, η μεταβολή των οργανοληπτικών της χαρακτηριστικών στις θερμοκρασίες των 5°C και 0°C, είναι αυτή που τελικά θα καταστήσει τον οργανισμό απορριπτέο προς πώληση και όχι η αύξηση των μικροοργανισμών, σε αντίθεση με τους 20°C, που η μεταβολή των οργανοληπτικών παραμέτρων συμβαίνει παράλληλα με τη μικροβιακή αύξηση.

Στους 20°C οι οργανοληπτικές αλλαγές συμβαίνουν με ταχύτατους ρυθμούς. Ήδη από τις 24 ώρες αποθήκευσης σε θερμοκρασία δωματίου, η καραβίδα είναι μη αποδεκτή από τους δοκιμαστές εξαιτίας των άσχημων οσμών που παρουσιάζει ενώ το

χρώμα της είναι ακόμη σε αποδεκτά επίπεδα (Πίνακας 3.5), παράλληλα και οι μικροοργανισμοί αγγίζουν τα 7 logs cfu/g, (Γράφημα 3.3) δηλαδή, και μικροβιολογικά απαράδεκτη.

Στη θερμοκρασία των 5°C η καραβίδα απορρίπτεται στις 66 ώρες εφόσον και οι τρεις παράμετροι των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών που μελετήθηκαν (χρώμα, οσμή, υφή σάρκας) χαρακτηρίζονται απαράδεκτα (Πίνακας 3.6), σε αντίθεση με τους μικροοργανισμούς, οι οποίοι βρίσκονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα ~5 logs cfu/g (Γράφημα 3.2).

Τέλος στους 0°C, η αλλοίωση της καραβίδας συμβαίνει με πιο αργούς ρυθμούς, αφού φαίνεται να συντηρείται καλά μέχρι τις 66 ώρες αποθήκευσής της. Από εκεί και έπειτα χαρακτηρίζεται ακατάλληλη για πώληση εξαιτίας των άσχημων οσμών της και της αμαύρωσης του εξωσκελετού που την περιβάλλει (Πίνακας 3.7), ενώ και σε αυτή την περίπτωση η μικροοργανισμοί βρίσκονται ακόμη στη φάση προσαρμογής των 4 log cfu/g (Γράφημα 3.1).

Πίνακας 3.5: Οργανοληπτική εκτίμηση της καραβίδας κατά την αποθήκευσή της στους 20°C

Χρόνος συντήρησης (ώρες)	Χρώμα	Οσμή	Υφή σάρκας	Συνολική εμφάνιση
0	άριστο	άριστη	άριστη	άριστη
16	καλό	αποδεκτή	άριστη	αποδεκτή
24	αποδεκτό	απαράδεκτη	καλή	απαράδεκτη
48	απαράδεκτο	απαράδεκτη	αποδεκτή	απαράδεκτη
66	απαράδεκτο	απαράδεκτη	απαράδεκτη	απαράδεκτη
72	απαράδεκτο	απαράδεκτη	απαράδεκτη	απαράδεκτη
96	απαράδεκτο	απαράδεκτη	απαράδεκτη	απαράδεκτη

Πίνακας 3.6: Οργανοληπτική εκτίμηση της καραβίδας κατά την αποθήκευσή της στους 5°C

Χρόνος συντήρησης (ώρες)	Χρώμα	Οσμή	Υφή σάρκας	Συνολική εμφάνιση
0	άριστο	άριστη	άριστη	άριστη
24	καλό	καλή	καλή	καλή
48	αποδεκτό	αποδεκτή	αποδεκτή	αποδεκτή
66	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτη	απαράδεκτη
72	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτη
96	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτη
115	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτη
140	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτη
163	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτη

Πίνακας 3.7: Οργανοληπτική εκτίμηση της καραβίδας κατά την αποθήκευσή της στους 0°C

Χρόνος συντήρησης (ώρες)	Χρώμα	Οσμή	Υφή σάρκας	Συνολική εμφάνιση
0	άριστο	άριστη	άριστη	άριστη
24	καλό	καλή	καλή	καλή
48	καλό	καλή	καλή	καλή
66	αποδεκτό	αποδεκτή	καλή	αποδεκτή
72	απαράδεκτο	απαράδεκτη	καλή	απαράδεκτη
96	απαράδεκτο	απαράδεκτη	καλή	απαράδεκτη
115	απαράδεκτο	απαράδεκτη	απαράδεκτη	απαράδεκτη
140	απαράδεκτο	απαράδεκτη	απαράδεκτη	απαράδεκτη
163	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτο	απαράδεκτη

Η αμαύρωση του εξωσκελετού και οι άσχημες οσμές είναι τα βασικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που θα καταστήσουν τελικά την караβίδα μη αποδεκτή. Ενδεικτικά παρουσιάζεται παρακάτω η μεταβολή του χρώματος του εξωσκελετού της караβίδας στις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης μετά από 48 ώρες αποθήκευσης της караβίδας (Εικόνα. 3.1)



Εικόνα 3.1: Συγκριτική παρουσίαση της μεταβολής του χρώματος στις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης μετά από 48 ώρες Α. στους 0°C Β. Στους 5°C Γ. στους 20°C

3.5. Μεταβολή μικροβιακού πληθυσμού αλλοίωσης

Η μεταβολή του μικροβιακού πληθυσμού αλλοίωσης της караβίδας όπως είναι οι *Pseudomonas* sp., τα βακτήρια που παράγουν H_2S (*Shewanella putrefaciens*) και τα εντεροβακτηριοειδή, ανάλογα με τη θερμοκρασία και το χρόνο αποθήκευσης της, παρουσιάζονται παρακάτω (Γράφημα 3.7, 3.8, 3.9).

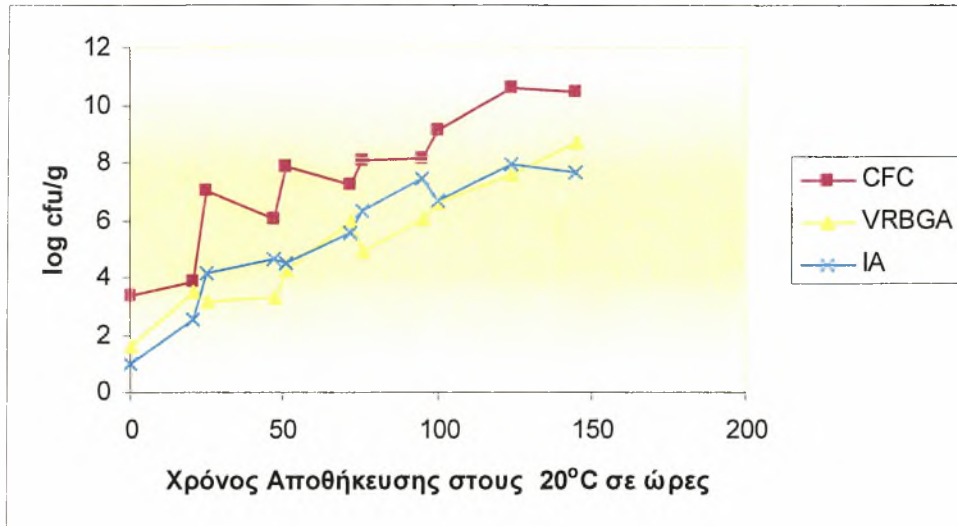
Στη θερμοκρασία των 20°C οι ψευδομονάδες παρουσιάζουν πολύ γρήγορη αύξηση φτάνοντας σε λιγότερο από 50 ώρες τα 7 logs cfu/g σε αντίθεση με τις θερμοκρασίες των 5°C όπου μετά από 72 ώρες θα φτάσουν τα 7 logs cfu/g και τέλος στους 0°C θα φτάσουν τα 7 logs cfu/g μετά από 122 ώρες.

Τα βακτήρια που παράγουν H_2S (*Shewanella putrefaciens*), ιδιαίτερα στις χαμηλές θερμοκρασίες των 5°C και 0°C παρουσιάζουν μακρά περίοδο προσαρμογής και τις πρώτες ώρες αποθήκευσης της караβίδας βρίσκονται κάτω από το όριο ανίχνευσης (Γράφημα 3.8.,3.9.)

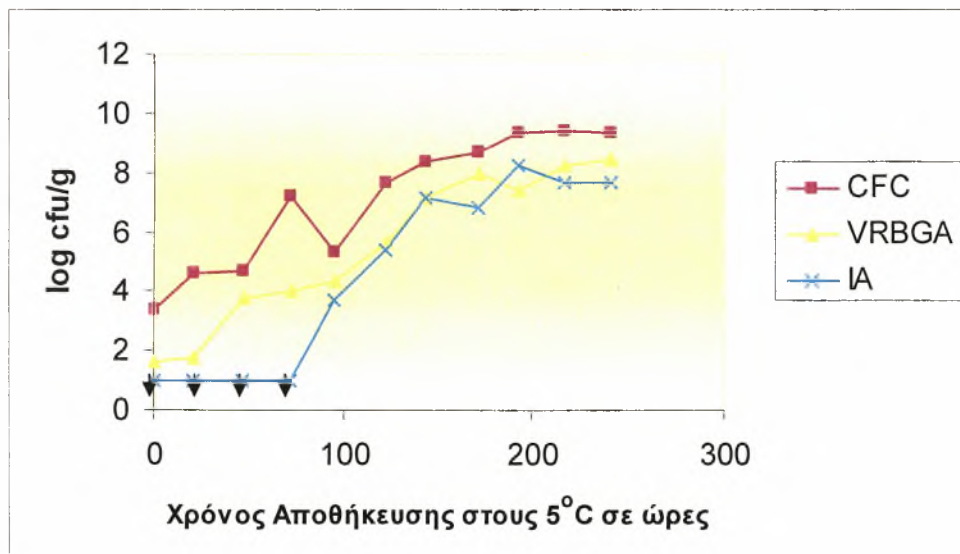
Τα εντεροβακτηριοειδή παρουσιάζουν παρόμοιους ρυθμούς αύξησης με τα βακτήρια που παράγουν H_2S (*Shewanella putrefaciens*) και στις τρεις μεταχειρίσεις. Με μόνη διαφορά ότι στις θερμοκρασίες των 5°C και 0°C παρουσιάζουν μικρότερους χρόνους προσαρμογής από τα βακτήρια που παράγουν H_2S , αλλά τελικά μετά τις 150 ώρες αποθήκευσης αυξάνονται παρόμοια, χωρίς σημαντικές διαφορές (Γράφημα 3.7, 3.8, 3.9).



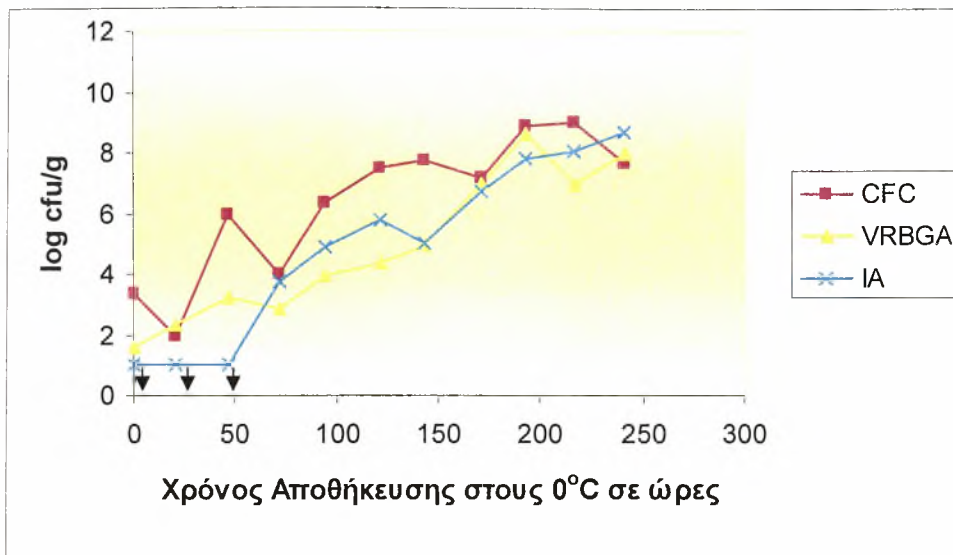
Επιπλέον, καταμετρήθηκαν ζύμες-μύκητες, οξυγαλακτικά και *Brochothrix thermosphacta* και σε όλες τις περιπτώσεις οι πληθυσμοί ήταν κάτω του επιπέδου ανίχνευσης.



Γράφημα 3.7: Βακτηριακή αύξηση των CFC (*Pseudomonas* spp.), VRBGA (εντεροβακτηριοειδή), IA (βακτήρια που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*), σε θερμοκρασία 20°C.



Γράφημα 3.8: Βακτηριακή αύξηση των CFC (*Pseudomonas* spp.), VRBGA (εντεροβακτηριοειδή), IA (βακτήρια που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*), σε θερμοκρασία 5°C. Με το βέλος (↓) επισημαίνεται ότι ο μικροοργανισμός βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης.



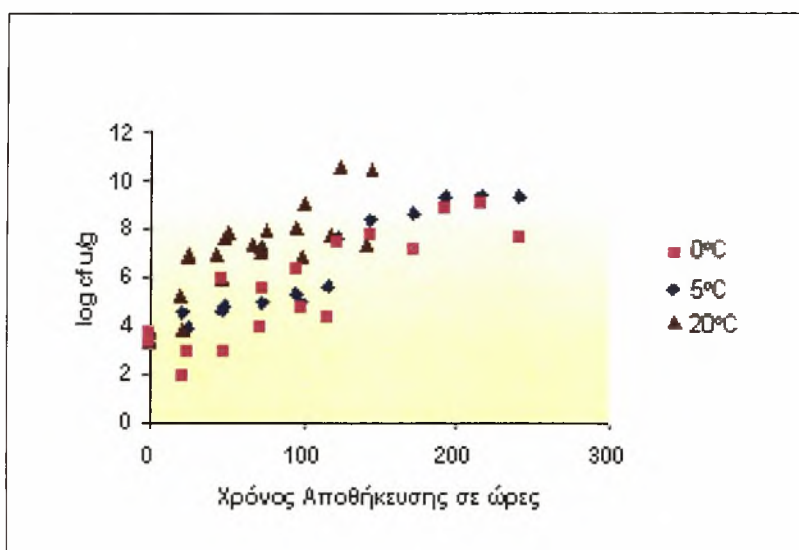
Γράφημα 3.9: Βακτηριακή αύξηση των CFC (*Pseudomonas* spp.), VRBGA (εντεροβακτηριοειδή), IA (βακτήρια που παράγουν H_2S (*Shewanella putrefaciens*), σε θερμοκρασία $0^\circ C$. Με το βέλος (\downarrow) επισημαίνεται ότι ο μικροοργανισμός βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης.

Ποιο αναλυτικά παρουσιάζεται παρακάτω η μικροβιακή αύξηση κάθε μικροοργανισμού ξεχωριστά σε κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης (Γράφημα 3.10, 3.11, 3.12).

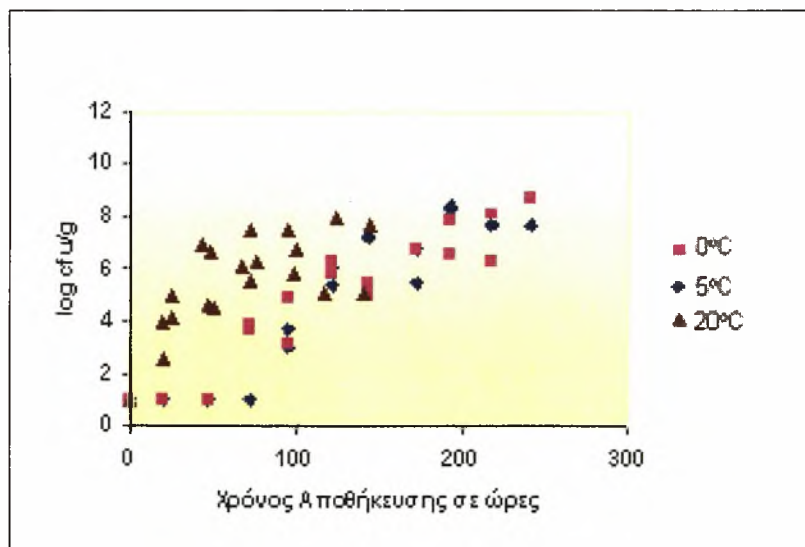
Οι Ψευδομονάδες (*Pseudomonas* spp.), είναι αυτές που φτάνουν σε υψηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τα βακτήρια που παράγουν H_2S (*Shewanella putrefaciens*) και τα εντεροβακτηριοειδή. Δεν θα παρουσιάσουν φάση προσαρμογής σε καμία από τις θερμοκρασίες αποθήκευσης, αντίθετα ειδικά στους $20^\circ C$ θα αυξηθούν ταχύτατα φτάνοντας τα 10 logs cfu/g περίπου στις 150 ώρες αποθήκευσης. Διαφορά αρκετά σημαντική αφού αγγίζει τους 2 λογαρίθμους σε σχέση με τα βακτήρια που παράγουν H_2S (*Shewanella putrefaciens*) και τα εντεροβακτηριοειδή. Στους $5^\circ C$ και τους $0^\circ C$ οι Ψευδομονάδες, αυξάνονται παρόμοια αλλά και εδώ η παρουσία τους είναι αρκετά σημαντική, φτάνοντας τα ~ 9 logs cfu/g μετά από 250 ώρες αποθήκευσης. (Γράφημα 3.10).

Τα βακτήρια που παράγουν H_2S (*Shewanella putrefaciens*), στους $5^\circ C$ και $0^\circ C$, παρουσιάζουν μεγάλη φάση προσαρμογής, αυξάνονται με σχετικά αργούς ρυθμούς και θα φτάσουν στη στατική φάση μετά τις 200 ώρες αποθήκευσης. Στους $20^\circ C$, η αύξηση τους είναι πολύ πιο γρήγορη, χωρίς φάση προσαρμογής και θα φτάσουν τελικά τα 8 logs cfu/g, στις 100 ώρες αποθήκευσης της καραβίδας, δηλαδή, στο μισό χρονικό διάστημα σε σχέση με τις θερμοκρασίες των $5^\circ C$ και $0^\circ C$ (Γράφημα 3.11).

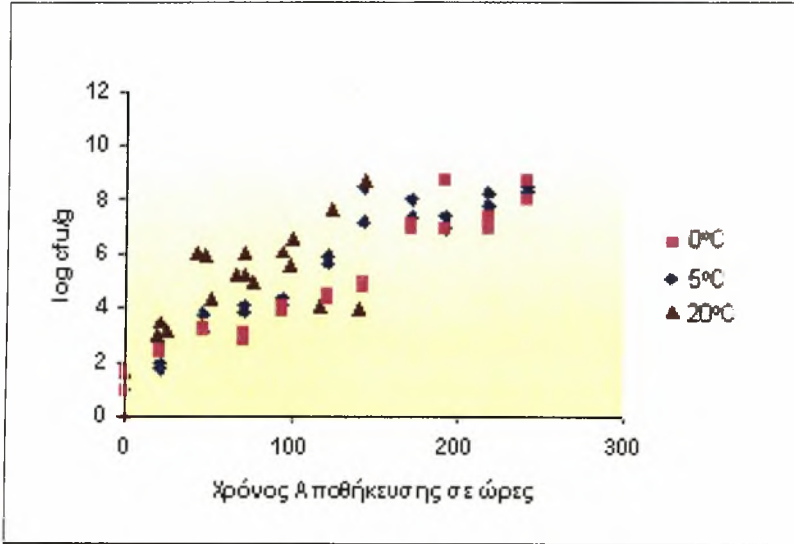
Τέλος, τα Εντεροβακτηριοειδή, δεν παρουσιάζουν σε καμία από τις θερμοκρασίες αποθήκευσης φάση προσαρμογής. Και εδώ, η θερμοκρασία των 20°C, είναι αυτή που οι μικροοργανισμοί αυξάνονται πιο γρήγορα, αφού στις 150 ώρες αποθήκευσης, τα Εντεροβακτηριοειδή φτάνουν την στατική φάση (8 logs cfu/g). Στις θερμοκρασίες των 5°C και 0°C, η αύξηση τους είναι πολύ πιο αργή, με ελαφρώς πιο γρήγορη αύξηση των μικροοργανισμών στους 5°C. Αλλά τελικά και στις δύο θερμοκρασίες τα Εντεροβακτηριοειδή φτάνουν στη στατική φάση μετά από περίπου 250 ώρες αποθήκευσης της καραβίδας (Γράφημα 3.12).



Γράφημα 3.10: Απεικόνιση της μεταβολής των ψευδομονάδων (*Pseudomonas spp.*) κατά την αποθήκευση της καραβίδας σε θερμοκρασίες 20°C, 5°C, 0°C.



Γράφημα 3.11: Απεικόνιση της μεταβολής των βακτηρίων που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*) κατά την αποθήκευση της καραβίδας σε θερμοκρασίες 20°C, 5°C, 0°C.



Γράφημα 3.12: Απεικόνιση της μεταβολής των εντεροβακτηρίων κατά την αποθήκευση της καραβίδας σε θερμοκρασίες 20°C, 5°C, 0°C.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο χρόνο θανάτου της караβίδας (*Nephrops norvegicus*) και στη μεταβολή της ολικής μικροβιακής χλωρίδας OMX

Η θερμοκρασία αποθήκευσης φαίνεται να έχει καταλυτικό ρόλο στον εμπορικό χρόνο ζωής της караβίδας. Πληθώρα ερευνών έχει δείξει ότι η αποθήκευση υπό ψύξη αποτελεί σημαντική μέθοδο συντήρησης για τα καρκινοειδή. Οι χαμηλές θερμοκρασίες επιβραδύνουν την ενζυμική δραστηριότητα και καθυστερούν ή παρεμποδίζουν την αύξηση των μικροοργανισμών (Hale & Waters, 1988).

Σε ότι αφορά την αποθήκευση της караβίδας (*Nephrops norvegicus*) ο εμπορικός χρόνος ζωής της ήταν μεγαλύτερος στον πάγο (0°C) σε σχέση με αυτές που αποθηκεύτηκαν σε ψύξη (5°C). Στις караβίδες που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου (20°C) η μικροβιακή χλωρίδα αναπτύχθηκε με ταχύτατους ρυθμούς, μειώνοντας τον εμπορικό χρόνο ζωής τους, σε λιγότερο από 24 ώρες.

Πιο αναλυτικά, στους 0°C οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν μεγάλη φάση προσαρμογής, ώστε να προσαρμοστούν τα κύτταρα στις νέες συνθήκες ανάπτυξης, και τελικά να αλλοιώσουν το προϊόν περίπου μετά από 240 ώρες. Οι μικροοργανισμοί στρεσάρονται εξαιτίας των χαμηλών θερμοκρασιών και θέλουν περισσότερο χρόνο να προσαρμοστούν και να αρχίσουν την λογαριθμική (εκθετική) αύξησή τους. Κάτι παρόμοιο συμβαίνει και στην θερμοκρασία των 5°C, αλλά με μικρότερους χρόνους προσαρμογής των κυττάρων και με μια πιο γρήγορη μικροβιακή αύξηση.

Στους 5°C η αλλοίωση αρχίζει μετά από ~192 ώρες αποθήκευσης. Τη σπουδαιότητα που ασκεί η θερμοκρασία αποθήκευσης στον εμπορικό χρόνο ζωής της караβίδας και γενικότερα στα καρκινοειδή, μπορούμε να την διακρίνουμε και από παρόμοια αποτελέσματα σε πείραμα που έγινε σε τρία διαφορετικά είδη καβουριών (*Carcinus maenas*, *Necora puber* and *Cancer pagurus*). Τα καβούρια που αποθηκεύτηκαν σε πάγο (4°C) αλλοιώθηκαν μετά από 504, 128, 296 ώρες σε αντίθεση με αυτά που αποθηκεύτηκαν στους 20°C που αλλοιώθηκαν μετά από 388, ~24, ~24 ώρες αντίστοιχα (Robson et al., 2007).

Επιπλέον έρευνες, έχουν δείξει ότι νέα, πολλά υποσχόμενα συστήματα ψύξης, όπως το “slurry ice system” είναι ακόμη ποιο αποτελεσματικά στην συντήρηση ιχθύων και καρκινοειδών εξαιτίας των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν έναντι του

τριμμένου πάγου που χρησιμοποιήθηκε στο συγκεκριμένο πείραμα, καθώς η επιθυμητή θερμοκρασία επιτυγχάνεται γρηγορότερα και τέλος περιορίζεται η διεισδυτικότητα του οξυγόνου (το στρώμα πάγου είναι πολύ συμπαγές) με συνέπεια να επιβραδύνονται οι μηχανισμοί μελάγχωσης των καρκινοειδών (Aubourg et al., 2007). Άλλες μελέτες που έγιναν σε γαρίδες έδειξαν μικρότερη μικροβιακή ανάπτυξη μετά από αποθήκευση σε “slurry ice system” σε σύγκριση με τον τριμμένο πάγο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία (Losada et al., 2006).

Οι χαμηλές θερμοκρασίες δεν παρατείνουν μόνο τους ρυθμούς αύξησης των μικροοργανισμών, αλλά επιπλέον φαίνεται να παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στον χρόνο που χρειάζεται ώστε να επέλθει ο θάνατος της караβίδας όταν αυτή βρεθεί έξω από το νερό. Αυτό έχει σημαντική επίδραση στον ρυθμό αλλοίωσης της караβίδας και κατ’ επέκταση στον εμπορικό χρόνο ζωής της, εφόσον όσο ο οργανισμός παραμένει ζωντανός δεν αλλοιώνεται. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια μικρή ανάπτυξη μικροοργανισμών στις ζωντανές караβίδες, στις θερμοκρασίες των 5°C, 20°C, που πρέπει να οφείλεται σε μειωμένη λειτουργία του ανοσοποιητικού τους συστήματος, εξαιτίας της έκθεσης τους στον ατμοσφαιρικό αέρα με συνέπεια την εξασθένηση της λειτουργίας των βραγχίων, συσσώρευση τοξικής αμμωνίας και μείωση του οξυγόνου (Danford et al., 2002). Επειδή η μικροβιακή ανάπτυξη στις ζωντανές караβίδες παρουσιάζει μια αύξηση με την αύξηση της θερμοκρασίας, από τα παραπάνω θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι στις χαμηλές θερμοκρασίες οι караβίδες στρεσάρονται λιγότερο και κατά συνέπεια το ανοσοποιητικό τους σύστημα λειτουργεί αποδοτικότερα.

Η διάρκεια ζωής των караβίδων που αποθηκεύτηκαν στους 0°C ήταν μεγαλύτερη και προσδιορίστηκε στις 73-79 ώρες. Στους 5°C 48 – 71 ώρες και στους 20°C, περίπου 12 ώρες. Πράγματι, σε πειράματα που έχουν γίνει έχει βρεθεί ότι η θερμοκρασία παίζει σημαντικό ρόλο στην θνησιμότητα της караβίδας (*Nephrops norvegicus*) όταν αυτή εκτίθεται σε ατμοσφαιρικό αέρα. Όσο μεγαλύτερη είναι η θερμοκρασία αποθήκευσης τόσο μεγαλύτερη και η θνησιμότητα της караβίδας.

Σε έρευνα που μελετήθηκε ο χρόνος ζωής της караβίδας (*Nephrops norvegicus*) σε σχέση με την θερμοκρασία, όταν αυτή εκτίθεται σε ατμοσφαιρικό αέρα, βρέθηκε ότι: στην θερμοκρασία των 25°C η θνησιμότητα έφτασε το 80% μετά από έκθεση σε ατμοσφαιρικό αέρα για 4 ώρες και αυξήθηκε σε 100% μετά από 8 ώρες. Στη θερμοκρασία 10°C μετά από 8 ώρες έκθεσης δεν παρουσιάστηκε καμία

θνησιμότητα ενώ μετά από 12 ώρες το ποσοστό θνησιμότητας φτάνει στο 20%. Κάτι αντίστοιχο συμβαίνει και με τους 15°C (Ridgway, *et al.*, 2006).

Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι η θερμοκρασία αποθήκευσης έχει καταλυτική σημασία στον εμπορικό χρόνο ζωής της καραβίδας. Οι χαμηλές θερμοκρασίες αποθήκευσης παρατείνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα το χρόνο ζωής του οργανισμού έξω από το νερό. Όσο οι καραβίδες μένουν ζωντανές η λειτουργία του ανοσοποιητικού τους συστήματος εμποδίζει την αύξηση των μικροοργανισμών καθώς και οποιαδήποτε χημική μεταβολή. Αντίθετα, με το θάνατο του οργανισμού, σηματοδοτείται η αρχή της αύξησης των μικροοργανισμών με συνέπεια την αλλοίωση του.

Συμπερασματικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι όσο χαμηλότερη η θερμοκρασία αποθήκευσης της καραβίδας, εκτός της μείωσης του ρυθμού αύξησης των μικροοργανισμών, παρατείνεται επιπλέον ο χρόνος ζωής της έξω από το νερό, και κατά συνέπεια αυξάνεται ο εμπορικός χρόνος ζωής του προϊόντος.

4.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων των θρεπτικών υλικών Tryptone Soy Agar (TSA) και Iron Agar (IA) για την μέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (OMX).

Για τον υπολογισμό της OMX χρησιμοποιήσαμε δύο διαφορετικά θρεπτικά υλικά, το Tryptone Soy Agar (TSA) και Iron Agar (IA). Από τα αποτελέσματα φαίνεται να μην παρουσιάζονται σημαντικές διαφορές στις θερμοκρασίες των 5°C και των 20°C. Εντούτοις στην θερμοκρασία των 0°C η διαφορά αγγίζει τον 1 με 2 λογαρίθμους, διαφορά αρκετά σημαντική όσο αφορά τους μικροβιακούς πληθυσμούς.

Σε πειράματα στα οποία συγκρίθηκε το IA με το plate count agar (PCA) (από τα κοινά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τον προσδιορισμό της ολικής μεσόφιλης μικροβιακής χλωρίδας), βρέθηκε ότι ένα πλουσιότερο άγαρ (άγαρ σιδήρου, Lyngby, Oxoid) (iron agar) δίνει σημαντικά υψηλότερες αριθμήσεις από το PCA (Gram, 1990).

Στην περίπτωση των δικών μας αποτελεσμάτων, πιθανότατα το IA να παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες. Πιο συγκεκριμένα, το IA είναι θρεπτικό υπόστρωμα το οποίο χρησιμοποιείται για την ανίχνευση μικροοργανισμών που παράγουν H₂S όπως η *Shewanella putrefaciens* (μαύρες αποικίες) αλλά και για την καταμέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (συνολικός αριθμός αποικιών) (Gram *et al.*, 1987). Η *Shewanella putrefaciens*, είναι

ένας από τους πιο σημαντικούς αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς των ψαριών σε θερμοκρασίες ψύξης (Jorgensen *et al.*, 1988; Lima dos Santos, 1978). Άρα είναι πολύ πιθανό να καταμετρούνται περισσότερες αποικίες ψυχρότροφων βακτηρίων στο ΙΑ από το TSA, και γι' αυτό να παρατηρήθηκε αυτή η διαφορά ανάμεσα στα δύο υλικά στη θερμοκρασία των 0°C.

4.3. Μεταβολή του pH στη σάρκα της караβίδας

Ποικίλοι ενδογενείς και μικροβιολογικοί μηχανισμοί τείνουν να καταστήσουν το pH της σάρκας των καρκινοειδών όλο και περισσότερο αλκαλικό (Losada *et al.*, 2006). Το pH αυξάνεται με το χρόνο και τη θερμοκρασία λόγω βιοχημικών αντιδράσεων (Shamshad *et al.*, 1990). Η αύξηση στο pH των φρέσκων καρκινοειδών και ιχθύων συμβαίνει ενδεχομένως λόγω της αποσύνθεσης των αζωτούχων ενώσεων και σχηματισμού NH₃ καθώς και TMA, DMA από TMAO (Benjakul, *et al.*, 2009). Η απελευθέρωση ανόργανου φωσφορικού άλατος και αμμωνίας λόγω της ενζυματικής υποβάθμισης του ATP είναι επίσης συνδεδεμένη με την αύξηση του pH (Subramanian, 2007).

Είναι λογικό να περιμένουμε τη μεγαλύτερη μεταβολή (αύξηση) του pH στη θερμοκρασία των 20°C. Πράγματι, στους 20°C είχαμε αύξηση του pH από το 6,44 στο 7,90 μετά από 145 ώρες αποθήκευσης. Στις χαμηλότερες θερμοκρασίες των 0°C και 5°C η μεταβολή ήταν ποιο ομαλή από 6,44 αρχικό pH σε 7,62 και 7,89 αντίστοιχα, μετά 241 ώρες. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάζονται και σε έρευνα που μελετήθηκε η επίδραση της ψύξης στην γαρίδα. Πιο συγκεκριμένα, το αρχικό pH 6,95 αυξήθηκε σε pH 7,93 και 7,85 μετά από 39 και 74 ημέρες σε θερμοκρασίες αποθήκευσης -5°C και -8°C αντίστοιχα (Tsironi *et al.*, 2009). Γενικά αύξηση του pH παρατηρείται σε όλα τα θαλασσινά που αποθηκεύονται υπό παρόμοιους όρους όπως το *Sardina pilchardus* (Rodríguez-Casado *et al.*, 2007), *Sparus aurata* (Kilinc *et al.*, 2007), *Psetta maxima* (Rodríguez, Barros-Velázquez *et al.*, 2006), *Dicentrarchus labrax* (Kilinc *et al.*, 2007), and *Solea senegalensis* (Tejada *et al.*, 2007).

4.4. Μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της καραβίδας κατά την αποθήκευσή της στις θερμοκρασίες 20°C, 5°C και 0°C.

Τα καρκινοειδή αποτελούν προϊόντα μεγάλης οικονομικής σημασίας ανά τον κόσμο. Εντούτοις παρουσιάζουν μειωμένο εμπορικό χρόνο ζωής ως αποτέλεσμα διαφόρων παραγόντων (Losada *et al.*, 2006). Ένας από τους σημαντικότερους λόγους του μικρού εμπορικού χρόνου ζωής τους είναι η γρήγορη μεταβολή των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών, με άμεσο αποτέλεσμα τη μη αποδοχή τους από το καταναλωτικό κοινό.

Ο εμπορικός χρόνος ζωής της καραβίδας εκτός από τη μικροβιακή αύξηση προσδιορίστηκε και με βάση τη μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών που παρουσιάζει, ανάλογα με το χρόνο και την θερμοκρασία αποθήκευσης της. Σε σύγκριση με την αύξηση των μικροοργανισμών που μελετήθηκαν, η καραβίδα καθίσταται εμπορικά απαράδεκτη εξαιτίας των μη αποδεκτών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (χρώμα, οσμή, υφή σάρκας) που παρουσιάζει, πριν προλάβει να αλλοιωθεί από τους μικροοργανισμούς.

Πράγματι, στη θερμοκρασία των 20°C, η διάρκεια του εμπορικού χρόνου ζωής της καραβίδας, (σε ότι αφορά τα οργανοληπτικά της χαρακτηριστικά) συμβαίνει ταχύτατα εντός 24 ωρών. Η οσμή που εκπέμπεται χαρακτηρίστηκε απαράδεκτη ενώ το χρώμα της ήταν ακόμη σε αποδεκτά επίπεδα. Στη θερμοκρασία των 20°C, η μικροβιακή αύξηση συμβαίνει παράλληλα με τη μεταβολή των οργανοληπτικών της χαρακτηριστικών. Αυτό πιθανότατα να εξηγεί τη δημιουργία των άσχημων οσμών που παρουσιάζονται. Οι Gram *et al.*, (1996), αναφέρουν ότι βακτήρια όπως τα *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Vibrionaceae* κτλ. μπορούν να χρησιμοποιήσουν το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) ως τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων, με αποτέλεσμα την παραγωγή τριμεθυλαμίνης και τελικά την παραγωγή άσχημων οσμών.

Στους 5°C και 0°C, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά επίσης μεταβάλλονται με γρήγορους ρυθμούς, αφού το χρώμα και οι μυρωδιά τους τα καθιστά μη αποδεκτά για πώληση, ενώ οι μικροβιακοί πληθυσμοί βρίσκονται ακόμη σε χαμηλά επίπεδα.

Πιο αναλυτικά, στους 5°C μετά από 66 ώρες αποθήκευσης, ενώ η μικροβιακή χλωρίδα βρίσκεται κάτω από τα 5 logs cfu/g, όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που εκτιμήθηκαν χαρακτηρίστηκαν απαράδεκτα. Στους 0°C συμβαίνει κάτι παρόμοιο,

με τους μικροοργανισμούς να βρίσκονται στα 4 logs cfu/g ενώ η μυρωδιά και το χρώμα βρίσκονται σε απαράδεκτα προς πώληση επίπεδα.

Στις θερμοκρασίες των 5°C και των 0°C, εφόσον τα επίπεδα των μικροοργανισμών ήταν πολύ χαμηλά και στις δύο περιπτώσεις η ύπαρξη δυσάρεστων οσμών θα μπορούσε να οφείλεται σε χημικές αλλαγές στη σύσταση της σάρκας της караβίδας (Huss *et al.*, 1997).

Η αλλαγή του χρώματος έχει μελετηθεί εκτενώς, από πληθώρα ερευνών που έγιναν στην караβίδα (*Nephrops norvegicus*). Η αμαύρωση του εξωσκελετού οφείλεται στην ενζυματική οξείδωση της τυροσίνης ή παραγώγων της και τη δημιουργία της μελανίνης, η οποία οδηγεί σε σημαντική ποιοτική απώλεια των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (Yan *et al.*, 1989). Πράγματι ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα για την παράταση του εμπορικού χρόνου ζωής της караβίδας και γενικότερα των καρκινοειδών, είναι οι γρήγοροι ρυθμοί αμαύρωσης του εξωσκελετού τους.

Στην περίπτωση μας, οι караβίδες που αποθηκεύτηκαν στον πάγο απορρίπτονται την 5 ημέρα, αφού το χρώμα αλλά και η οσμή χαρακτηρίστηκαν απαράδεκτα. Η μεταβολή του χρώματος αλλά και η εμφάνιση άσχημων οσμών συμβαίνουν ταυτόχρονα. Σε έρευνα που έγινε στο ίδιο είδος (*Nephrops norvegicus*), οι караβίδες που αποθηκεύτηκαν σε τριμμένο πάγο απορρίπτονται για τους ίδιους λόγους (χρώμα και οσμή) την 7 ημέρα αποθήκευσής τους (Losada *et al.*, 2006). Κάτι παρόμοιο συμβαίνει και με την θερμοκρασία των 5°C, άλλα ο εμπορικός χρόνος ζωής τους περιορίζεται στις 3 ημέρες. Στη θερμοκρασία των 20°C, η οσμή είναι εκείνη που θα καταστήσει το προϊόν μη αποδεκτό σε περίπου 24 ώρες. Ενώ μετά από 48 ώρες και το χρώμα του εξωσκελετού θα χαρακτηριστεί επίσης απαράδεκτο.

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά μεταβάλλονται διαφορετικά στις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Στους 20°C, η караβίδα απορρίπτεται πρώτα εξαιτίας των άσχημων οσμών και έπειτα λόγω του χρώματος της, ενώ στις θερμοκρασίες των 5°C και των 0°C η αμαύρωση του εξωσκελετού και η δημιουργία απαράδεκτων οσμών είναι ταυτόχρονη. Αυτό είναι λογικό να συμβαίνει, εφόσον στους 5°C κι στους 0°C και η αμαύρωση αλλά και η εμφάνιση άσχημων οσμών είναι αποτέλεσμα χημικών αλλαγών στον εξωσκελετό καθώς και στη σύσταση της σάρκας της караβίδας, ενώ αντίθετα στους 20°C η εμφάνιση των οσμών είναι αποτέλεσμα μικροβιακής δραστηριότητας η οποία συμβαίνει πιο γρήγορα από τη χημική αλλοίωση.

Εκτός από το χρώμα και την οσμή, εκτιμήθηκε και η σκληρότητα σάρκας της караβίδας (το βρώσιμο μέρος του σώματός της). Η σύσταση των μυών των ιχθύων και γενικότερα των θαλασσινών εξαρτάται από διάφορους βιολογικούς παράγοντες όπως η περιεκτικότητά τους σε λίπος και κολλαγόνο. Αυτολυτικές και μικροβιολογικές διεργασίες καθιστούν τους μύες μαλακότερους και λιγότερο ελαστικούς (Olasfdottir *et al.*, 2004). Πράγματι με την πάροδο του χρόνου, η σάρκα караβίδας γινόταν όλο και μαλακότερη χωρίς ελαστικότητα. Βέβαια και στις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης η μεταβολή της σάρκας συνέβη με πολύ πιο αργούς ρυθμούς σε σχέση με τη μεταβολή του χρώματος και την εμφάνιση άσχημων οσμών. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με πείραμα που έγινε στο *Argyrosomus regius*, όπου αναφέρεται ότι το πρώτο από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που μεταβλήθηκαν ήταν η υφή της σάρκας (Hernandez *et al.*, 2009). Βέβαια, στη συγκεκριμένη έρευνα, μελέτησαν φιλέτα ιχθύος και όχι καρκινοειδή, οπότε είναι λογικό να μεταβάλλεται πρώτα η υφή της σάρκας και έπειτα το χρώμα.

4.5. Μεταβολή μικροβιακού πληθυσμού αλλοίωσης

Κατά τις αερόβιες συσκευασίες η μικροχλωρίδα που εμφανίζεται σε ιχθύες αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από *Pseudomonas* sp. και μικροοργανισμών που παράγουν H₂S (όπως η *Shewanella putrefaciens*), που αποτελούν τους πιο σημαντικούς αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς των ψαριών σε θερμοκρασίες ψύξης (Lima dos Santos, 1978: Jorgensen *et al.*, 1988). Αυτό συμβαίνει ως επί το πλείστον στους ιχθύς και στα καρκινοειδή που αλιεύονται σε εύκρατα (Levin, 1968: Gram *et al.*, 1987) ή υποτροπικά και τροπικά ύδατα (Lima dos Santos, 1978: Lannelongue *et al.*, 1982a: Gram *et al.*, 1990: Shamshad *et al.*, 1990). Πράγματι η ίδια διαπίστωση εξάγεται και από το πείραμά μας, όπου οι ψευδομονάδες υπήρξαν οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί και στις τρεις μεταχειρίσεις. Οι караβίδες τελικά θα αλλοιωθούν πρώτα από ψευδομονάδες και έπειτα από βακτήρια που παράγουν H₂S (όπως η *Shewanella*) και εντεροβακτηριοειδή.

Η *Shewanella putrefaciens* επίσης βρέθηκε σε παρόμοια επίπεδα με τις ψευδομονάδες, με μία μικρή υπεροχή των ψευδομονάδων και στις τρεις θερμοκρασίες του πειράματος. Αντίστοιχες μελέτες έχουν αναφέρει ότι ο αριθμός των βακτηρίων που παράγουν H₂S (όπως η *Shewanella putrefaciens*) υπήρξε χαμηλότερος από αυτά των ψευδομονάδων στους μεσογειακούς ιχθύες (Drosinos & Nychas, 1996).

Για το συγκεκριμένο πείραμα, οι караβίδες αλιεύθηκαν από νερά του Παγασητικού κόλπου, κατά τα μέσα της άνοιξης και τα μέσα του φθινοπώρου. Τα νερά και στις δύο περιπτώσεις είναι αρκετά θερμά, ώστε να είναι ποιο πιθανή η κυριαρχία των ψευδομονάδων έναντι των βακτηρίων που παράγουν H₂S και στις τρεις περιπτώσεις (20°C, 5°C και 0°C).

Επιπλέον σε έρευνα που έγινε σε ιχθύες των τροπικών νερών, απομονώθηκαν κύτταρα της *Shewanella putrefaciens* αλλά σε πολύ μικρούς αριθμούς πιθανόν λόγω της ανικανότητάς τους να ανταγωνιστούν τις ψευδομονάδες (Gram, 1993). Αυτό πιθανόν να εξηγεί και τους μεγάλους χρόνους προσαρμογής που παρατηρήθηκαν στην αύξηση των βακτηρίων που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*) στις θερμοκρασίες των 5°C και 0°C.

Επιπλέον οι Gram et al., (1987) αναφέρουν ότι βακτήρια τα οποία χαρακτηρίζονται ως ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί όπως τα Vibrionaceae μπορούν να παράγουν H₂S από αφομοίωση του θείου που περιέχεται στα θειούχα αμινοξέα όπως η κυστεΐνη, συστατικά που περιέχονται στο ΙΑ όπου καταμετρήθηκε η *Shewanella putrefaciens*.

Από τα παραπάνω θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι στην πραγματικότητα οι μαύρες αποικίες που καταμετρήθηκαν δεν αποτελούνται αποκλειστικά από *Shewanella putrefaciens* αλλά και από άλλα βακτήρια που μπορούν να παράγουν H₂S, γι αυτόν το λόγο όταν αναφερόμαστε στις αποικίες που καταμετρήσαμε στο ΑΙ αναφερόμαστε γενικά σε βακτήρια που παράγουν H₂S και όχι μόνο στη *Shewanella putrefaciens*.

Τα εντεροβακτηριοειδή παρουσιάζουν παρόμοιους ρυθμούς αύξησης με τα βακτήρια που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*) και στις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης χωρίς σημαντικές διαφοροποιήσεις. Οι Koutsoumanis et al. (1999), αναφέρουν ότι τα εντεροβακτηριοειδή αποτελούν μέρος της μικροχλωρίδας των ιχθύων της Μεσογείου. Επιπλέον τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με άλλες έρευνες που δείχνουν ότι τα εντεροβακτηριοειδή είναι ικανά να αναπτύσσονται σε χαμηλές θερμοκρασίες (Sankar et al., 2008), εφόσον ακόμη και στις θερμοκρασίες των 5 °C και των 0°C η αύξηση τους είναι αρκετά σημαντική, αλλά αρκετά μικρότερη από την αύξηση των ψευδομονάδων. Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με αυτά των Sankar et al., (2008), στο *Etropilus suratensis* (Bloch) όταν αποθηκεύτηκε στους 0°C – 2°C.

Επιπλέον καταμετρήθηκαν ζύμες-μύκητες, οξυγαλακτικά και *Brochothrix thermosphacta* και σε όλες τις περιπτώσεις οι πληθυσμοί ήταν κάτω του επιπέδου

ανίχνευσης. Στη διεθνή βιβλιογραφία, το βακτήριο *Brochothrix thermosphacta* αναφέρεται ως βακτήριο που παίζει σημαντικό ρόλο στην αλλοίωση των αλιευμάτων που αποθηκεύονται υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) και ψύξη (Drosinos *et al.*, 1996). Στην περίπτωση της караβίδας οι πληθυσμοί του ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης άρα δεν φαίνεται να παίζει κανένα ρόλο στην αλλοίωση της. Ακόμη και σε πειράματα στο μπαρμπούνι (*Mullus surmuletus*) στους Rournis *et al.*, 2005, ο πληθυσμός του βακτηρίου *Brochothrix thermosphacta* έφτασε την τέταρτη μέρα στα 4,8 logs cfu/g σε κανονική αποθήκευση υπό ψύξη.

Από τα παραπάνω μπορούμε να συμπεράνουμε ότι σε ιχθύες και άλλα θαλασσινά είδη που αποθηκεύονται σε κανονική αποθήκευση υπό ψύξη, το *Brochothrix thermosphacta* δε συμβάλει σημαντικά στην αλλοίωση τους. Στην περίπτωση της караβίδας, από τα αποτελέσματα βλέπουμε ότι δε συνέβαλε καθόλου στην αλλοίωση της.

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ήταν επίσης κάτω από το όριο ανίχνευσης σε όλες τις περιπτώσεις. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια αποτελούν σημαντικούς αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP ή κενό), σε ιχθύες των θερμότερων θαλασσινών ή και γλυκών νερών (Lannelonque *et al.*, 1982). Έχει αναφερθεί ότι ο ξηρός πάγος προσφέρει ιδανικό περιβάλλον αύξησης για τα συγκεκριμένα βακτήρια (Sasi *et al.*, 2003). Οι Jeyasekaran *et al.*, 2008 αναφέρουν ότι σε συνδυασμό υγρού και ξηρού πάγου στο *Letrinus ornatus* τα οξυγαλακτικά παρουσίασαν μια σημαντική αύξηση. Ωστόσο στην περίπτωση της караβίδας, δε φαίνεται να συμμετέχουν στην αλλοίωση της.

4.6. Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα του πειράματός μας, συνοπτικά, θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι η θερμοκρασία αποθήκευσης παίζει πρωτεύοντα ρόλο στον εμπορικό χρόνο ζωής της караβίδας. Όχι μόνο γιατί καθυστερεί τη μικροβιακή και χημική αλλοίωση της, αλλά επιπλέον παρατείνει το χρόνο ζωής του οργανισμού έξω από το νερό. Όπως ήδη επισημάνθηκε παραπάνω, επειδή η караβίδα συσκευάζεται ζωντανή, η διάρκεια του χρόνου ζωής της έξω από το νερό είναι εκείνη που τελικά θα καθορίσει την έναρξη ή όχι της αλλοίωσης της.

Επιπλέον η μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών που συμβαίνει κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του οργανισμού, φαίνεται να αποτελεί κρίσιμη

παράμετρο για το ποια θα είναι τελικά η διάρκεια της εμπορικής ζωής της καραβίδας. Η αμαύρωση του εξωσκελετού και η εμφάνιση δυσάρεστων οσμών, συνεισφέρουν σημαντικά στη μείωση της αποδοχής των καραβίδων από τους καταναλωτές.

Η θερμοκρασία των 0°C (πάγος) φαίνεται να έχει τα πιο ελπιδοφόρα αποτελέσματα για τη διάρκεια του εμπορικού χρόνου ζωής της καραβίδας, σε σχέση με αυτές που αποθηκεύτηκαν στους 5°C (ψυγείο) και πόσο μάλλον με τις καραβίδες που αποθηκεύτηκαν στους 20°C (θερμοκρασία περιβάλλοντος), όπου η αλλοίωση ήταν ταχύτερη.

Η μικροβιακή χλωρίδα αλλοίωσης δεν φαίνεται να διαφέρει από άλλα αλιεύματα που συντηρούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες καθώς φαίνεται να αποτελείται κυρίως από *Pseudomonas sp* καθώς και από βακτήρια που παράγουν H₂S (*Shewanella putrefaciens*) και εντεροβακτηριοειδή, αλλά σε χαμηλότερους πληθυσμούς.

Επιπλέον, πολλά υποσχόμενα για μελλοντική έρευνα φαίνεται να είναι τα νέα συστήματα ψύξης όπως τα “slurry ice systems” σε ότι αφορά την αποθήκευση γενικότερα των καρκινοειδών, καθώς πέρα από τα πολλά πλεονεκτήματα που παρουσιάζουν μπορούν να συνδυαστούν με ουσίες η οποίες είναι ικανές να παρεμποδίσουν την αμαύρωση του εξωσκελετού των καρκινοειδών.

Τέλος, απαιτείται επιπλέον έρευνα για τον ακριβή προσδιορισμό των μεταβολιτών που παράγονται κατά την διάρκεια αποθήκευσης της καραβίδας, όπως για παράδειγμα ο σχηματισμός βιογενών αμίνων, ώστε να εξακριβωθούν εκείνοι οι μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την αλλοίωσή της.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1. Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- **Álvarez, A., García García, B., Garrido, M.D. & Hernández, M.D., (2008).** The influence of starvation time prior to slaughter on the quality of commercial-sized gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage. *Aquaculture*, **284**: 106–114.
- **Aiken, D.E., 1980.** Moulting and growth. In: Cobb, J.S., Phillips, B.F. (Eds.), *The Biology and Management of Lobsters*. Academic Press, New York, pp. 91–163.
- **Andre, S.C. Schmitt, Roger F. & Uglow, (1998).** Metabolic responses of *Nephrops norvegicus* to progressive hypoxia. *Aquatic Living Resources*, **2**: 87-92.
- **Aubourg, S.P., Losada, V., Prado, M., Miranda, J.M. & Barros-Velazquez, J., (2007).** Improvement of the commercial quality of chilled Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in slurry ice: Effects of a preliminary treatment with an antimelanotic agent on enzymatic browning. *Food Chemistry*, **103**: 741–748.
- **Benjakul, S. & Sutthippan N., (2009).** Muscle changes in hard and soft shell crabs during frozen storage. *LWT - Food Science and Technology*, **42**: 723–729.
- **Botta, J.R., Lauder, J.T. & Jewer, M.A., (1984).** Effect of methodology on total volatile basic nitrogen (TVB-N) determination as an index of quality of fresh Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Food Science*, **49**: 734–736.
- **Brauna, P. & Sutherland, G.P., (2003).** Predictive modelling of growth and enzyme production and activity by a cocktail of *Pseudomonas* spp., *Shewanella putrefaciens* and *Acinetobacter* sp. *International Journal of Food Microbiology*, **86**: 271–282.
- **Chinivasagam, H.N., Bremner, H.A., Wood, A.F. & Nottingham, S.M., (1998).** Volatile components associated with bacterial spoilage of tropical prawns. *International Journal of Food Microbiology*, **42**: 45–55.
- **Connell, J.J., (1995).** Fishing News Books, Farnham. Surrey *Control of Fish Quality*, **4**: 135–165.

- **Dalgaard, P., (1995).** Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal Food Microbiology*, **26**: 319-333.
- **Danford, A.R., Hagerman, L. & Uglow, R.F., (2002).** Effects of emersion and elevated haemolymph ammonia on haemocyanin-oxygen affinity of *Cancer pagurus*. *Marine Biology*, **141**: 1019-1027.
- **Drosinos, E.H. & Nychas, G.-J. E., (1996).** *Brochothrix thermospacta*, a dominant organism in Mediterranean fresh fish (*Sparus aurata*) stored under modified atmosphere. *International Journal Food Science*, **4**: 323-329.
- **Gillespie, N.C. & MacRae, I.C., (1975).** The bacterial flora on some Queensland fish and its ability to cause spoilage. *Journal Applied Bacteriol*, **39**: 91-100.
- **Gorczyca, E. & Pek, P. L., (1985).** Mesophilic spoilage of bay trout (*Arripis trurta*), bream (*Acanthopagrus butchri*) and mullet (*Aklrichetta forsteri*). In: A. Reilly (editor), Spoilage of Tropical Fish and Product Development, FAO Fish. Rep. 317 Suppl. FAO, Rome, Italy, pp. **123-132**.
- **Gram, L. & Dalgaard, P., (2002).** Fish spoilage bacteria -problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, **13**: 262-266.
- **Gram, L. & Huss, H., (1996).** Microbiological spoilage of fish and fish products. *Food Microbiology*, **33**: 121-137.
- **Gram, L., (1992).** A Review: Evaluation of the bacteriological quality of seafood. *International Journal of Food Microbiology*, **16**: 25-39.
- **Gram, L., (1993).** Inhibition effect against pathogenic and spoilage bacteria of *Pseudomonas* strains isolated from spoiled and fresh fish. *Applied Environmental Microbiology*, **16**: 25-39.
- **Gram, L., Trolle, G. & Huss, H.H. (1987).** Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. *International Journal Food Microbiology*, **4**: 65-72.
- **Gram, L., Wedell-Neergaard, C. & Huss, H.H. (1990).** The bacteriology of fresh and spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). *International Journal Food Microbiology*, **10**: 303-316.

- **Hale, M. B., & Waters, M. E. (1988).** Frozen storage stability of whole and headless fresh water prawns *Macrobrachium rosenbergii*. *Marine Fisheries*, **42**: 18–21.
- **Hebard, C.E., Flick, G.J.J. & Martin, R.E. (1982).** Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. In: R.E. Martin, G.J.J. Flick and C.E. Hebard (editors). *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. AVI Publishing, Westport, Connecticut, pp.149-304.
- **Herbert, R.A. & Shewan, J.M. (1975).** Precursors of volatile sulphides in spoiling North Sea cod (*Cadus morhua*). *Journal Science Food & Agriculture*, **26**: 1195-1202.
- **Herbert, R.A. & Shewan, J.M. (1976).** Roles played by bacterial and autolytic enzymes in the production of volatile sulphides in spoiling North Sea cod (*Cadus morhua*). *Journal Science Food & Agriculture*, **27**: 49-94.
- **Hernandez, M.D., Lopez, M.B., Alvarez, A., Ferrandini, E., Garcia Garcia, B. & Garrido, M.D., (2009).** Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry*, **114**: 237–245.
- **Huidobro A, López-Caballero M & Mendes R, (2002).** Onboard processing of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) with liquid ice: effect on quality. *Z Lebensm Unters Forsch*, **214**:469–475.
- **Huis in't Velt, J.H.J., (1996).** Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Microbiology*, **33**: 1-18.
- **Huss, H.H. & Larsen, A. (1980).** Changes in the oxidation-reduction potential (Eh) of smoked and salted fish during storage. *Lebensm.-Wiss. Technology*, **13**: 40-43.
- **Huss, H.H. & Larsen, A. (1979).** The post-mortem changes in the oxidation-reduction potential (Eh) of fish muscle and internal organs. In: K. Sobolenska-Ceronik, E. Ceronik and S. Zaleski (editors). *Food as Ecological Environment for Pathogenic and Index Microorganisms*. Ars Polona, Warsaw, Poland. pp. 265-279.
- **Jeyasekaran, G., Anandaraj, R., Ganesan, P., Jeya Shakila, R. & Sukumar, D., (2008).** Quality of ornate emperor (*lethrinus ornatus*) packed in

- a combination of dry ice and wet ice and stored under refrigeration. *Food Science and Technology International*, **14**: 21.
- **Jorgensen, B.R., Gibson, D.M. & Huss, J.H. (1988).** Microbiological quality and shelf life prediction of chilled fish. *International Journal of Microbiology*, **6**: 295-307.
 - **Jorgensen, B.R., Gibson, D.M., & Huss, H.H., (1988).** Microbiological quality and self life prediction of chilled fish. *International Journal of Food Microbiology*, **6**: 295-307.
 - **Kilinc, B., Cakli, S., Cadun, A., Dincer, T., & Tolasa, S. (2007).** Comparison of effects of slurry ice and flake ice pretreatments on the quality of aquacultured sea bream (*S. aurata*) and sea bass (*D. labrax*) stored at 4°C. *Food Chemistry*, **104**: 1611–1617.
 - **Koutsoumanis, K., & Nychas, G.E., (1999).** Chemical and sensory changes associated with microbial flora of Mediterranean Bouque (*Boops boops*) stored aerobically at 0,3, 7 and 10°C. *Applied Environment Microbiology*, **65**: 98-706.
 - **Lanelongue M., Hanna. M.O., Fume, G., Nickelson. R. & Vanderzant, C. (1982a).** Storage characteristics of finfish fillets (*Archosargus probatocephatus*) packaged in modified gas atmospheres containing carbon dioxide. *Journal of Food Protection*, **45**: 440-444.
 - **Levin, R.E., (1968).** Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria on fish. *I. Methodology Applied Microbiology*, **16**: 1734-1737.
 - **Lima dos Santos, C.A.M. (1978).** Bacteriological Spoilage of Iced Amazonian Freshwater Catfish (*Brachyplatistoma vaillanti valenciennes*). M.Sc. Thesis. Loughborough University of Technology, England.
 - **Liston, J. (1980).** Microbiology in fishery science. In: J.J. Connell and staff of Torry Research Station (Eds.), *Advances in Fish Science*, Fishing News Books Ltd., pp. 138-157.
 - **Lopez-Caballero, M.E., Martmez-Alvarez, O., Gomez-Guillen, M.C., & Montero, P., (2006).** Quality of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) treated with a 4-hexylresorcinol-based formulation. *European Food Research Technology*, **222**: 425–431.

- **Losada, V., Barros-Velazquez, J., Gallardo, J.M. & Aubourga, S.P., (2004).** Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. *European Journal Lipid Science & Technology*, **106**: 844–850.
- **Losada, V., Rodriguez, O., Miranda, J.M., Barros-Velazquez, J., & Aubourg, S.P., (2006).** Development of different damage pathways in Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored under different chilling systems. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, **86**:1552–1558.
- **Martinez-Alvarez, O., Lopez-Caballero, M.E., Montero, P. & Gomez-Guillen, M.C., (2007).** Spraying of 4-hexylresorcinol based formulations to prevent enzymatic browning in Norway lobsters (*Nephrops norvegicus*) during chilled storage. *Food Chemistry*, **100**: 147–155.
- **McDonald, K. & Sun, D.W., (1999).** Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, **52**:1–27.
- **Metcalf, A.M. & Marshall, D.L., (2004).** Capacitance method to determine the microbiological quality of raw shrimp (*Penaeus setiferus*). *Food Microbiology*, **21**: 361–364.
- **Mugica, B., Barros-Velazquez, J., Miranda, J.M. & Aubourga, S.P., (2008).** Evaluation of a slurry ice system for the commercialization of ray (*Raja clavata*): Effects on spoilage mechanisms directly affecting quality loss and shelf-life. *LWT*, **41**: 974–981.
- **Olafsdottir, G., Nesvadba, P., Di Natale, C., Careche, M., Oehlenschlager & J., Tryggvadottir, S.V.,(2004).** Multisensors for fish quality determination. *Trends in Food Science & Technology*, **15**: 86–93.
- **Pineiro, C., Barros-Velazquez, J., & Aubourga, P.A., (2004).** Effects of newer slurry ice systems on the quality of aquatic food products: a comparative review versus flake-ice chilling methods. *Trends in Food Science & Technology*, **15**: 575–582.
- **Pournis, N., Papavergou, A., Badeka, A., Kontominas, M.G. & Savvaidis, I.N., (2005).** Shelf-Life Extension of Refrigerated Mediterranean Mullet (*Mullus surmuletus*) Using Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Food Protection*, pp. 2201–2207.

- **Ridgway, I.D., Taylor, A.C., Atkinson, R.J.A., Stentiford, G.D., Chang, E.S., Chang, S.A. & Neil, D.M., (2006).** Morbidity and mortality in Norway lobsters, *Nephrops norvegicus*: physiological, immunological and pathological effects of aerial exposure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **328**: 251–264.
- **Robson, A., Kelly, M.S. & Latchford, J.W., (2007).** Effect of temperature on the spoilage rate of whole, unprocessed crabs: *Carcinus maenas*, *Necora puber* and *Cancer pagurus*. *Food Microbiology*, **24**: 419–424.
- **Rodriguez, O., Barros-Velazquez, J., Pipeiro, C., Gallardo, J. M., & Aubourg, P. (2006).** Effects of storage in slurry ice on the microbial, chemical and sensory quality and on the shelf-life of farmed turbot (*P. maxima*). *Food Chemistry*, **95**: 270–278.
- **Rodriguez-Casado, A., Carmona, P., Moreno, P., Sanchez-Gonzalez, I., Macagnano, A. & Di Natale, C., (2007).** Structural changes in sardine (*S. pilchardus*) muscle during iced storage: Investigation by DRIFT spectroscopy. *Food Chemistry*, **103**: 1024–1030.
- **Sankar, R., C.N., Lalitha, K.V., Leema Jose, Manju, S. & Gopal, T.K.S., (2008).** Effect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (*Etroplus suratensis* Bloch) stored at 0–2°C. *Food Microbiology*, **25**: 518–528.
- **Sasi M., Jeyasekaran G., Shanmugam S.A. & Jeya Shakila R. (2000).** Chilling fresh fish in dry and wet ice. *Asian Fisheries Science*, **13**: 375–382.
- **Shamshad, S. I., Kher-Un-Nisa, M., Riaz, M., Zuberi, R., & Qadri, R. B. (1990).** Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperatures. *Journal of Food Science*, **55(5)**: 169–175.
- **Stentiford, G.D., & Neil, D.M., (2000).** A rapid onset, post-capture muscle necrosis in the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.), from the West coast of Scotland. *Journal of Fish Diseases*, **23**: 251–263.
- **Subramanian, T. A. (2007).** Effect of processing on bacterial population of cuttle fish and crab and determination of bacterial spoilage and rancidity development on frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, **31**: 13–31.

- **Subramanian, T.A., (2007).** Effect of processing on bacterial population of cuttle fish and crab and determination of bacterial spoilage and rancidity developing on frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, **31**: 13–31.
- **Surendran P.K., Joseph J., Shenoy A.V., Perigreen P.A., Iyer K.M.& Gopakumar K. (1989).** Studies on spoilage of commercially important tropical fishes under iced storage. *Fisheries Research*, **7**: 1–9.
- **Tsironi, T., Dermesonlouoglou, E., Giannakourou, M. & Taoukis, T., (2009).** Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. *LWT-Food Science and Technology*, **42**: 664–671.
- **Yan, X., Anthony, K.D., Taylor & Hanson, S.W., (1989).** Studies on the Mechanism of Black spot Development in Norway Lobster (*Nephrops norvegicus*). *Food Chemistry*, **34**: 273-283.
- **Yonge, C.M., (1924).** Studies on the Comparative Physiology of Digestion : II. The Mechanism of Feeding, Digestion, and Assimilation in *Nephrops Norvegicus*. *Journal of Experimental Biology*, **1**: 343-389.

5.2. Ελληνική βιβλιογραφία

- **Αρβανιτογιάννης, Ι., Μποςνέα, Λ., (2001).** «Στοιχεία τεχνολογίας, μεταποίησης & συσκευασίας τροφίμων». Έκδοσης University Studio Press.Θεσσαλονίκη, σελ. (13, 101).
- **Μποζιάρης Ι., (2008).** «Υγιεινή και συντήρηση εδώδιμων αλιευμάτων» Πανεπιστημιακές Παραδόσεις, ΠΘ 2008, σελ. (151-153).

ABSTRACT

Spoilage of fresh fisheries is mainly due to bacterial activity. Microorganisms produce secondary metabolites which have a negative effect on sensory characteristics. Additionally in crustaceans, colour changes due to the enzymatic browning contribute to the organoleptic disposal of the product.

Microbial spoilage population of Norway lobster consists of mainly *Pseudomonas* sp and other microorganisms, such as H₂S producing bacteria (*Shewanella putrefaciens*), Enterobacteriaceae etc., in lower numbers.

Norway lobster stored in ice (0°C) had longer shelf life than those stored at refrigeration temperatures (5°C). Microbial spoilage profile of Norway lobster stored at low temperatures was not different compared to fresh fish. However, there are differences due to the fact that in Norway lobster, microbial growth and fresh decomposition commences after its death, which happens sooner or later, depending on storage temperature, after fishing due to its ability to survive for a small period of time out of the water.

Hence, storage temperature influences the shelf life of Norway lobster, not only because it affects the growth rate of spoilage microorganisms but also because it affects the time of death.

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000102055

