

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

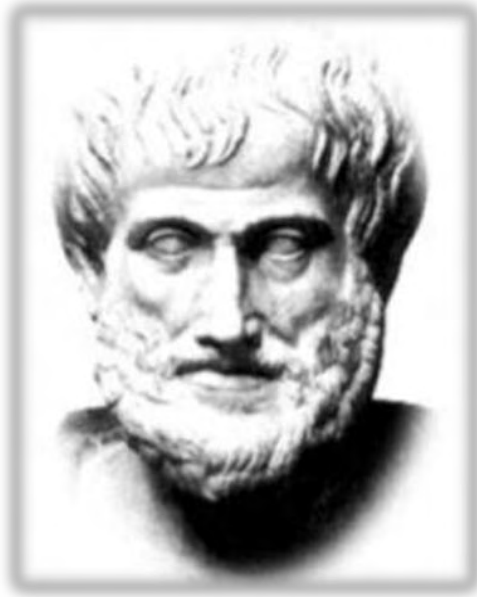
ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
Π.Δ.Ε.

‘Μικροβιολογική ποιότητα και ασφάλεια καρκινοειδών’
(Microbiological quality and safety of crustaceans).



ΠΛΑΣΤΗΡΑΣ ΜΙΧΑΛΗΣ

ΒΟΛΟΣ 2016



Αριστοτέλης 384-322 π.Χ

«Φιλία εστί μία ψυχή εν δυσί σώμασιν ενοικουμένη.»



«Μικροβιολογική ποιότητα και ασφάλεια καρκινοειδών»



Διμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1. Ιωάννης Μποζιάρης (M.Sc., Ph.D.),** Αναπληρωτής Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπων***
- 2. Δημήτριος Βαφείδης,** Καθηγητής (Δρ.), Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπονδύλων και άμεση - έμμεση χρησιμότητά τους, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Φτάνοντας στο τέλος μιας κοπιαστικής και χρονοβόρας προσπάθειας με την συγγραφή της παρούσας προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους τους ανθρώπους που συνέβαλλαν στην προσπάθεια αυτή.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ιωάννη Μποζιάρη, για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του κατά τη σύνταξη της παρούσας εργασίας, καθώς και τον κ. Καθηγητή Δημήτριο Βαφείδη μέλος της εξεταστικής επιτροπής μου, για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους, καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Δρ Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη, για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά της.

Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ στον συμφοιτητή, συνάδελφο μα πάνω απ' όλα καρδιακό μου φίλο Αναγνωστόπουλο Δημήτρη για την βοήθεια και την στήριξή του καθ' όλη την διάρκεια της εργασίας.

Ακολούθως, θα ήθελα να εκφράσω τις από καρδιάς ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου. Στους δύσκολους καιρούς που διανύουμε η στήριξη τους σε ψυχολογικό αλλά και οικονομικό κομμάτι ήταν για εμένα κίνητρο για να συνεχίζω με ζήλο την προσπάθειά μου όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, θα ήθελα να επισημάνω ότι η συγκεκριμένη εργασία αφιερώνεται στους αγαπημένους αδερφικούς μου φίλους T.M. και E.X. που "έφυγαν" άδικα πολύ νωρίς, αφήνοντάς μου μόνο όμορφες αναμνήσεις να θυμάμαι από εκείνους.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας ήταν η ανασκόπηση σχετικά με τους αλλοιωγόνους αλλά και τους παθογόνους μικροοργανισμούς στα καρκινοειδή. Η ανασκόπηση αφορούσε κυρίως τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς του γένους *Pseudomonas spp.*, τα υδροθειουχο-παραγωγά βακτήρια (*Shewanella putrefaciens*), τα *Enterobacteriaceae*, τα οξυγαλακτικά βακτήρια καθώς και την ολική μεσόφιλη χλωρίδα (OMX) κυρίως στις καραβίδες, στα καβούρια, στους αστακούς, στις γαρίδες κ.α. Παρομοίως έγινε ανασκόπηση της παρουσίας ή μη παθογόνων μικροοργανισμών (*Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp.*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas spp.*, *Campylobacter spp.*) στα προαναφερθέντα καρκινοειδή.

Όπως προκύπτει από την έρευνα ο ειδικός αλλοιωγόνος μικροοργανισμός (EAM) για τα καρκινοειδή των μεσογειακών νερών φαίνεται να είναι το βακτήριο του γένους *Pseudomonas* με την τιμή του πληθυσμού του να κυμαίνεται στα 7 logcfu/g στο πέρας του εμπορικού χρόνου ζωής. Αντίθετα στα νερά των τροπικών περιοχών επικρατέστερος μικροοργανισμός είναι *Shewanella putrefaciens* ενώ σε κάποιες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί ως EAM τα *Enterobacteriaceae*. Σε κάθε περίπτωση η ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών σχετίζεται με τη θνησιμότητα των καρκινοειδών κατά την διάρκεια της συντήρησής τους (καβούρια, αστακοί). Αφού επικρατήσει ο εκάστοτε EAM, μεταβολίζει ουσίες που σχετίζονται με την υποβάθμιση, την παρουσία δυσάρεστων οσμών (τριμεθυλαμίνη, πτητικές ουσίες) και τελικά την οργανοληπτική απόρριψη του προϊόντος.

Όσο αναφορά τους παθογόνους μικροοργανισμούς στα καρκινοειδή, το ποσοστό των κρουσμάτων διαφέρει σημαντικά σε όλο τον κόσμο, από περίπου 10% έως 30% του συνόλου των τροφιμογενών κρουσμάτων, και φαίνεται να είναι υψηλότερο στην νοτιο-ανατολική Ασία, αν και λίγες πληροφορίες είναι διαθέσιμες για την Αφρική. Οι συμβατικές μέθοδοι ανίχνευσης, ταυτοποίησης και απαρίθμησης, έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για ορισμένα παθογόνα βακτήρια σε καρκινοειδή αλλά λιγότερο επιτυχώς για άλλα, όπως τα *vibrios*, όπου δεν έχει επιτευχθεί επαρκώς η διάκριση των παθογόνων από τα μη παθογόνα. Η κύρια μέθοδος πρόληψης και



προστασίας του προϊόντος από παθογόνους μικροοργανισμούς είναι η πιστή εφαρμογή της ορθής υγιεινής πρακτικής (GHP) καθ' όλα τα στάδια της αλίευσης, της συντήρησης, της επεξεργασίας και της πώλησης.

Λέξεις κλειδιά: καρκινοειδή, αλλοιωγόνους, παθογόνους, αλλοίωση, Ειδικοί Αλλοιωγόνους Μικροοργανισμοί (EAM), Εμπορικός χρόνος ζωής



ABSTRACT

The purpose of this undergraduate thesis is to review the specific spoilage microorganisms and pathogenic microorganisms in crustaceans. The review mainly concerned the specific spoilage microorganisms of the genus *Pseudomonas spp.*, the hydrosulfide-producing bacteria (*Shewanella putrefaciens*), the *Enterobacteriaceae*, the lactic acid bacteria and total viable count (TVC) mainly on crayfish, crabs, lobsters, shrimps etc. Similarly there was a review of, presence or absence of pathogens (*Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp.*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas spp.*, *Campylobacter spp.*) at the same crustaceans.

As a result of the research came that, specific spoilage organisms (SSO) for crustaceans in Mediterranean waters, seems to be the genus bacterium *Pseudomonas*, the value of the population was approximately 7 logcfu / g in the end of the commercial life. Unlike, the waters of tropical areas are dominated by *Shewanella putrefaciens* and in some cases by *Enterobacteriaceae*. In all cases the growth of pathogenic microorganisms, was associated with the mortality in the crustaceans during their maintenance (crabs, lobsters). After the domination of the current SSO, it metabolized substances that cause degradation, malodour (trimethylamine, volatile substances) and sensory rejection of the product.

In general the percentage of pathogens in crustacean's cases varies considerably around the world, from about 10% to 30% of all food-borne outbreaks, and seems to be highest in south-east Asia, although little information is available on Africa. The conventional methods of detection, identification and counting, have been successfully used for certain pathogens to crustaceans but less successful in others such *vibrio* wherein insufficiently achieved the distinguish among pathogens and no pathogens. The primary method of prevention and protection of pathogenic microorganisms is the faithful implementation of good hygiene practice (GHP) in all stages of harvesting - preservation, processing and sale-.

Keywords: *crustaceans, specific spoilage organisms (SSO), pathogens, spoilage, shelf life*



Περιεχόμενα

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1	Γενικά στοιχεία για τα καρκινοειδή	10
1.2	Βιολογία καρκινοειδών	11
1.3	Διατροφική αξία καρκινοειδών	12
1.4	Μικροβιακή αλλοίωση τροφίμων	14
1.5	Μικροβιακή αλλοίωση αλιευμάτων	15
1.6	Ειδικοί αλλοιωγόνι μικροοργανισμοί (ΕΑΜ)	16
1.7	Αρχική Μικροχλωρίδα	18
1.8	Παθογόνοι μικροοργανισμοί	19
1.9	Χημικοί δείκτες αλλοίωσης	20
1.10	Σκοπός	20
2.	ΑΛΛΟΙΩΓΟΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΑ ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΗ	21
2.1	Γενικά	21
2.2	Αλλοίωση καρκινοειδών	23
2.3	Καραβίδες και γαρίδες	25
2.4	Καβούρια και αστακοί	27
3.	Παθογόνοι	31
3.1	Γενικά	31
3.2	<i>Salmonella spp.</i>	33
3.3	<i>Listeria spp.</i>	34
3.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	35
	Εικόνα 3.4. <i>Staphylococcus aureus</i> καλλιεργημένο σε τρυβλίο Petri	36
3.5	<i>Clostridium botulinum</i>	36
3.6	<i>Vibrio spp.</i>	36
3.7	<i>Aeromonas hydrophila</i> και <i>Aeromonas sobria</i>	37
3.8	<i>Campylobacter jejuni</i> και <i>Campylobacter coli</i>	38
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	39
5.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	44
5.1	Έντυπη	44
5.2	Ηλεκτρονική	54



1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά στοιχεία για τα καρκινοειδή

Τα καρκινοειδή (Εικόνα 1.1) είναι υδρόβια αρθρόποδα με βραγχιακή αναπνοή (με εξαίρεση ορισμένα είδη της τάξης των Ισόποδων καθώς και ορισμένα μικρά καρκινοειδή π.χ. κωπήποδα, στα οποία η αναπνοή είναι δερμική). Τα πρώτα καρκινοειδή εμφανίστηκαν στην αρχή του Παλαιοζωικού αιώνα (Κάμβριο, 545-550 εκατομμύρια χρόνια πριν). Σήμερα είναι γνωστά περίπου 26.000 είδη καρκινοειδών που κατακλύζουν το σύνολο σχεδόν των υδατικών οικοσυστημάτων. Η συμμετοχή τους στη σύνθεση του πλαγκτού και του νηκτού είναι έντονη ενώ παράλληλα συνιστούν ένα μεγάλο ποσοστό των βενθικών οργανισμών. Η ευρεία εξάπλωση των καρκινοειδών στο νερό και ο σημαντικός οικολογικός τους ρόλος για την ισορροπία των υδατικών οικοσυστημάτων (συμμετοχή σε τροφικές αλυσίδες, τροφικά πλέγματα) είναι χαρακτηριστικά ανάλογα με αυτά των εντόμων για τα χερσαία οικοσυστήματα. Σημαντική είναι επίσης και η άμεση οικονομική τους αξία για τον άνθρωπο (<http> 1).

Τα περισσότερα καρκινοειδή ζουν ελεύθερα, πολλά όμως είναι προσκολλημένα και αρκετά ζουν ως παράσιτα ή ξενιστές παρασίτων. Στην πλειοψηφία τους τα καρκινοειδή είναι γονοχωριστικά είδη, εκτός από κάποια που είναι ερμαφρόδιτα ή εμφανίζουν υπολειμματικό ερμαφροδιτισμό.

Υπάρχουν πάνω από 50.000 γνωστά είδη καρκινοειδών τα οποία χωρίζονται σε διάφορες ομάδες - Βραγχιόποδα, Μαξιλόποδα, Οστρακόποδα και Μαλακόστρακα. Τα Μαλακόστρακα χωρίζονται περαιτέρω σε πέντε ομάδες - Δεκάποδα (π.χ. καβούρια, αστακούς και γαρίδες), Στοματόποδα (Mantis γαρίδες), ευφασειίδες (κρίλι), αμφίποδα (π.χ. sandhoppers) και ισόποδα (χερσαία) καρκινοειδή.

Το σώμα των καρκινοειδών παρουσιάζει αμφίπλευρη συμμετρία και εξωτερικά εμφανίζει μεταμέρεια, χαρακτηριστικά που εκδηλώνονται με την έκφυση από το σώμα εξαρτημάτων (π.χ. ποδιών, κεραιών κ.ά.) σε ζεύγη και την ύπαρξη ενός σκληρού περιβλήματος (όστρακο) που διαιρείται σε τμήματα (μεταμερίδια). Χαρακτηριστική είναι για όλα τα καρκινοειδή η διχαλωτή κατασκευή των εξαρτημάτων (εξαρτήματα με σχήμα Y).

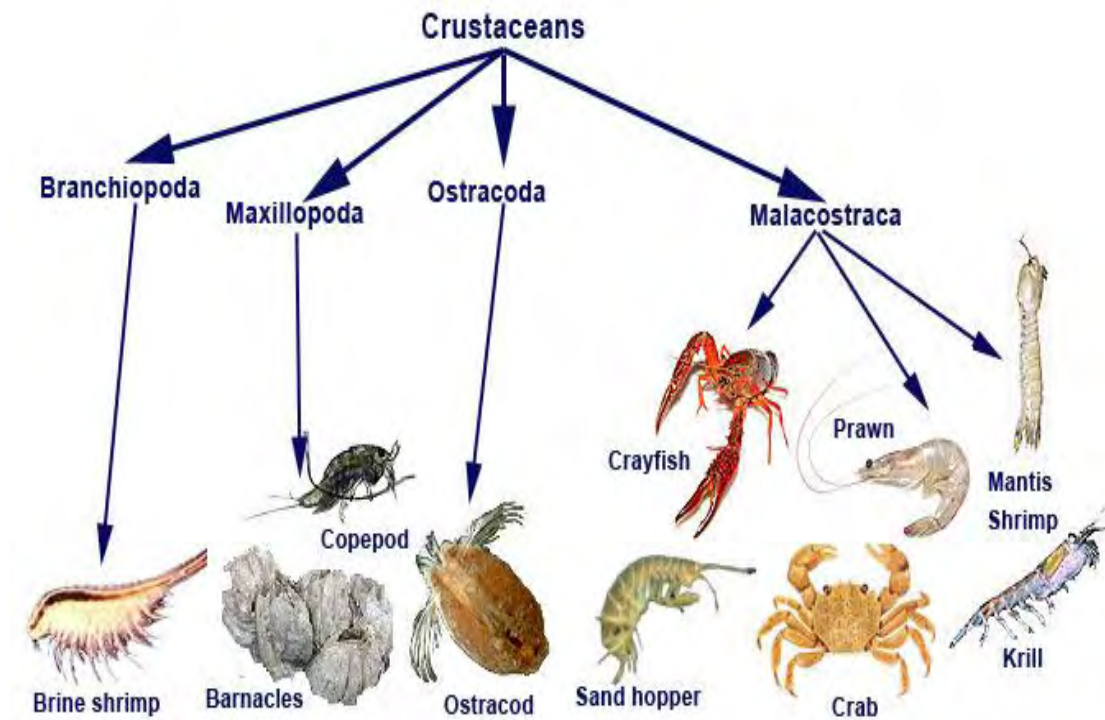
Το όστρακο των καρκινοειδών σχηματίζεται από χιτίνη που εκκρίνεται από την επιδερμίδα και εμποτίζεται με άλατα ανθρακικού και φωσφορικού ασβεστίου που



συμβάλλουν στη σκληρότητα και ακαμψία του. Στις αρθρώσεις το όστρακο είναι μαλακό έτσι ώστε να εξασφαλίζονται δυνατότητες κίνησης (<http 1>).

Στο σώμα των περισσότερων καρκινοειδών διακρίνονται η κεφαλή, ο θώρακας και η κοιλιά. Σε αρκετά όμως καρκινοειδή, όπως η караβίδα κ.ά., η κεφαλή και ο θώρακας σχηματίζουν έναν ενιαίο κεφαλοθώρακα.

Τέλος η ανάπτυξη των καρκινοειδών σπάνια είναι άμεση. Στις περισσότερες περιπτώσεις η προνύμφη τους υφίσταται απλές ή σύνθετες διαδοχικές μεταμορφώσεις που συνοδεύονται από εκδύσεις (<http 2>).



Εικόνα 1.1 Είδη καρκινοειδών (<http 7>)

1.2 Βιολογία καρκινοειδών

Τα περισσότερα καρκινοειδή είναι γονοχωριστικά και αναπαράγονται σεξουαλικά εκτός από ένα μικρό ποσοστό, συμπεριλαμβανομένων των πεταλίδων, τα οποία είναι ερμαφρόδιτα. Σε άλλα είδη, τα αυγά παράγονται από το θηλυκό άτομο χωρίς να χρειάζεται να γονιμοποιηθεί από το αρσενικό. (<http 4>)

Σε πολλά δεκάποδα, το πρώτο από τα δύο ζεύγη άκρων είναι εξειδικευμένο για τη μεταφορά του σπέρματος από τα αρσενικά ενώ τα θηλυκά κρατούν τα αυγά μέχρι να εκκολαφθούν οι προνύμφες οι οποίες κολυμπούν ελεύθερα. Σε πολλά είδη τα



γονιμοποιημένα αυγά είτε απελευθερώνονται στο νερό είτε που προσκολλώνται σε αντικείμενα στο νερό ([http 3](#)).

Τα περισσότερα καρκινοειδή μπορούν να κινούνται ανεξάρτητα στο νερό και είναι φυτοφάγα, σαρκοφάγα ή θριμματοφάγα.

Πολλά καρκινοειδή, κυρίως τα μεγαλύτερα δεκάποδα (καβούρια, αστακοί, γαρίδες) καταναλώνονται από τον άνθρωπο και είναι επομένως σημαντικά για την ανθρώπινη οικονομία. Τα κριλ επίσης, αλιεύονται σε μεγάλες ποσότητες και θεωρούνται το μέλλον της παγκόσμιας ιχθυοκαλλιέργειας, αφού αποτελούν τον βασικό αντικαταστάτη του ιχθυαλεύρου στην εκτροφή των ιχθύων.

Τα μικρά πλαγκτονικά καρκινοειδή, όπως τα κωπήποδα, οι ψύλλοι, και τα κριλ, αποτελούν σημαντικούς δεσμούς στη θαλάσσια τροφική αλυσίδα, μεταξύ του φυτοπλαγκτού και των μεγαλύτερων σαρκοφάγων, όπως τα ψάρια και οι φάλαινες, ενώ στα νεκρά σώματα των καρκινοειδών είναι παγιδευμένα πολλά θρεπτικά συστατικά, κάτι που τα κατατάσσει ως υψηλής ζωτικής σημασίας για το θαλάσσιο οικοσύστημα ([http 4](#)).

1.3 Διατροφική αξία καρκινοειδών

Τα καρκινοειδή είναι οργανισμοί πλούσιοι σε θρεπτικά συστατικά (Πίνακας 1.3) και κορεσμένα λίπη, αλλά περιέχουν χοληστερόλη, σε μικρότερα επίπεδα μεν από το κρέας, αλλά μεγαλύτερα από τα ψάρια. Επιπλέον, αποτελούν ένα θρεπτικό και εύγευστο τρόφιμο. Είναι πλούσια σε ω-3 λιπαρά οξέα, βιταμίνες και μέταλλα. Πιο συγκεκριμένα, είναι πλούσια σε Φολικό οξύ, Νιασίνη, Βιταμίνη Β-12, Α και C. Το κρέας των καρκινοειδών είναι καλή πηγή σιδήρου, χαλκού, ψευδάργυρου, σελήνιου (ισχυρό αντιοξειδωτικό), καλίου, νατρίου, φωσφόρου, ασβεστίου και χρωμίου. Το χρώμιο συγκεκριμένα βοηθά πολύ τον οργανισμό να διατηρηθεί σε ευγλυκαιμία, κάτι που είναι χρήσιμο για τους διαβητικούς. Τέλος, τα καρκινοειδή είναι πλούσια σε πρωτεΐνη και αμινοξέα (Matches et al. 1988).

Στη συνέχεια παρατίθενται τα οφέλη για την υγεία από την κατανάλωση καρκινοειδών ([http 5](#)):

- ✓ Είναι πλούσια σε πρωτεΐνη και αμινοξέα. Παρά τη χαμηλή περιεκτικότητα σε θερμίδες και λιπαρά, μια μερίδα προσφέρει 20 γραμμάρια πρωτεΐνης. Αυτό τα καθιστά μια εξαιρετική εναλλακτική λύση για υψηλής ποιότητας-ποσότητας



πρωτεΐνης για τους αθλητές. Επίσης περιέχουν πολύ χαμηλή ποσότητα υδατανθράκων, όπως εξάλλου όλα τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, που τα καθιστά μια καλή επιλογή για τους διαβητικούς.

- ✓ Περιέχουν πολύ χαμηλές θερμίδες και λιπαρά. Τα καρκινοειδή αποτελούν το «ιδανικό κρέας» για όσους υπολογίζουν συστηματικά τις θερμίδες. Πιο συγκεκριμένα, 100 gr. καβούρι αποδίδει μόνο 102 θερμίδες, και λιγότερο από 2gr λίπους ανά μερίδα, χαρακτηριστικά ευεργετικά για την καρδιακή λειτουργία. Παρά τη χαμηλή περιεκτικότητα σε θερμίδες και λιπαρά, τα καβούρια αποτελούν ένα ιδιαίτερα θρεπτικό, χορταστικό και εύγευστο κυρίως τρόφιμο.
- ✓ Περιέχουν χαμηλή συγκέντρωση σε υδράργυρο. Ένα από τα μεγάλα προβλήματα που αφορούν στην κατανάλωση θαλασσινών είναι η έκθεση στον υδράργυρο. Στην πραγματικότητα, τα καρκινοειδή θεωρούνται μια από τις ασφαλέστερες μορφές των θαλασσινών όσον αφορά τα επίπεδα υδραργύρου.
- ✓ Είναι πλούσια σε ω-3 λιπαρά οξέα. Τα καρκινοειδή είναι μια καλή πηγή των ω-3 λιπαρών οξέων που βοηθούν στην καρδιακή λειτουργία, συμβάλλοντας στη μείωση των τριγλυκεριδίων και της αρτηριακής πίεσης, και καταλήγουν στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Τα ω-3 λιπαρά οξέα θεωρούνται ότι μειώνουν τη φλεγμονή, ενισχύουν την ανοσολογική λειτουργία και μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ορισμένων τύπων καρκίνου. Οι περισσότεροι Ευρωπαίοι δεν παίρνουν αρκετά ω-3 λιπαρά οξέα με τη διατροφή τους, ενώ η προσθήκη κρέατος καρκινοειδών στη διατροφή τους είναι μια καλή αρχή.
- ✓ Το κρέας καρκινοειδών είναι επίσης πλούσιο σε βιταμίνες και μέταλλα. Πιο συγκεκριμένα είναι πλούσιο σε νιασίνη, φολικό οξύ, βιταμίνη B-12 (ιδιαίτερα σημαντική για τη νευρική λειτουργία) και βιταμίνη A και C, ενώ αποτελεί μια καλή πηγή σε ψευδάργυρο, σίδηρο, χαλκό, σελήνιο (ισχυρό αντιοξειδωτικό), νάτριο, κάλιο, φώσφορο, χαλκό, ασβέστιο και χρώμιο. Το χρώμιο συνεργάζεται με την ινσουλίνη στον μεταβολισμό της γλυκόζης βοηθώντας τον οργανισμό να διατηρηθεί σε ευγλυκαιμία, ιδιαίτερα χρήσιμο σε διαβητικούς. Επίσης βοηθά στην αύξηση των επιπέδων της HDL (καλή χοληστερόλη), η οποία μειώνει τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου και εγκεφαλικού επεισοδίου.



ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ		
ΚΑΒΟΥΡΑ (ΜΠΛΕ) ΜΑΓΕΙΡΕΜΕΝΟΥ		
	Θερμίδες 102kcal/100gr	
ΠΡΩΤΕΪΝΗ	20,00 gr	> 40%
(ΤΡΥΠΤΟΦΑΝΗ)	0,281 gr	> 90%
ΛΙΠΟΣ	2 gr	> 3%
(Ω -3 λ.ο)	2700 mg	> 60%
ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ	0 gr	> 0%
ΧΟΛΗΣΤΕΡΙΝΗ	100 mg	> 33%
ΝΑΤΡΙΟ	279 mg	> 12%
ΒΙΤΑΜΙΝΗ Α	7 mcg	> 1%
ΒΙΤΑΜΙΝΗ C	3 mg	> 5%
ΒΙΤΑΜΙΝΗ E	1.8 mg	> 9%
ΝΙΑΣΙΝΗ	3.3 mg	> 16%
ΘΕΙΑΜΙΝΗ	0,1 mg	> 7%
ΒΙΤΑΜΙΝΗ Β6	0.2 mg	> 9%
ΒΙΤΑΜΙΝΗ Β12	7.3 mg	> 122%
ΦΟΛΙΚΟ ΟΞΥ	51.6 mcg	> 13%
ΠΑΝΤΟΘΕΝΙΚΟ	0.4 mg	> 4 %
ΑΣΒΕΣΤΙΟ	75,00 mg	> 10%
ΣΙΔΗΡΟΣ	0,1mg	> 5 %
ΣΕΛΗΝΙΟ	40 mcg	> 57%
ΦΩΣΦΟΡΟΣ	206mg	> 21 %
ΜΑΓΝΗΣΙΟ	33 mg	> 8 %
ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ	4.2mg	> 28 %
ΧΑΛΚΟΣ	0.6mg	> 32 %

Τα ποσοστά είναι σύμφωνα με τις US συνιστώμενες ημερήσιες συστάσεις για ενήλικες.

ΠΗΓΗ: nutritiondata

Πίνακας 1.3 Διατροφικά στοιχεία καβουριού (http 5)

1.4 Μικροβιακή αλλοίωση τροφίμων

Τα τρόφιμα είναι πολύπλοκα συστήματα - μίγματα χημικών συστατικών τα οποία είναι απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Εκτός από τα δομικά συστατικά που παρέχουν για τον μυϊκό ιστό και τα απαραίτητα προϊόντα για το μεταβολισμό, εξυπηρετούν τον άνθρωπο είτε βοηθώντας στην ανάπτυξη του οργανισμού και τη διατήρηση της κατάστασης υγείας του, είτε προμηθεύοντας την απαιτούμενη ενέργεια για τις λειτουργίες του ανθρώπινου σώματος.

Επειδή τα τρόφιμα περιέχουν θρεπτικά συστατικά πρέπει να διαφυλάσσεται η θρεπτικότητα και να επιδιώκεται η βελτίωση της θρεπτικής αξίας αυτών, λαμβάνοντας πρόνοια για τις μικρότερες δυνατές αλλοιώσεις και για τη μείωση στο ελάχιστο των παραγόντων μόλυνσης. Οι επεξεργασίες παραγωγής και συντήρησης των τροφίμων πρέπει να είναι κατάλληλες, ώστε να παρέχουν προϊόντα ασφαλή με υψηλό βαθμό



αποδοχής από τον καταναλωτή. Η καταλληλότητα ενός τροφίμου είναι υποκειμενική και στηρίζεται στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτού (εμφάνιση, οσμή, γεύση, χρώμα, υφή). Η ποιότητα του τροφίμου ορίζεται ως ο βαθμός προσαρμογής στις απαιτήσεις του καταναλωτή, οι οποίες έχουν σχέση με τη θρεπτικότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητές του. Εξαρτάται από την ποιότητα των πρώτων υλών και από την τεχνολογία παραγωγής, εκφράζεται δε με τα χαρακτηριστικά του γνωρίσματα όπως είναι το άρωμα, η γεύση, η σύσταση κ.ά. Έτσι η ποιότητα ενός τροφίμου αποτελεί την οριακή «συνισταμένη των επί μέρους ποιοτήτων» των υλικών και των μεθόδων τεχνολογίας που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή του συγκεκριμένου προϊόντος.

Ως αλλοίωση των τροφίμων θεωρείται η υποβάθμιση των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών καθιστώντας το προϊόν μη αποδεκτό για κατανάλωση (Huisin't Veld 1996). Τα θαλασσινά είναι πιο ευπαθή, σε σύγκριση με άλλα τρόφιμα ζωϊκής προέλευσης όπως το βοδινό και το χοιρινό κρέας, το κοτόπουλο, κλπ. Για το λόγο αυτό απαιτείται πολύ προσεκτικός χειρισμός κατά την αποθήκευσή τους. Η υποβάθμιση της ποιότητας των αλιευτικών προϊόντων μπορεί να προκληθεί κυρίως λόγω της δράσης μικροοργανισμών (μικροβιακή αλλοίωση), ενδογενών ενζύμων (αυτόλυση) και χημικών αντιδράσεων οξειδωσης (τάγγιση) (Ashie et al. 1996, Gram et al 1996).

1.5 Μικροβιακή αλλοίωση αλιευμάτων

Για να είναι επιτυχής στις αγορές τροφίμων ευρείας κατανάλωσης ανά τον κόσμο, οι αγρότες, οι αλιείς, οι μεταποιητές και οι έμποροι λιανικής πώλησης πρέπει να διασφαλίσουν ότι τα θαλασσινά προϊόντα είναι υψηλής ποιότητας και ασφαλή για κατανάλωση, ελέγχοντας την αλλοίωσή τους.

Τα θαλασσινά είναι πιο ευπαθή, σε σύγκριση με άλλα τρόφιμα ζωϊκής προέλευσης όπως το βοδινό και χοιρινό κρέας, το κοτόπουλο, κλπ. Για το λόγο αυτό απαιτεί πιο προσεκτικό χειρισμό και την αποθήκευση (Ashie et al. 1996). Η αλλοίωση των εν λόγω τροφίμων μπορεί να οριστεί ως οι αλλαγές στις οργανοληπτικές τους ιδιότητες (οπτικές, γεύση, οσμή και υφή) ώστε να τα καθιστά ακατάλληλα για κατανάλωση από τον άνθρωπο (Gram & Huss 1996). Η αλλοίωση των αλιευμάτων μπορεί να προκληθεί από ένζυμα, αφυδάτωση, οξειδωση, μόλυνση και φυσική βλάβη (Harbell 1988). Ωστόσο, η κύρια αιτία της αλλοίωσής τους είναι η μικροβιακή ανάπτυξη και μεταβολική δραστηριότητα με αποτέλεσμα τον σχηματισμό αμινών,



σουλφιδίων, αλκοολών, αλδεϋδών, κετόνων και οργανικών οξέων που προκαλούν δυσάρεστη οσμή και γεύση. Η μικροβιακή αλλοίωση μπορεί επίσης να ανιχνευθεί από αποχρωματισμό του προϊόντος ή από τη δημιουργία βλέννας, ή ακόμη και από την εμφάνιση αποικιών. Η μικροβιακή αλλοίωση των τροφίμων είναι ένας τομέας της παγκόσμιας ανησυχίας δεδομένου ότι το 25% του συνόλου των τροφίμων που παράγονται και χάνεται μετά τη συγκομιδή οφείλεται στη μικροβιακή δραστηριότητα (Baird-Parker 2000).

Τα περισσότερα αλιευτικά εμπορικά είδη που εκφορτώνονται στους λιμένες βρίσκονται μακριά από την περιοχή αλίευσής τους. Έτσι, ενδεχόμενες κακές πρακτικές και λάθος χειρισμοί κατά την αλίευση και την προσωρινή αποθήκευσή τους στο σκάφος, αλλά και τη μετέπειτα συντήρησή του, μπορεί να προκαλέσουν φθορά και υποβάθμιση της ποιότητας των αλιευμάτων πριν αυτά φτάσουν στο σημείο πώλησης (Ashie et al. 1996). Το κρέας των καρκινοειδών επιδεινώνεται ραγδαία σε θερμοκρασία ψύξης (Akpan 1997, Farragut 1965). Η υψηλή του περιεκτικότητα σε υγρασία και η χαλαρή σύνδεση μεταξύ των ινών του κολλαγόνου παρέχουν ένα πλούσιο και ιδανικό περιβάλλον για μικροβιακή ανάπτυξη (Suyama et al. 1987). Το κρέας των καρκινοειδών έχει υψηλότερη σύνθεση των ελεύθερων αμινοξέων σε σύγκριση με αυτό των ιχθύων και ο μηχανισμός της αποσύνθεσης είναι κάπως διαφορετικός. Τα καρκινοειδή περιέχουν μικρές ποσότητες υδατανθράκων, και είναι πλούσια σε ασβέστιο, φώσφορο, μαγνήσιο, νάτριο, κάλιο, μαγγάνιο, ψευδάργυρο, και σίδηρο (Gökođlu et al 2003, Lopez et al. 1981).

Η μικροβιακή αλλοίωση αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό υποβάθμισης της ποιότητας στα καρκινοειδή (Gram & Dalgaard 2002). Η μικροβιακή αλλοίωση στα τρόφιμα εκδηλώνεται με αλλαγές στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (οσμή, γενική εμφάνιση) εξαιτίας της δράσης των μικροοργανισμών (Gill 1991). Οι μικροοργανισμοί αυτοί που λαμβάνουν μέρος στην αλλοίωση προέρχονται από την αρχική μικροβιακή σύνθεση και από επιμόλυνση (μίανση).

1.6 Ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί (EAM)

Η μικροβιακή αλλοίωση μπορεί να θεωρηθεί ως το αποτέλεσμα μιας σειράς αλλαγών στα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά του τροφίμου, λόγω της επικράτησης των μικροοργανισμών (Nychas et al. 2008). Οι αλλαγές αυτές οφείλονται στους μεταβολίτες



των μικροοργανισμών και γίνονται αντιληπτές με τις μεταβολές που παρατηρούνται στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των αλιευτικών προϊόντων, όπως είναι η οσμή, το άρωμα και η γενική εμφάνιση (Parlapani et al. 2014). Οι Ειδικοί Αλλοιωγόνοι Μικροοργανισμοί (EAM) αποτελούν την κύρια αιτία της ποιοτικής υποβάθμισης στα νωπά αλιευτικά προϊόντα (Gram & Huss 1996, Gram & Dalgaard 2002). Οι EAM αναπτύσσονται με μεγαλύτερο ρυθμό σε σχέση με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς και όταν ο πληθυσμός τους πλησιάσει στο επίπεδο αλλοίωσης των 7-8 log cfu/g οι ουσίες που έχουν παραχθεί λόγω του μεταβολισμού τους, έχουν φθάσει σε συγκεντρώσεις τέτοιες όπου προκαλούν την οργανοληπτική απόρριψη του προϊόντος (Dalgaard et al. 1993, Gram & Huss 1996, Huisin't Veld 1996). Το επίπεδο ανάπτυξης των EAM, μπορεί να χαρακτηριστεί ως το ελάχιστο επίπεδο αλλοίωσης, ενώ η συγκέντρωση του μεταβολίτη που αντιπροσωπεύει την αλλοίωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χημικός δείκτης αλλοίωσης (Chemical Spoilage Index, CSI) (Dalgaard 1993).

Η επικράτηση των EAM δεν είναι καθορισμένη, αλλά εξαρτάται κάθε φορά από μία σειρά παραγόντων κατά την παραγωγική διαδικασία όπως επεξεργασία, μεταφορά και συντήρηση (Nychas et al. 2008). Οι μικροοργανισμοί που τελικά θα επικρατήσουν, είναι αυτοί οι οποίοι διαθέτουν τέτοιες στρατηγικές, που τους επιτρέπουν να προσαρμοστούν καλύτερα στο μικροπεριβάλλον του τροφίμου. Είναι γνωστό πλέον, ότι σε κάθε τρόφιμο, πέντε είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (Πίνακας 1.6). Οι παράγοντες αυτοί μαζί αποτελούν τις συνιστώσες από κάθε ένα διαφορετικό σημείο του τροφίμου, η εξέλιξη του οποίου είναι διαφορετική στο χωροχρόνο, επηρεάζει και επηρεάζεται από τους μικροοργανισμούς. Η τροποποίηση ή ο έλεγχος ενός ή περισσότερων παραγόντων οδηγεί σε διαφορετική επιλογή και εξέλιξη των μικροοργανισμών, χαρακτηριστικό που μπορεί να έχει εφαρμογή στη δημιουργία προϊόντων με μεγάλη διάρκεια ζωής (Nychas et al. 2005).



Πίνακας 1.6 Παράγοντες που επηρεάζουν την μικροβιακή ανάπτυξη

Ενδογενής (Intrinsic)	Δομή του κρέατος του καβουριού: a_w , pH, παρουσία αντιμικροβιακών παραγόντων, οξειδοαναγωγικό δυναμικό, σύσταση θρεπτικών συστατικών
Παράγοντες κατά την επεξεργασία (Processing)	Επηρεάζουν τη βασική μικροβιακή κοινότητα του τροφίμου
Εξωγενής (Extrinsic)	Θερμοκρασία, σχετική υγρασία,
Ενδογενείς βιοτικοί παράγοντες (Implicit)	Ανταγωνισμός και συνεργισμός μεταξύ των βακτηρίων
Συνεργαστικοί παράγοντες	Αλληλεπίδραση παραγόντων

1.7 Αρχική Μικροχλωρίδα

Όπως και με τους ιχθύες, το επίπεδο και το είδος της αρχικής μικροχλωρίδας των καρκινοειδών αντικατοπτρίζει ένα συνδυασμό παραγόντων, που περιλαμβάνουν το περιβάλλον από το οποίο έχουν συλληφθεί ή έχουν συγκομισθεί, τη διατροφή και τις συνήθειες ζωής τους, τη γεωγραφία της περιοχής που συλλαμβάνονται ή καλλιεργούνται, την εποχή, τη θερμοκρασία και την ποιότητα των υδάτων στα οποία απαντώνται. Μετά τη σύλληψη ή τη συγκομιδή, η χλωρίδα θα αλλάξει ανάλογα με τις μεθόδους χειρισμού ή / και τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες εκτίθενται. Οι μικροβιολογικοί κίνδυνοι που σχετίζονται με τα καρκινοειδή εξαρτώνται από τον τρόπο χειρισμού στον οποίο το προϊόν υποβάλλεται, ιδιαίτερα αφού έχει μαγειρευτεί. Για παράδειγμα, κατά τη διάρκεια της αποφλοιώσης των μαγειρεμένων γαρίδων, υπάρχει η δυνατότητα για διασταυρούμενη μόλυνση τόσο από τον άνθρωπο όσο και από το περιβάλλον. Τα μέτρα ελέγχου για την αποτροπή αυτών των πιθανών κινδύνων που εμφανίζονται περιλαμβάνουν την κατάρτιση και την επίβλεψη των εργατών, καθώς και ορθών πρακτικών υγιεινής (GHP). Κακές διαδικασίες υγιεινής αυξάνουν την πιθανότητα μόλυνσης με βακτήρια που είναι επιβλαβή για τη δημόσια υγεία. Η δομή του κυκλοφορικού συστήματος των καρκινοειδών δεν είναι κλειστή, πράγμα που σημαίνει ότι η αιμολέμφος μπορεί να είναι μια δεξαμενή βακτηρίων, ιδιαίτερα για τα μέλη του γένους *Vibrio* (Reilly 1992)



1.8 Παθογόνοι μικροοργανισμοί

Τα αλιεύματα και τα προϊόντα τους είναι δυνατό να επιμολυνθούν με παθογόνους μικροοργανισμούς σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας τους, με αποτέλεσμα να είναι επικίνδυνα για τη δημόσια υγεία. Η αύξηση ή όχι των παθογόνων μικροοργανισμών εξαρτάται από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες αλλά και από τις αλληλεπιδράσεις με τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς (Buchanan & Bagi 1999, Gram et al.2002, Skandamis & Nychas 2002).

Ορισμένα παθογόνα βακτήρια όπως τα *C. botulinum* type E, παθογόνα στελέχη *Vibrio spp.* και *Aeromonas spp.* απαντώνται φυσικώς στα υδάτινα οικοσυστήματα και άλλα όπως τα *Clostridium botulinum* type A, B και *L. monocytogenes* απαντώνται γενικότερα στο περιβάλλον (Huss et al.2000). Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να βρεθούν και στα καρκινοειδή συνήθως σε χαμηλούς πληθυσμούς. Ορισμένα άλλα βακτήρια όπως τα *Salmonella spp.* και διάφορα άλλα εντερικά παθογόνα όπως τα *Shigella spp.*, παθογόνα στελέχη του *Escherichia coli*, κ.ά. είναι δυνατόν να βρεθούν στα υδάτινα οικοσυστήματα και περαιτέρω στους ιχθύες από περιττώματα ανθρώπων και ζώων (Parlapani et al. 2013). Επιπλέον, μικροοργανισμοί όπως το *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *C. perfringens* και εντερικά παθογόνα μπορεί να βρεθούν στα αλιευτικά προϊόντα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους (Feldhusen 2000). Τα παθογόνα βακτήρια ως επί το πλείστον απαιτούν θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 5 °C για την αύξησή τους. Επιπλέον, τα βακτήρια αυτά ανταγωνίζονται με τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς οι οποίοι πολλαπλασιάζονται συγκριτικά πιο γρήγορα σε χαμηλές θερμοκρασίες (Tsigarida et al 2000). Έτσι, τα επιμολυσμένα προϊόντα πιθανόν να αλλοιωθούν πριν από την παραγωγή της τοξίνης ή την αύξηση μεγάλου αριθμού παθογόνων. Όταν τα προϊόντα αυτά μαγειρευθούν εξαλείφεται σχεδόν ο κίνδυνος πρόκλησης τροφοδηλητηριάσεων (Feldhusen 2000). Οι μικροοργανισμοί της φυσικής μικροβιακής σύνθεσης είναι δυνατό να παρεμποδίσουν ή να ευνοήσουν την αύξηση των παθογόνων μικροοργανισμών (Jay 1996, Tsigarida et al. 2000, Vold et al. 2000). Οι Tsigarida et al.(2000), μελετώντας την επίδραση της συσκευασίας σε κενό (vacuum packaging), σε MAP (40%CO₂/ 30%O₂/ 30%N₂) και σε αέρα στην αύξηση/επιβίωση του *L. monocytogenes* σε ιστό βόειου κρέατος, αναφέρουν ότι όταν τα *Pseudomonas spp.* αποτελούν τον κυρίαρχο πληθυσμό (στην αερόβια συσκευασία και



σε MAP/ VP σε υψηλής διαπερατότητας φιλμ) ευνοείται η αύξηση του παθογόνου. Σε άλλες όμως συνθήκες (MAP/VP με χαμηλής διαπερατότητας φιλμ) όπου ο κυρίαρχος πληθυσμός είναι το *B.thermosphacta*, δεν παρατηρείται αύξηση του παθογόνου. Το *L. monocytogenes* είναι ένα θετικό κατά Gram βακτήριο, αερόβιο και προαιρετικά αναερόβιο, η παρουσία του οποίου έχει αναφερθεί αρκετές φορές στα αλιεύματα (Jørgensen & Huss 1998, Gram 2001). Στις συσκευασίες των αλιευμάτων σε MAP, η αύξηση του *L. monocytogenes* πολλές φορές δεν παρεμποδίζεται (Gibson & Davis 1995). Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι η προσθήκη πρόσθετων εμποδίων όπως είναι τα φυσικά ή/και τα χημικά συντηρητικά αποτελούν αποτελεσματική λύση στο παραπάνω πρόβλημα (Parlapani *et al* 2014).

1.9 Χημικοί δείκτες αλλοίωσης

Ένας εναλλακτικός τρόπος προσδιορισμού της μικροβιακής αλλοίωσης είναι η εκτίμηση της αλλοιωγόνου δυναμικής των μικροοργανισμών μέσω του προσδιορισμού των μεταβολικών τους προϊόντων που προκαλούν την αλλοίωση και την οργανοληπτική απόρριψη. Περαιτέρω, είναι δυνατό η χρήση τέτοιων μεταβολιτών ως χημικοί δείκτες μικροβιολογικής αλλοίωσης. Οι κυριότεροι χημικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι το ολικό πτητικό βασικό άζωτο (TVB-N), η τριμεθυλαμίνη (TMA) ή το άζωτο της τριμεθυλαμίνης (TMA-N) (Scherer *et al.* 2006, Mol *et al.* 2007).

Το TVB-N παράγεται σε σημαντικές ποσότητες από τα αρχικά στάδια της αλλοίωσης των καρκινοειδών και θεωρείται αξιόπιστη ουσία για την αξιολόγηση της φρεσκάδας τους στο αρχικό στάδιο της αποθήκευσης (Boziaris *et al.* 2008). Επιπλέον, η τιμή του TMA είναι αρκετά υψηλή από τα πρώτα στάδια της αλλοίωσης στα καρκινοειδή (καραβίδα, καβούρι κ.α) που έχουν αλιευθεί από ελληνικά ύδατα (Boziaris *et al* 2008, Parlapani *et al* 2015).

1.10 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας ήταν η ανασκόπηση σχετικά με αλλοιωγόνους και τροφιμογενούς παθογόνους μικροοργανισμούς στα καρκινοειδή.

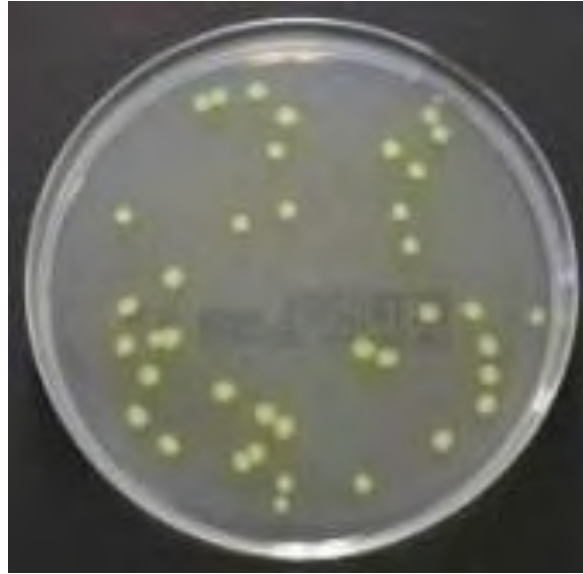


2. ΑΛΛΟΙΩΓΟΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΑ ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΗ

2.1 Γενικά

Τα ψάρια και τα καρκινοειδή είναι ιδιαίτερα ευπαθή προϊόντα. Η ταχεία μείωση της ποιότητας και της φρεσκάδας προκαλείται από μικροβιακούς και βιοχημικούς μηχανισμούς. Η παραγωγή των μικροβιακών μεταβολιτών οφείλεται σε μικροβιακή ανάπτυξη και επηρεάζει την οσμή των προϊόντων αυτών (Gram & Huss 1996). Στην μετά θάνατον δραστηριότητα τα αυτολυτικά ένζυμα εντός των μυών επιφέρουν διάφορες αλλαγές κατά την αποθήκευση-συντήρηση, ενώ η ενζυματική αμαύρωση του κελύφους των καρκινοειδών προκαλεί την απώλεια του αρχικού χρώματός τους (Ashie *et al.* 1996).

Ωστόσο, ο κύριος μηχανισμός αλλοίωσης είναι η μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών, η οποία οδηγεί στην παραγωγή δυσάρεστων οσμών (Dainty 1996, Gram & Huss, 1996). Οι EAM και κατά συνέπεια οι μεταβολίτες που παράγονται εξαρτώνται από τις συνθήκες αποθήκευσης και τον τόπο συγκομιδής (Drosinos & Nychas 1997, Gram & Dalgaard, 2002). Η *Shewanella putrefaciens* και το *Pseudomonas spp.* (Εικόνα 2.1) είναι οι EAM των ψαριών προερχόμενα από εύκρατα νερά που αποθηκεύονται σε αερόβιες συνθήκες και σε χαμηλές θερμοκρασίες (Gram & Huss 1996, Koutsoumanis & Nychas, 1999, Koutsoumanis *et al.* 2000, Parlapani *et al.*, 2014, 2015). Κυρίως τα υδροθιουχο-παραγωγά βακτήρια και δευτερευόντως τα *Pseudomonas spp.* αποτελούν τις κύριες πηγές αλλοίωσης της μικροβιακής χλωρίδας του *Nephrops norvegicus* που αλιεύεται στην Ισπανία, ενώ τα οξυγαλακτικά βακτήρια και τα *Enterobacteriaceae* βρίσκονται σε χαμηλούς πληθυσμούς, κάτω του ορίου ανίχνευσης (Anacleto *et al.* 2011). Αντίθετα σε *Nephrops norvegicus* που αλιεύτηκε στην Ελλάδα τα *Pseudomonas spp.* ήταν τα κυρίαρχα (Boziaris *et al.* 2011).



Εικόνα 2.1 *Pseudomonas spp.* ([http 7](http://7))

Η φρεσκότητα των καρκινοειδών είναι το πιο σημαντικό κριτήριο κατά την αξιολόγηση της ποιότητας. Αξιολογείται χρησιμοποιώντας οργανοληπτικές, μικροβιολογικές και χημικές μεθόδους (Olafsdottir *et al.* 1997). Η οργανοληπτική αξιολόγηση είναι υποκειμενική και απαιτεί άρτια εκπαιδευμένο προσωπικό για να είναι αξιόπιστη (Dainty 1996).

Το ολικό βασικό πτητικό άζωτο (TVBN) και η Τριμεθυλαμίνη (TMA-N) είναι οι κύριες χημικές παράμετροι που σχετίζονται με την μικροβιακή ανάπτυξη των μικροοργανισμών, όπως οι *Pseudomonas spp.*, η *Shewanella putrefaciens* και τα *Photobacterium phosphoreum* (Gram & Huss 1996, Gram & Dalgaard 2002). Το TVBN και TMA συνήθως συσχετίζονται με την μικροβιακή ανάπτυξη των μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις στα μεσογειακά ψάρια, στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης (Kirana *et al.* 1997, Koutsoumanis & Nychas 2000, Kirana & Louvois 2002, Parlapani *et al.* 2016). Ως εκ τούτου, η χρήση αυτών των χημικών δεικτών είναι περιορισμένη, λόγω της αδυναμίας να ανιχνευθεί πριν από τις τελευταίες φάσεις της αποθήκευσης (Kirana *et al.* 1997, Castro *et al.* 2006). Έχει ωστόσο αναφερθεί ότι είναι αρκετά υψηλές οι ποσότητες που παράγονται κατά την αποθήκευση της καραβίδας και των καβουριών, γεγονός που τα καθιστά εξαιρετικά καλούς δείκτες αλλοίωσης των καρκινοειδών (Losada *et al.* 2006, Aubourg *et al.* 2007, Maulvault *et al.* 2012, Boziaris *et al.* 2011).



2.2 Αλλοίωση καρκινοειδών

Όπως σε όλα τα αλιεύματα, έτσι και στα καρκινοειδή, το επίπεδο και το είδος της αρχικής μικροχλωρίδας τους, αντικατοπτρίζει ένα συνδυασμό παραγόντων, που περιλαμβάνουν το περιβάλλον από το οποίο έχουν συλληφθεί ή έχουν εκτραφεί, τη διατροφή την οποία ακολούθησαν και γενικότερα τον κύκλο ζωής τους. Εξίσου σημαντικοί παράγοντες είναι η γεωγραφική θέση της περιοχής που ενδιαιτούν, η εποχή σύλληψής τους, η θερμοκρασία και η ποιότητα των υδάτων στα οποία ζούνε (Asai *et al.* 2008). Μετά τη σύλληψη ή τη συγκομιδή τους, η χλωρίδα θα αλλάξει ανάλογα με τις μεθόδους χειρισμού ή / και τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες εκτίθενται. Οι μικροβιολογικοί κίνδυνοι συνδέονται με το βαθμό χειρισμού που υποβάλλεται το προϊόν, ιδιαίτερα αφού έχει μαγειρευτεί (Wan Norhana *et al.* 2010). Για παράδειγμα, κατά τη διάρκεια της αποφλοιώσης των μαγειρεμένων γαρίδων, υπάρχει η πιθανότητα για μόλυνση που οφείλεται τόσο στην επεξεργασία όσο και στο περιβάλλον. Τα μέτρα ελέγχου για την αποτροπή αυτών των πιθανών κινδύνων που εμφανίζονται περιλαμβάνουν την κατάρτιση και την επίβλεψη των εργατών, καθώς και της ορθής υγιεινής πρακτικής (GHP) (Andrews *et al.* 2002).

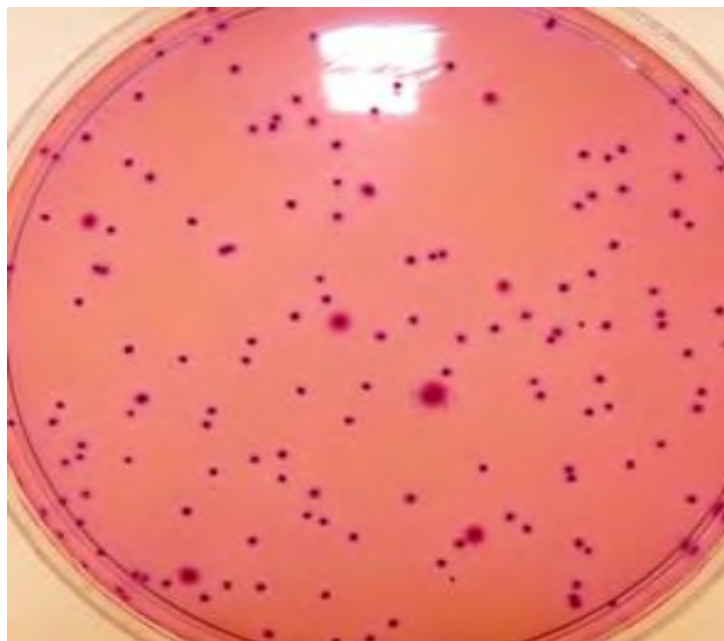
Τα καρκινοειδή συνήθως αποθηκεύονται στον πάγο για μερικές ημέρες για να διευκολυνθεί η χαλάρωση του κελύφους, τεχνική γνωστή ως ωρίμανση (Hoegh 1989). Αυτή η διαδικασία επιτυγχάνεται συνήθως με την δράση αυτολυτικών ενζύμων και προκαλείται από την αύξηση του pH το οποίο χαλαρώνει τις πρωτεΐνες στο κέλυφος (Hoegh 1989). Το περιεχόμενο αμμωνίας είναι σταθερό κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε πάγο (1,5 g/kg μετά από 7-8 ημέρες αποθήκευσης). Αυτό είναι κυρίως αποτέλεσμα της αυτόλυσης πρωτεασών και συνοδεύεται από μια ταυτόχρονη αύξηση σε ελεύθερα αμινοξέα (Albalat *et al.* 2011).

Η αλλοίωση αρχίζει μετά το θάνατό τους, καθώς το ανοσοποιητικό τους σύστημα αδυνατεί να λειτουργήσει. Ως εκ τούτου, για τα καβούρια, τις караβίδες και τους αστακούς, τα βακτήρια αλλοίωσης έχουν μικρή σημασία, αφού παραδοσιακά υποβάλλονται σε επεξεργασία όσο είναι ζωντανά. Εάν αυτά τα προϊόντα αποθηκευτούν σε θερμοκρασίες, πάνω από τη συνιστώμενη, παρουσιάζονται πιο ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη τόσο αλλοιωγόνων όσο και παθογόνων μικροοργανισμών. Αντίθετα, οι γαρίδες πεθαίνουν αμέσως μετά τη σύλληψή τους και συνεπώς η αλλοίωση μπορεί να ξεκινήσει κατά τη διάρκεια της εκφόρτωσης και της μεταφοράς στο εργοστάσιο



επεξεργασίας. Όπως και στους ιχθύες, έτσι και στις γαρίδες είναι σημαντικός ο χειρισμός και η ψύξη για να παραμείνουν όσο το δυνατόν περισσότερο σε κατάσταση φρεσκότητας (Neil 2012).

Η μικροβιακή χλωρίδα των καρκινοειδών από εύκρατα νερά διαφέρει από εκείνη των καρκινοειδών από τροπικά νερά. Η βακτηριακή αλλοίωση σχετίζεται με τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια όπως τα *Pseudomonas spp.* ενώ ακολουθούν η *Shewanella putrefaciens* και μέλη του είδους *Acinetobacter-Moraxella*. Αντίθετα, τα γένη που σχετίζονται με τροπικά είδη καρκινοειδών περιλαμβάνουν κατά κύριο λόγο τα *Enterobacteriaceae* (Εικόνα 2.2α), ενώ ακολουθούν τα *Pseudomonas spp.*, τα *Alcaligenes*, τα *Corynebacterium*, και τα *Achromobacter spp.* Ως εκ τούτου, από τη στιγμή της σύλληψης και επεξεργασίας, η βακτηριακή ανάπτυξη και η αλλοίωση είναι αναπόφευκτες. Ο ρυθμός αλλοίωσης είναι μια συνάρτηση του χρόνου και της θερμοκρασίας και το περιεχόμενο της μικροβιακής χλωρίδας εξαρτάται από το εάν τα καρκινοειδή προέρχονται από δροσερά ή θερμότερα νερά. Όπως και στα ψάρια, έτσι και στα καρκινοειδή, έχει αποδειχθεί ότι ο εμπορικός χρόνος ζωής των προερχόμενων από τροπικά νερά ειδών, είναι μεγαλύτερος (16 ημέρες) από τον αντίστοιχο εκείνων που προέρχονται από εύκρατες περιοχές (8-10 ημέρες) (Parlapani *et al.* 2015a).



Εικόνα 2.2α *Enterobacteriaceae* ([http 7](http://7))



Τα ψυχρότροφα βακτήρια αυξάνονται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Cann 1973). Η μικροβιακή χλωρίδα αλλοίωσης μπορεί να περιέχει μεγάλο ποσοστό των *Moraxella* ή *Acinetobacter* (Surendran, MahadevaIyer & Gopakumar 1985, Vanderzant, Cobb, Thompson & Parker, 1973). Βέβαια, έχει βρεθεί ότι τα *Pseudomonas fragi* και η *Shewanella putrefaciens* έχουν την δυνατότητα να επικρατήσουν έναντι των προαναφερθέντων (Shamshad, Kher, Riaz, Zuberi & Qadri 1990). Οι *Pseudomonas fragi* και *Shewanella putrefaciens* έχουν αναγνωρισθεί ως οι πρωτεύοντες παράγοντες αλλοίωσης (EAM) σε γαρίδες αποθηκευμένες στον πάγο, ενώ η *Shewanella putrefaciens* είναι ο κυρίαρχος μικροοργανισμός σε γαρίδες αποθηκευμένες σε εναιωρήματα πάγου (Srinivasagam, Bremner, Thrower & Nottingham 1996). Μετά το πέρας του εμπορικού χρόνου ζωής, ο εκάστοτε ειδικός αλλοιωγόνος μικροοργανισμός μεταβολίζεται και παράγει διάφορα πτητικά, βιογενής αμίνες, σουλφίδια και εστέρες τα οποία αποτελούν το κύριο λόγο παραγωγής των διάφορων δυσάρεστων οσμών (οργανοληπτική απόρριψη). Τα σουλφίδια και οι αμίνες προέρχονται από τον μεταβολισμό της *Shewanella putrefaciens*, ενώ οι εστέρες και τα πτητικά οφείλονται στα *Ps. fragi* (Chinivasagam, Bremner et al. 1998).

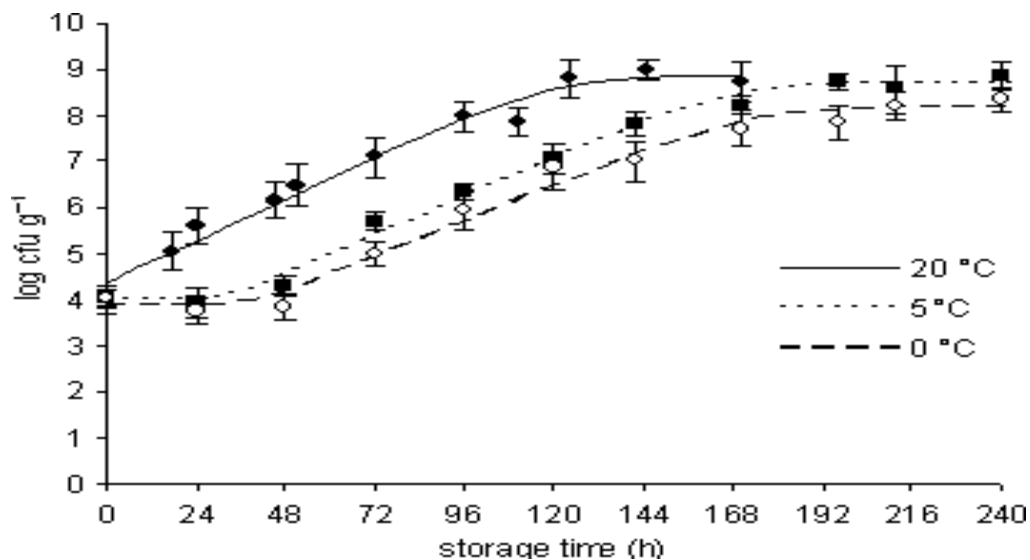
Αξίζει να σημειωθεί ότι η ινδόλη έχει προταθεί ως δείκτης αλλοίωσης πολλών ειδών γαρίδας και καβουριών, χωρίς αυτό να είναι απόλυτο. Η ινδόλη προέρχεται από βακτήρια που παράγουν τρυπτοφάνη. Σε ορισμένα είδη, η τιμή της ινδόλης μπορεί να φτάσει στα 100μg/100g σάρκας στο πέρας του εμπορικού χρόνου ζωής, ενώ έχει βρεθεί ότι σε άλλα είδη η τιμή της θα πρέπει να φτάσει τα 250μg/100g σάρκας, ώστε να θεωρηθεί αλλοιωμένο το προϊόν (Mendes et al. 2005). Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε, η ινδόλη δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως δείκτης αλλοίωσης για όλα τα είδη των καρκινοειδών. Επιπλέον, σε κάποιες περιπτώσεις, η οργανοληπτική απόρριψη των καρκινοειδών οφείλεται στον σχηματισμό μαύρων κηλίδων (μελάνωση). Η μελανίνη οφείλεται στην οξείδωση των *Pseudomonas spp.* από την παραγωγή τυροσίνης. Βέβαια, σε καμία περίπτωση δεν μπορεί να χαρακτηριστεί η μελανίνη ως δείκτης αλλοίωσης, όπως έχει αποδειχθεί (Srinivasagam et al., 1998).

2.3 Καραβίδες και γαρίδες

Ο δείκτης φρεσκότητας για τις καραβίδες και τις γαρίδες έγκειται κυρίως στη σκληρότητα και σταθερότητα του κελύφους, και στην ελαφρά μυρωδιά ιωδίου. Σε



περίπτωση αλλοίωσης το κέλυφος είναι μαλακό και καταστρέφεται με τον καιρό (Aubourg et al. 2007). Κατά την διάρκεια της διαδικασίας αυτής έχει ήδη προκληθεί υποβάθμιση του προϊόντος από μικροβιακή δραστηριότητα ενώ στο πέρας του εμπορικού χρόνου ζωής παράγεται αμμωνία που οφείλεται στον επικρατέστερο αλλοιωγόνο μικροοργανισμό, που σύμφωνα με την βιβλιογραφία είναι τα *Pseudomonas* και η *Shewanella putrefaciens*. Στο διάγραμμα 2.3.1 παρουσιάζεται η πληθυσμιακή βακτηριακή αλλαγή σε σάρκα караβίδας ($\log_{10} \text{cfu g}^{-1}$, $n = 6$, μέση \pm τυπική απόκλιση), κατά την αποθήκευση στους 20 (•), 5 (■) και 0° C (Boziaris et al. 2011). Όπως προκύπτει από το διάγραμμα, η βακτηριακή χλωρίδα στις γαρίδες αποθηκευμένες στους 20°C, καταγράφει τις μεγαλύτερες τιμές καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης, ενώ η αποθήκευση στους 0°C, καταγράφει την μικρότερη βακτηριακή χλωρίδα, άρα και μεγαλύτερο εμπορικό χρόνο ζωής.

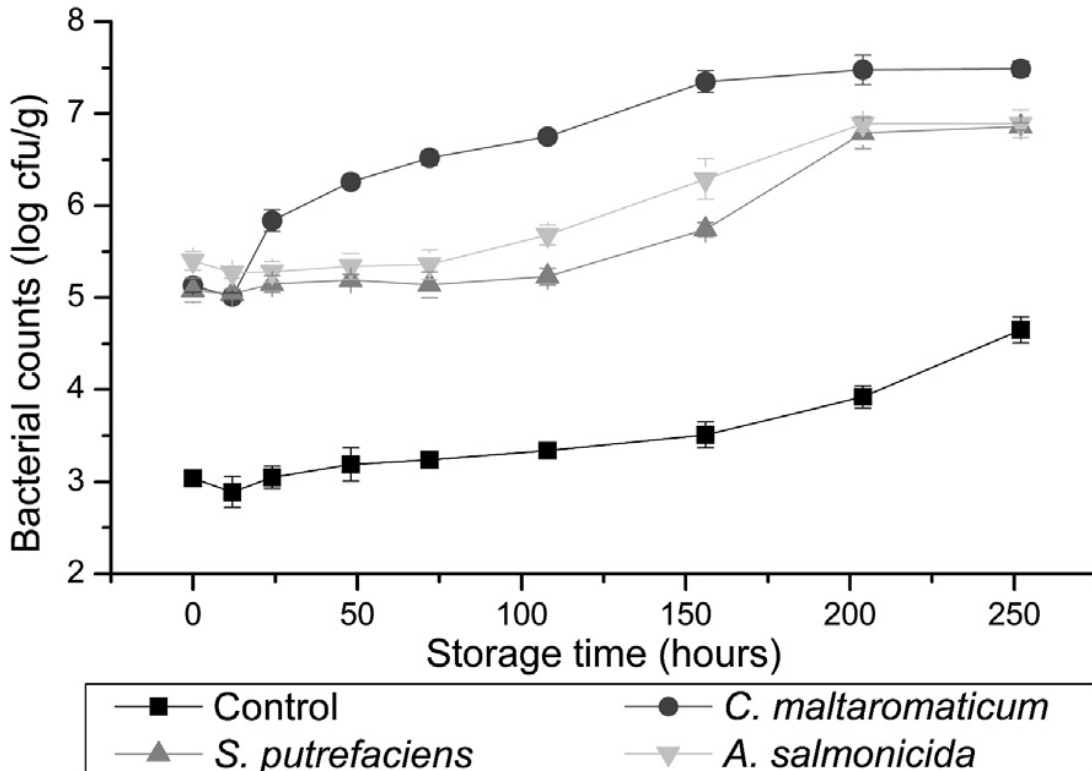


Διάγραμμα 2.3.1 Πληθυσμιακή βακτηριακή αλλαγή σε σάρκα караβίδας ($\log_{10} \text{cfu g}^{-1}$, $n = 6$, μέση \pm τυπική απόκλιση κατά την αποθήκευση στους 20 (•), 5 (■) και 0° C (o). Οι καμπύλες αντιπροσωπεύουν την τοποθέτηση των δεδομένων χρησιμοποιώντας την εξίσωση Baranyi (Baranyi et al. 1993) (Boziaris et al. 2011).

Στο διάγραμμα 2.3.2 παρουσιάζεται η πληθυσμιακή βακτηριακή αλλαγή σε σάρκα караβίδας του Ειρηνικού ωκεανού υπό συνθήκες MAP σε θερμοκρασία 4°C. Όπως προκύπτει από το διάγραμμα, ο EAM φαίνεται να είναι το *Carnobacter*



iummaltaromaticum με τιμή που αγγίζει τους 7.35log cfu/g στο πέρας του εμπορικού χρόνου ζωής (156h), με δεύτερο επικρατέστερο μικροοργανισμό το *Aeromonas salmonicida*, με τιμή κοντά στους 6.89log cfu/g, στο πέρας του εμπρικού χρόνου ζωής. Τέλος το *S. putrefaciens*, δεν ξεπέρασε τους 6.86 log cfu/g, καθώς η ανάπτυξή του ξεκίνησε μετά τις 150h αποθήκευσης.



Διάγραμμα 2.3.2 Πληθυσμιακή βακτηριακή αλλαγή σε σάρκα καραβίδας (logcfu g⁻¹, n = 6, μέση ± τυπική απόκλιση), υπό συνθήκες MAP σε θερμοκρασία 4°C (Yun-Fang Qian et al. 2014).

2.4 Καβούρια και αστακοί

Τα καβούρια και οι αστακοί θα πρέπει να είναι ζωντανά η θερμικά επεξεργασμένα (βραστά) όταν πωλούνται. Αν είναι βραστά, η στενότητα των άκρων θα δείξει αν θανατώθηκαν με εμβάπτιση σε βραστό νερό. Τα κελύφη έχουν μια τραγανή, φωτεινή και ξηρή εμφάνιση, ενώ τα βρασμένα καρκινοειδή έχουν μια ευχάριστη ελαφρώς γλυκιά μυρωδιά. Αν η ουρά πέφτει, ο σύνδεσμος μεταξύ της ουράς και του καβουκιού είναι ανοιχτός και τα άκρα είναι χαλαρά. Το κέλυφος θα είναι μαλακό, θαμπό και κολλώδη, με εμφανή αποσύνθεση ή πράσινο αποχρωματισμό. Μια δυσάρεστη μυρωδιά



παράγεται επίσης που οφείλεται κυρίως στην οξείδωση της τριμεθυλαμίνης και σε άλλες πτητικές ουσίες (Sarnoski et al. 2010).

Τα καβούρια και οι αστακοί είναι από τα ευπαθή είδη καρκινοειδών καθώς έχει βρεθεί ότι το πέρας του εμπορικού χρόνου ζωής υπό συνθήκες συντήρησης συμπίπτει με την θνησιμότητά τους, καθώς είναι οργανισμοί που μπαίνουν στο ψυγείο ζωντανοί.

Στο διάγραμμα 2.4.1 παρουσιάζονται οι μεταβολές της OMX και των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών σε σάρκα καβουριού, κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 10°C (Anagnostopoulos 2015).

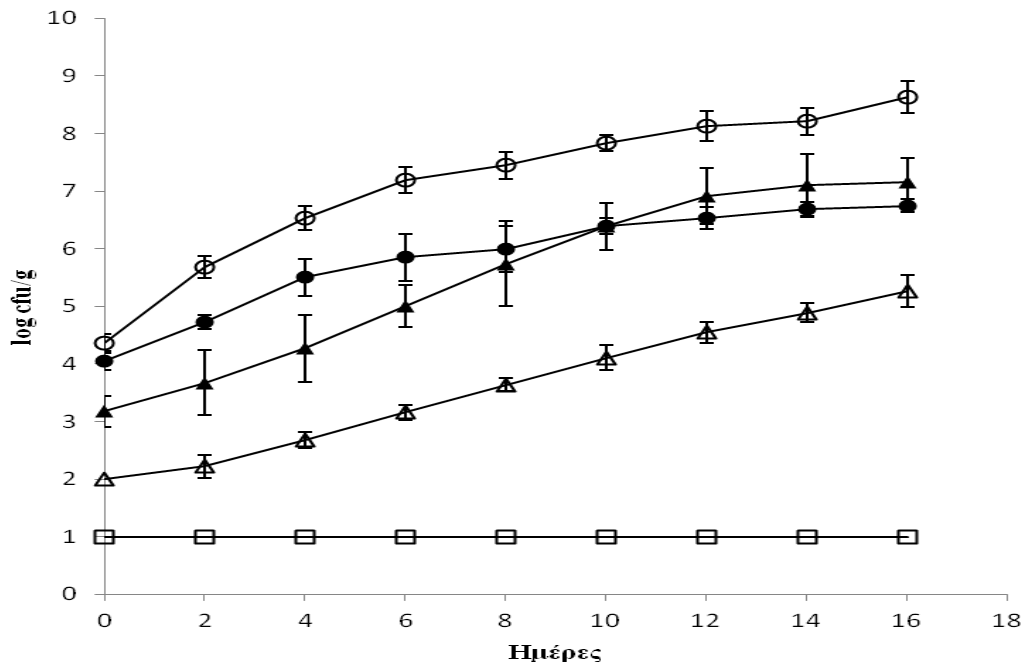
Όπως προκύπτει από το διάγραμμα, τα *Pseudomonas spp.* αποτέλεσαν τους κυρίαρχους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς, με πληθυσμό 5.85 log₁₀ cfu/g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής (ημέρα 6 ή 144h) και 6.53 log₁₀cfu/g στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας (ημέρα 16, 384 h).

Τον πληθυσμό των *Pseudomonas spp.* ακολούθησε ο πληθυσμός των υδροθειούχων (H₂S) βακτηρίων, με 3.18 log₁₀cfu/g στην έναρξη της πειραματικής διαδικασίας (ημέρα 0), 5 log₁₀cfu/g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής (ημέρα 6 ή 144 h) και 6.92 log₁₀cfu/g στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας.

Τα *Enterobacteriaceae* βρέθηκαν σε πληθυσμό 2 log₁₀ cfu/g, στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής έφτασαν τα 3.16 log₁₀ cfu/g, ενώ στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας ο πληθυσμός εκτοξεύθηκε στα 4.55 log₁₀cfu/g.

Τα Οξυγαλακτικά βακτήρια, καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, βρίσκονταν κάτω του ορίου ανίχνευσης του 1.00 log₁₀cfu/g.

Τέλος, η OMX στην αρχή του πειράματος ήταν στους 4.37 log₁₀cfu/g, έφτασε τους 7.19 log₁₀cfu/g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής, ενώ στο πέρας του πειράματος άγγιξε τους 8.13 log₁₀cfu/g.



Διάγραμμα 2.4.1. Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX και των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών σε σάρκα καβουριού, κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 10°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 4 επαναλήψεων (2X2=4) που προέκυψαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών. Ολικός μικροβιακός πληθυσμός (○), *Pseudomonas* spp. (●), βακτήρια που παράγουν H₂S (▲), οξυγαλακτικά βακτήρια(□) και *Enterobacteriaceae* (Δ).

Στο διάγραμμα 2.4.2 παρουσιάζονται οι πληθυσμιακές μεταβολές της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας αλλά και των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών που παρατηρήθηκαν κατά τη μικροβιακή ανάλυση του κρέατος των καβουριών, κατά τη συντήρησή τους στους 5°C. Οι κυριότεροι αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί που επικράτησαν ανάμεσα στους υπόλοιπους μικροοργανισμούς της μικροβιακής χλωρίδας ήταν αρχικά τα *Pseudomonas* spp., ακολούθησαν τα υδροθειούχα (H₂S) βακτήρια, έπειτα τα *Enterobacteriaceae* και τέλος, τα οξυγαλακτικά βακτήρια.

Οι μικροοργανισμοί που αναπτύχθηκαν ταχύτερα έως την 12^η ημέρα είναι τα βακτήρια *Pseudomonas* spp. και ακολουθούν τα υδροθειούχα (H₂S) βακτήρια (συμπεριλαμβανομένου και του *Shewanella putrefaciens*). Από την 13^η ημέρα και έπειτα παρατηρείται μία αύξηση της ανάπτυξης των υδροθειούχων, τα οποία και επικράτησαν τελικά έναντι των *Pseudomonas* spp.. Παρόλα αυτά, στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής (10^η ημέρα, 240 h), ο πληθυσμός των *Pseudomonas* spp. είχε τις μεγαλύτερες



τιμές καθιστώντας τον επικρατέστερο αλλοιωγόνο μικροοργανισμό και υπεύθυνο για την υποβάθμιση των καβουριών.

Ο πληθυσμός των μικροοργανισμών την αρχική ημέρα του πειράματος (ημέρα 0) ήταν 4,37, 3,73 και 2,78 logcfu/g για την OMX, τα *Pseudomonas spp.* και τα υδροθειούχα (H₂S) βακτήρια αντίστοιχα, τα *Enterobacteriaceae* βρέθηκαν σε πληθυσμό 2 logcfu/g, ενώ τα οξυγαλακτικά βακτήρια παρέμειναν κάτω του ορίου ανίχνευσης του 1.00 logcfu/g καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης.

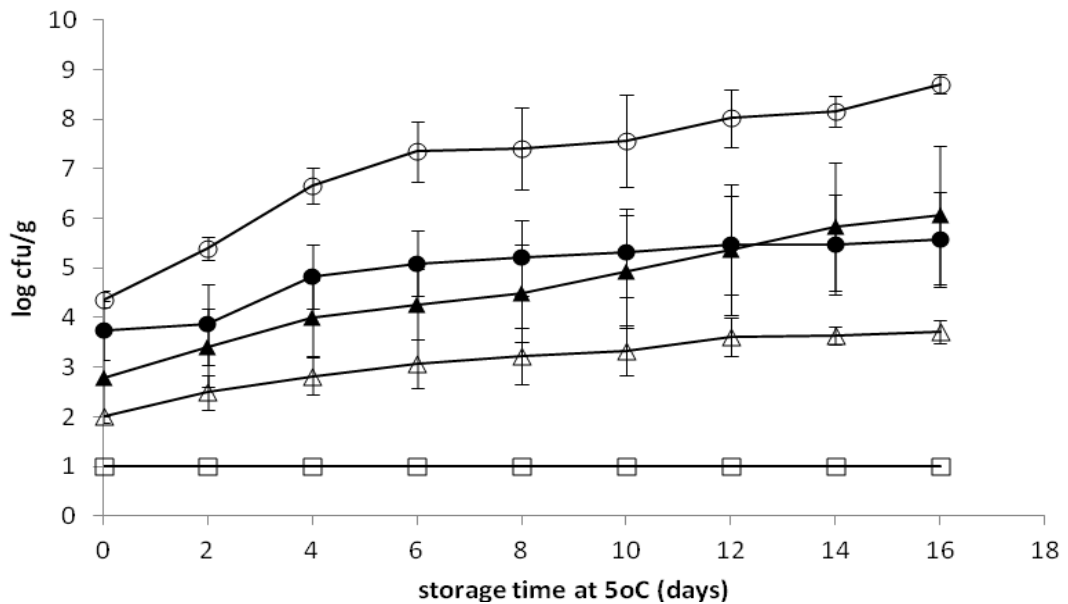
Οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί *Pseudomonas spp.*, οι οποίοι επικράτησαν έναντι της υπόλοιπης μικροχλωρίδας έφτασαν τις τιμές των 5,31 logcfu/g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των καβουριών (10^η ημέρα), ενώ κατά την τελική μέτρηση του πειράματος (16^η ημέρα) έφτασε στους 5,58 logcfu/g.

Ο επόμενος κυρίαρχος πληθυσμός των υδροθειούχων (H₂S) βακτηρίων, έφτασε τους 4,93 logcfu/g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής (ημέρα 10 ή 240 h) και 6,07 logcfu/g στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας.

Στη συνέχεια, όσον αφορά τα *Enterobacteriaceae* έφτασαν σε πληθυσμό τους 3,34 logcfu/g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής ενώ, στη τελική μέτρηση της πειραματικής διαδικασίας έφτασαν τα 3.72 logcfu/g.

Όσον αφορά τώρα τα οξυγαλακτικά βακτήρια, καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, βρίσκονταν κάτω του ορίου ανίχνευσης του 1.00 logcfu/g.

Τέλος, η ολική μικροβιακή χλωρίδα στην αρχή του πειράματος ήταν στους 4.37 logcfu/g. Στο τέλος όμως του εμπορικού χρόνου ζωής των καβουριών έφτασε τους 7,57 logcfu/g, ενώ στο πέρας του πειράματος άγγιξε τους 8,71 logcfu/g.



Διάγραμμα 2.4.2. Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX και των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών σε σάρκα καβουριού, κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 5°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 4 επαναλήψεων (2X2=4) που προέκυψαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών. Ολικός μικροβιακός πληθυσμός (○), *Pseudomonas* spp. (●), υδοθειούχα βακτήρια H₂S (▲), *Enterobacteriaceae* (Δ) και οξυγαλακτικά βακτήρια (□)

3 Παθογόνοι

3.1 Γενικά

Τα καρκινοειδή είναι δυνατό να επιμολυνθούν με παθογόνους μικροοργανισμούς σε διάφορα στάδια της παραγωγικής αλυσίδας τους, με αποτέλεσμα να είναι επικίνδυνα για τη δημόσια υγεία.

Η αύξηση ή όχι των παθογόνων μικροοργανισμών εξαρτάται από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες αλλά και από τις αλληλεπιδράσεις με τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς (Buchanan & Bagi 1999, Gram et al. 2002, Skandamis & Nychas 2002).

Ορισμένα παθογόνα βακτήρια όπως τα *C. Botulinum* type E, παθογόνα στελέχη *Vibrio* spp. και *Aeromonas* spp. απαντώνται φυσικώς στα υδάτινα οικοσυστήματα και άλλα όπως τα *Clostridium botulinum* type A, B και *L. monocytogenes* απαντώνται



γενικότερα στο περιβάλλον (Huss *et al.* 2000). Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να βρεθούν και στους ιχθύες συνήθως σε χαμηλούς πληθυσμούς. Ορισμένα άλλα βακτήρια όπως τα *Salmonella spp.* και διάφορα άλλα εντερικά παθογόνα όπως τα *Shigella spp.*, παθογόνα στελέχη του *Escherichia coli*, κ.ά. είναι δυνατόν να βρεθούν στα υδάτινα οικοσυστήματα και περαιτέρω στους ιχθύες από περιττώματα ανθρώπων και ζώων (Feldhusen 2000).

Επιπλέον, μικροοργανισμοί όπως το *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *C. perfringens* και εντερικά παθογόνα μπορεί να βρεθούν στα αλιευτικά προϊόντα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους (Feldhusen 2000). Τα παθογόνα βακτήρια ως επί το πλείστον απαιτούν θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 5 °C για την αύξησή τους. Επιπλέον, τα βακτήρια αυτά ανταγωνίζονται με τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς οι οποίοι πολλαπλασιάζονται συγκριτικά πιο γρήγορα σε χαμηλές θερμοκρασίες (Tsigarida *et al.* 2000). Έτσι, τα επιμολυσμένα προϊόντα πιθανόν να αλλοιωθούν πριν από την παραγωγή της τοξίνης ή την αύξηση μεγάλου αριθμού παθογόνων. Όταν τα προϊόντα αυτά μαγειρευθούν εξαλείφεται σχεδόν ο κίνδυνος πρόκλησης τροφοδηλητηριάσεων (Feldhusen 2000). Οι μικροοργανισμοί της φυσικής μικροβιακής σύνθεσης είναι δυνατό να παρεμποδίσουν ή να ευνοήσουν την αύξηση των παθογόνων μικροοργανισμών (Jay 1996, Tsigarida *et al.* 2000, Vold *et al.* 2000). Οι Tsigarida *et al.* (2000), μελετώντας την επίδραση της συσκευασίας σε κενό (vacuum packaging), σε MAP (40%CO₂/ 30%O₂/ 30%N₂) και σε αέρα στην αύξηση/επιβίωση του *L. Monocytogenes* σε ιστό βόειου κρέατος, αναφέρουν ότι όταν τα *Pseudomonas spp.* αποτελούν τον κυρίαρχο πληθυσμό (στην αερόβια συσκευασία και σε MAP/ VP σε υψηλής διαπερατότητας φιλμ) ευνοείται η αύξηση του παθογόνου. Σε άλλες όμως συνθήκες (MAP/VP με χαμηλής διαπερατότητας φιλμ) όπου ο κυρίαρχος πληθυσμός είναι το *B. thermosphacta*, δεν παρατηρείται αύξηση του παθογόνου (Nilsson *et al.* 1999).

Το *L. Monocytogenes* είναι ένα θετικό κατά Gram βακτήριο, αερόβιο και προαιρετικά αναερόβιο, η παρουσία του οποίου έχει αναφερθεί αρκετές φορές στα αλιεύματα (Jørgensen & Huss 1998, Gram 2001). Οι υψηλοί αριθμοί οξυγαλακτικών βακτηρίων αποτελούν τον σημαντικότερο παράγοντα που εμποδίζει την αύξηση του παθογόνου αυτού σε ιχθύες σολομού υπό κενό σε χαμηλές θερμοκρασίες (Dalgaard &

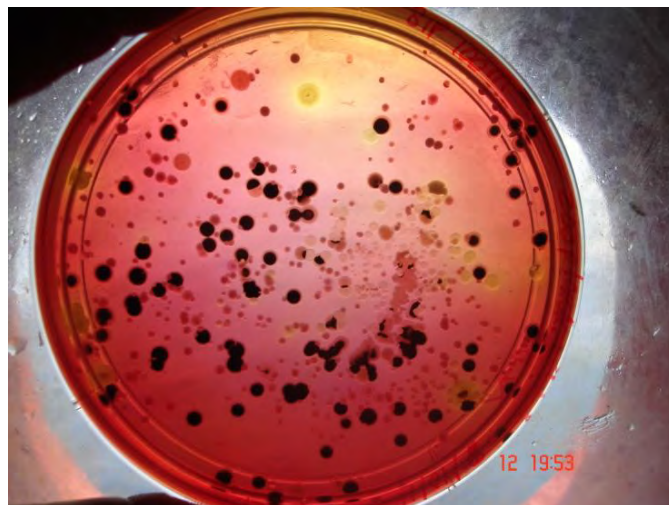


Jørgensen 1998, Ghalfi et al. 2006, Nilsson et al. 1999, Brillet et al. 2004, Giménez & Dalgaard 2004, Nilsson et al. 2004).

Στις συσκευασίες των αλιευμάτων σε MAP, η αύξηση του *L. Monocytogene* πολλές φορές δεν παρεμποδίζεται (Gibson & Davis 1995). Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι η προσθήκη πρόσθετων εμποδίων όπως είναι τα φυσικά ή/και τα χημικά συντηρητικά αποτελούν αποτελεσματική λύση στο παραπάνω πρόβλημα (Brillet *et al.* 2004).

3.2 *Salmonella spp.*

Το γένος του *Salmonella spp.* (Εικόνα 2) περιέχει μια ευρεία ποικιλία παθογόνων ειδών για τον άνθρωπο ή τα ζώα, και συνήθως και για τα δύο. Είναι μεσόφιλος μικροοργανισμός που συνήθως ενδιαιτεί στην εντερική περιοχή των ανθρώπων και των θερμόαιμων ζώων. Ως εκ τούτου, αναπτύσσεται πιο συχνά σε εκτρεφόμενα καρκινοειδή ή αναπτύσσεται σε περιττώματα μολυσμένου υφάλμυρου νερού ([http 6](http://6)). Επιπλέον στην υδατοκαλλιέργεια, τα περιττώματα ζώων που χρησιμοποιούνται ως λίπασμα, συχνά περιέχουν *Salomonella* και άλλα εντερικά παθογόνα και έχει αποδειχθεί ότι τα καρκινοειδή που διαβιούν σε τέτοια περιβάλλοντα μολύνονται. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι τα υδρόβια πουλιά και τα χέρια των εργατών αποτελούν βασικές πηγές μόλυνσης. Η *Salmonella* δεν μπορεί να αφαιρεθεί πλήρως από τα νωπά προϊόντα κατά την επεξεργασία, ακόμη και αν εφαρμόζονται πλήρως οι κανόνες της ορθής εργοστασιακής πρακτικής, αν και κατά το μαγείρεμα εξαλείφεται πλήρως (Mohamed Hatha et al. 1997).



Εικόνα 3.2. *Salmonella spp.* καλλιεργημένο σε τρυβλίο Petri ([http 7](http://7))



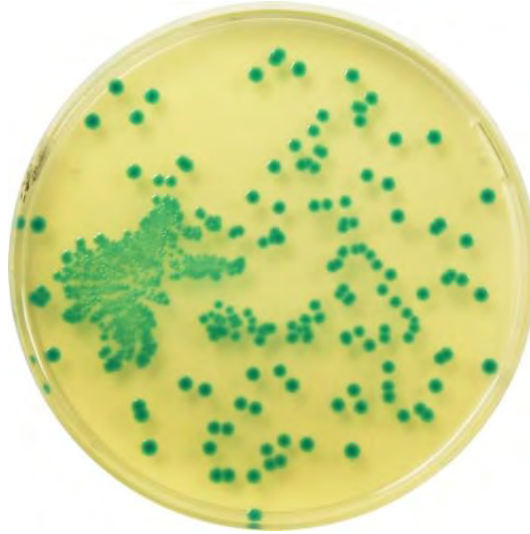
3.3 *Listeria spp.*

Είναι από τα πρώτα κρούσματα παθογόνων που καταγράφηκαν σε καρκινοειδή από Ρώσους εργάτες. Νωρίτερα, στις Ηνωμένες Πολιτείες, ανιχνεύθηκε ο παθογόνος σε μολυσμένο κρέας καβουριού, με αποτέλεσμα την εμφάνιση περιστατικών ασθένειας. Ωστόσο, η υπηρεσία τροφίμων και φαρμάκων (FDA) δεν απέδωσε το περιστατικό στον εν λόγω μικροοργανισμό ([http 6](#)).

Το παθογόνο αργότερα εντοπίστηκε σε κατεψυγμένες γαρίδες και αστακούς. Σε περαιτέρω έρευνες ανιχνεύθηκε *Listeria spp.* (Εικόνα 3.3) στο 24,5% κατεψυγμένων γαρίδων από διαφορετικές χώρες. Τα παραπάνω αποτελέσματα οδήγησαν το FDA να αναπτύξει ένα πρόγραμμα για την αντιμετώπιση του παθογόνου, καθώς και για τη σαλμονέλα, στην εισαγωγή γαρίδων και να αυξήσει τον έλεγχο για άλλα εγχωρίως παραγόμενα θαλασσινά προϊόντα στο πλαίσιο του γενικού προγράμματος επιτήρησης παθογόνων (Wan Norhana et al. 2010).

Τα αποτελέσματα μιας έρευνας που διεξήχθη στην Αγγλία και την Ουαλία μεταξύ 1987 και 1989 έδειξαν ότι η *L. Monocytogenes* ήταν απύσχα από 40 δείγματα από μαγειρεμένες γαρίδες, καραβίδες και χτένια. Η παρουσία του *L.monocytogenes* σε μαγειρεμένα έτοιμα για κατανάλωση καρκινοειδή έχει αναγνωριστεί ως δυνητικός κίνδυνος για επιλεγμένες ομάδες ατόμων: τους πολύ νέους και τους μεσήλικες, τις έγκυες γυναίκες και εκείνους με καταπονημένο ανοσοποιητικό σύστημα ([http 6](#)).

Από τη διαθέσιμη βιβλιογραφία προκύπτει ότι οι χαμηλές θερμοκρασίες παρέχουν κατάλληλες συνθήκες για την ανάπτυξη της *Listeria*. Είναι ξεκάθαρο ότι μέχρι να γίνει πλήρως κατανοητή η οικολογία της, δεν θα είναι δυνατός ο έλεγχος των ασθενειών που προκαλούνται από τον εν λόγω παθογόνο (Adesiyun 1993).



Εικόνα 3.3. *Listeria spp.* καλλιεργημένη σε τρυβλίο Petri ([http 7](http://7))

3.4 *Staphylococcus aureus*

Το *Staphylococcus aureus* δεν είναι παθογόνος που σχετίζεται με την μικροβιακή χλωρίδα των καρκινοειδών. Η κύρια πηγή μόλυνσης είναι τα χέρια από την επεξεργασία του προσωπικού. Περίπου 50 - 70% των υγιών ατόμων μεταφέρουν στελέχη που παράγει την τοξίνη του *Staph. aureus* στα χέρια τους, ως μέρος της φυσικής βακτηριακής χλωρίδας, ενώ το όχι και τόσο καλό βράσιμο είναι επίσης πηγή ανάπτυξης του παθογόνου. Τα καρκινοειδή δεν έχουν συνδεθεί με τροφικές δηλητηριάσεις που να αποδίδονται σε *Staph. Aureus*, παρά το γεγονός της πανταχού παρουσίας αυτού του οργανισμού στο περιβάλλον όπου γίνεται η επεξεργασία. Ωστόσο, θα πρέπει να γίνονται συχνά έλεγχοι των προϊόντων ακολουθώντας τα προγράμματα της ορθής υγιεινής πρακτικής και εκπαίδευσης του προσωπικού (Söderhäll et al. 1992).



Εικόνα3.4. *Staphylococcus aureus* καλλιεργημένο σε τρυβλίο Petri

3.5 *Clostridium botulinum*

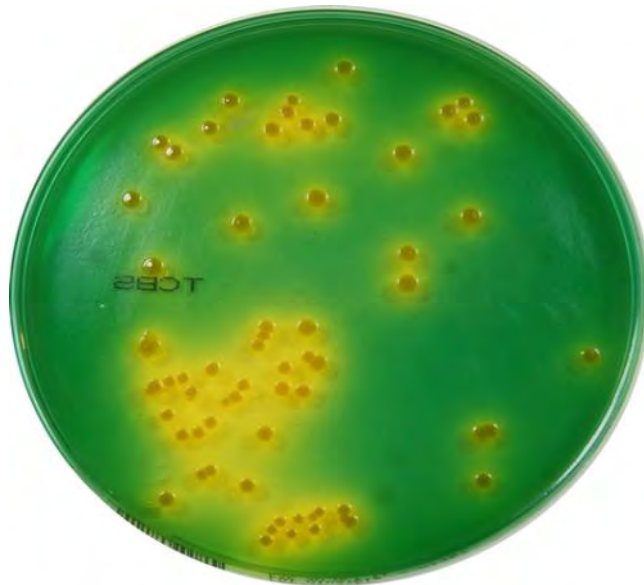
Το *C. botulinum* τύπου E συνήθως συνδέεται με τα καρκινοειδή και τα προϊόντα αλιείας, αν και μπορεί να προκληθεί μόλυνση από τους τύπους A και B από το περιβάλλον. Το παθογόνο αυτό έχει ανθεκτικά σπόρια, έτσι είναι σε θέση να επιβιώσει σε θερμικές επεξεργασίες που εξαλείφουν τα βλαστικά κύτταρα, π.χ. την παστερίωση και το μαγείρεμα ([http 6](http://6)). Μόλις το μικροβιακό φορτίο εξοντώνεται με θερμική επεξεργασία, η GMP πρέπει να ακολουθηθεί στην διαδικασία επεξεργασίας για να εξασφαλιστεί ότι το τελικό προϊόν διατηρείται περίπου στους 3 ° C, ιδιαίτερα σε προϊόντα που έχουν συσκευαστεί σε κενό. Ερευνητές έχουν αποδείξει ότι εμβολιασμένες γαρίδες υποστηρίζουν την παραγωγή τοξινών από τον *C. botulinum* τύπου E στους 10 ° C αλλά όχι στους 4 ° C (Mead *et al.* 1999).

3.6 *Vibrio spp.*

Το *Vibrio cholerae*, το *Vibrio parahaemolyticus* και το *Vibrio vulnificus* είναι είδη που έχει βρεθεί ότι σχετίζονται με νεαρά άτομα καρκινοειδών που συλλέγονται από τα ύδατα εκβολών των ποταμών, καθώς και με μαγειρεμένα καρκινοειδή, που προέρχονται από μολυσμένα νερά (Dechet *et al.* 2008). Τα καβούρια που καλύπτονται με μια χιτίνη (καβούκι), η οποία μπορεί να φιλοξενήσει είδη όπως το *V. Cholerae*. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό κατά το στάδιο του μαγειρέματος ο έλεγχος και το επαρκές



μαγείρεμα για την εξάλειψη του παθογόνου από το προϊόν. Με αυτές τις διαδικασίες είναι δυνατό να αποφευχθεί οποιαδήποτε μόλυνση του μαγειρεμένου προϊόντος από *V. cholerae* που χωρίζεται σε δύο ομάδες, την *V. cholerae* O1 και την *V. cholerae* μη-O1. Η πρώτη ομάδα, ο αιτιολογικός παράγοντας της χολέρας, είναι ευρέως διαδεδομένη στο υδάτινο περιβάλλον, αν και πιο πρόσφατα η μη-O1 τύπου έχει επίσης αποδειχθεί ότι προκαλεί τροφική δηλητηρίαση από κατανάλωση καρκινοειδών (Oliver 2005). Το *V. parahaemolyticus*, είναι ένα θαλάσσιο αλλόφυλλο, το οποίο εμφανίζεται σε καρκινοειδή από ζεστά περιβάλλοντα. Πιο συχνά εμπλέκεται σε χώρες όπου το κρέας των καρκινοειδών τρώγεται ωμό, π.χ. Ιαπωνία, τη Νότια Αμερική. Το *V. vulnificus* είναι ένα θανατηφόρο παθογόνο που σχετίζεται με λοιμώξεις, αλλά έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει θανατηφόρο τροφική ασθένεια (Daniels et al. 2000). Η μόλυνση από τον οργανισμό αυτό μπορεί να ελεγχθεί με την ταχεία ψύξη των καρκινοειδών μετά τη συγκομιδή και την αποφυγή της θέρμανσης κατά την διάρκεια του χρόνου διανομής και επεξεργασίας (Hlady et al. 1995).



Εικόνα 3.6 *Vibrio spp* καλλιεργημένο σε τρυβλίο Petri ([http 7](http://7))

3.7 *Aeromonas hydrophila* και *Aeromonas sobria*

Το *A. hydrophila* (Εικόνα 3.7α) και το *A. sobria* είναι παθογόνα βακτήρια που βρίσκονται στα καρκινοειδή κυρίως σε περιοχές κοντά σε υδατοκαλλιέργεια. Ωστόσο, δεν έχουν επιβεβαιωθεί ότι είναι αιτιώδης παράγοντες της τροφικής ασθένειας που



σχετίζεται με καρκινοειδή, αν και το *A. hydrophila* έχει απομονωθεί από γαρίδες. Το *A. hydrophila* είναι σε θέση να αναπτύσσεται ικανοποιητικά σε θερμοκρασίες ψύξης (0-2 °C). Συνεπώς η GHP σε συνδυασμό με την ελεγχόμενη αποθήκευση σε χαμηλή θερμοκρασία είναι απαραίτητα μέτρα για την πρόληψη των παθογόνων πριν φθάσουν σε επίπεδα που μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα (Hung-Hung Sung et al 2000).



Εικόνα 3.7a *Aeromonas hydrophila* καλλιεργημένο σε τρυβλίο Petri ([http 7](http://7))

3.8 *Campylobacter jejuni* και *Campylobacter coli*

Τα συγκεκριμένα παθογόνα βακτήρια δεν έχουν συσχετίσει την παρουσία τους με τα καρκινοειδή. Ωστόσο το *Campylobacter jejuni* βρέθηκε σε 36 από 240 δείγματα σε μπλε καβούρια ([http 6](http://6)), οι τιμές του οποίου ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης σε όλες τις περιπτώσεις (<0,30 MPN / g) ([http 6](http://6)).



Εικόνα 3.8 *Campylobacter spp.* καλλιεργημένο σε τρυβλίο Petri ([http 7](http://7))

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία πραγματοποιήθηκε μία ανασκόπηση τόσο των αλλοιωγόνων όσο και των παθογόνων μικροοργανισμών στα καρκινοειδή.

Όσο αναφορά τους μικροοργανισμούς, η ανάπτυξη των οποίων οδηγεί στην αλλοίωση των καρκινοειδών, οι επικρατέστεροι είναι τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas spp.* και τα υδροθειούχο – παραγωγά (H_2S) βακτήρια (συμπεριλαμβανομένου και του *Shewanella putrefaciens*).

Σύμφωνα με τους Boziaris *et al.* (2011), τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas spp.* είναι ο επικρατέστερος αλλοιωγόνος μικροοργανισμός στις καραβίδες Νορβηγίας υπό συνθήκες ψύξης ($0^{\circ}C$), με τιμή της τάξης των 5×10^3 cfu g^{-1} , ενώ ακολουθούν τα υδροθειούχο – παραγωγά (H_2S). Επιπλέον, τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas spp.* είναι ο επικρατέστερος αλλοιωγόνος μικροοργανισμός και στα καβούρια του είδους *Callinectes Sapidus* υπό συνθήκες συντήρησης ($5^{\circ}C$, $10^{\circ}C$) (Anagnostopoulos 2015, Koromilas 2015), με τιμή της τάξης των 5×10^3 cfu g^{-1} , ενώ ακολουθούν τα υδροθειούχο – παραγωγά (H_2S). Περαιτέρω, η μικροβιακή αλλοίωση στα καρκινοειδή από νερά της Βόρειας Θάλασσας, τα οποία είναι αποθηκευμένα σε αερόβιες συνθήκες σε χαμηλές θερμοκρασίες, προκαλείται από τα *S. putrefaciens* και τα *Pseudomonas spp.* (Gram *et*



al. 1996). Τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas spp.* έχει αναφερθεί ότι είναι ο κύριος μικροοργανισμός αλλοίωσης των αλιευμάτων από ελληνικά εύκρατα νερά (Koutsoumanis & Nychas 1999, Koutsoumanis & Nychas 2000, Koutsoumanis et al. 2000, Papadopoulos et al. 2003, Parlapani et al. 2013, 2014, 2015a, b.). Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με την εν λόγω εργασία. Οι παραπάνω ερευνητές αναφέρουν ότι τα υδροθειούχο – παραγωγά βακτήρια και τα *Enterobacteriaceae* είναι συνήθως οι δεύτεροι και τρίτοι, πιο σημαντικοί μικροοργανισμοί αλλοίωσης, κάτι που έρχεται σε συμφωνία με την παρούσα εργασία. Εν αντιθέσει με τους Boziaris et al. (2008), όπου παρατηρήθηκε ότι τα βακτήρια που παράγουν H_2S και τα *Enterobacteriaceae* δεν διέφεραν σε όλη τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης.

Επιπλέον, τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas spp.* έχουν χαρακτηριστεί ως οι ΕΑΜ των ιχθύων και των καρκινοειδών που προέρχονται από εύκρατα και τροπικά ύδατα και συντηρούνται υπό αερόβιες συνθήκες σε χαμηλές θερμοκρασίες (Gram et al. 1990, Papadopoulos et al. 2003, Taliadourou et al. 2003, Chytiri et al. 2004, Paleologos et al. 2004, Parlapani et al. 2013, 2014, 2015a, b, c). Επιπλέον, οι ουσίες που δίνουν τις χαρακτηριστικές οσμές στην τσιπούρα που αποθηκεύεται υπό αερόβιες συνθήκες, είναι αμμωνιακής φύσης, κυρίως προϊόντα μεταβολισμού των *Pseudomonas spp.* (Dainty 1996). Κάτι παρόμοιο δεν μπορεί να ειπωθεί για τα καβούρια διότι, τα *Pseudomonas spp.* και οι υπόλοιποι μικροοργανισμοί που μελετήθηκαν αποτέλεσαν ένα μικρό κλάσμα της OMX (<10%) στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής, πράγμα το οποίο δείχνει ότι τα καβούρια αλλοιώθηκαν από άλλους μικροοργανισμούς (ΕΑΜ) οι οποίοι δεν ελήφθησαν υπόψιν βάση βιβλιογραφίας (Anagnostopoulos 2015, Koromilas 2015).

Ενώ, όμως τα υδροθειούχο – παραγωγά (H_2S) βακτήρια αποτελούν τους ΕΑΜ στους ιχθύες και στα καρκινοειδή που προέρχονται από Βόρειες θάλασσες και συντηρούνται στους 0 °C (Gram et al. 1987, Jørgensen & Huss 1998), αποτελούν τους δεύτερους επικρατέστερους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς στα αλιεύματα που προέρχονται από τη Μεσόγειο (Papadopoulos et al. 2003, Taliadourou et al. 2003, Paleologos et al. 2004, Tryfinopoulou et al. 2007), ενώ αποτελούνται κυρίως από *Shewanella spp.* και στις δυο περιπτώσεις (Gram et al. 1987, Jørgensen & Huss 1998, Dalgaard et al. 1993, Tryfinopoulou et al. 2007, Parlapani et al. 2014). Επιπλέον, στην παρούσα μελέτη, ο πληθυσμός των υδροθειούχων (H_2S) βακτηρίων (συμπεριλαμβανομένου και του *Shewanella putrefaciens*) ήταν υψηλότερος από τον



αντίστοιχο των *Pseudomonas spp.*, με τον πληθυσμό να φτάνει τους $7.16 \log_{10} \text{cfu/g}$ και στο πέρας της πειραματικής διαδικασίας. Τέλος, τα βακτήρια *Shewanella putrefaciens* θεωρούνται ως δυναμικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί σε ψυχρά και εύκρατα ύδατα και ανήκουν στα είδη εκείνα τα οποία παράγουν σουλφίδια. Όταν ο αριθμός του πληθυσμού τους υπερβαίνει τους $6.00 \log_{10} \text{cfu/g}$, ποσότητες θείου (S) αρχίζουν να παράγονται και εν τέλει εμφανίζονται οι πρώτες ενδείξεις αλλοίωσης (Gram et al. 1987).

Επιπλέον, έχει αναφερθεί πως τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas spp.* σχετίζονται με την παραγωγή TVB-N ως πρωτεολυτικά ψυχρότροφα που αναπτύσσονται σε αερόβιες συνθήκες στα θαλασσινά, παράγοντας πτητικές ενώσεις αμμωνιακής φύσεως, που προκύπτουν από την απαμίνωση των αμινοξέων και άλλων πρωτεϊνικών ενώσεων (Dainty 1996). Οι Özyurt *et al.* (2009) υποστηρίζουν πως το TVB-N σχετίζεται θετικά με την αλλοίωση των ιχθύων (κουτσομούρα και κάποια είδη μπαρμπουνιού) και αποτελεί έναν καλό δείκτη ποιότητας, ενώ από τους Papadopoulos *et al.* (2003) και Castro *et al.* (2006) θεωρείται αναξιόπιστος δείκτης ποιότητας, διότι δεν παρατηρείται καμιά μεταβολή στις τιμές του πριν τον χρόνο απόρριψης για ιχθύες όπως το λαβράκι το οποίο έχει αποθηκευτεί σε συνθήκες πάγου (0°C).

Η αλλοίωση των καρκινοειδών αρχίζει μετά το θάνατο μόλις το σύστημα άνοσο-απόκρισης των καρκινοειδών οστρακόδερμων αδυνατεί να λειτουργήσει. Ως εκ τούτου, για τα καβούρια και τους αστακούς, τα βακτήρια αλλοίωσης έχουν μικρή σημασία, διότι συνήθως υποβάλλονται σε επεξεργασία ζωντανά, π.χ. βράσιμο καρκινοειδών για να σκοτωθούν και έπειτα μαγείρεμα του κρέατος τους πριν την κατανάλωση. Ωστόσο, με την αυξανόμενη ζήτηση για έτοιμα μαγειρεμένα προϊόντα καρκινοειδών, υπάρχει μια αναπτυσσόμενη αγορά με νωπές ουρές αστακών ή μαγειρεμένη καβουρόψιχα με κέλυφος καβουριού. Εάν αυτά τα προϊόντα υπόκεινται σε λανθασμένη θερμοκρασία και αποθήκευση πάνω από τη συνιστώμενη θερμοκρασία, αυτό παρουσιάζει πιο ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη τόσο αλλοιωγόνων όσο και παθογόνων βακτηρίων (Adams *et al.* 1995, Oscar *et al.* 2008).

Αντίθετα, οι γαρίδες πεθαίνουν αμέσως μετά τη σύλληψη, έτσι η αλλοίωση μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια της αποβίβασης και της μεταφοράς στο εργοστάσιο επεξεργασίας. Όπως και με τους ιχθύες, είναι σημαντικό οι γαρίδες να χειρίζονται και να καταψύχονται σωστά ώστε να κρατηθούν όσο το δυνατόν περισσότερο φρέσκιες και



σε αμόλυνη κατάσταση. Η μικροβιακή χλωρίδα των καρκινοειδών από εύκρατα νερά διαφέρει από εκείνη των καρκινοειδών από τροπικά νερά. Βακτήρια αλλοίωσης που σχετίζονται με οστρακόδερμα εύκρατου περιβάλλοντος περιλαμβάνουν τα *Pseudomonas spp.*, τα *Shewanella putrefaciens* και μέλη της ομάδας *Acinetobacter-Moraxella*. Σε αντίθεση, τα γένη που σχετίζονται με τροπικά είδη περιλαμβάνουν τα *Enterobacteriaceae*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Alcaligenes*, κορυνοβακτήρια, *Micrococcus spp.* και *Achromobacter spp.* Ως εκ τούτου, από τη στιγμή της σύλληψης και επεξεργασίας, η βακτηριακή μόλυνση και αλλοίωση είναι αναπόφευκτες. Ο ρυθμός αλλοίωσης θα είναι μια συνάρτηση του χρόνου και της θερμοκρασίας, είτε υπάρχει GHP, και θα εξαρτάται από το εάν τα καρκινοειδή συλλέχθηκαν από δροσερά ή θερμότερα νερά (Bozianis *et al.* 2011).

Όπως και με τους ιχθύες, υπάρχουν ενδείξεις ότι η διάρκεια ζωής των τροπικών οστρακόδερμων είναι μεγαλύτερη από εκείνη των ειδών εύκρατων υδάτων εάν αποθηκευθούν σωστά σε πάγο, για παράδειγμα, έως και 16 ημέρες για τα τροπικά είδη σε σύγκριση με 8-10 ημέρες για εύκρατα είδη (Cann 1976). Τα ψυχρότροφα βακτήρια που είναι υπεύθυνα για την πρόκληση φθοράς δεν υπάρχουν στα ολόφρεσκα καρκινοειδή από τροπικά νερά σε τόσο υψηλά επίπεδα, όπως βρίσκονται σε καρκινοειδή από τα πιο δροσερά ύδατα και, ως εκ τούτου, ο ρυθμός επιδείνωσης των καρκινοειδών από αυτούς τους οργανισμούς μειώνεται, ιδιαίτερα αν αποθηκεύονται σε πάγο ή παγωμένο νερό (Ashie *et al.* 1996).

Όσο αναφορά τους παθογόνους μικροοργανισμούς στα καρκινοειδή, το ποσοστό των κρουσμάτων διαφέρει σημαντικά σε όλο τον κόσμο, από περίπου 10% έως 30% του συνόλου των τροφιμογενών επιδημικών εκρήξεων, και φαίνεται να είναι υψηλότερο στην νοτιο-ανατολική Ασία, αν και λίγες πληροφορίες είναι διαθέσιμες για την Αφρική. Οι διαφορές αναμφίβολα σχετίζονται με παραλλαγές στην αναλογία της διατροφής, τον τρόπο με τον οποίο μαγειρεύτηκαν, την θερμοκρασία του φυσικού τους περιβάλλοντος και το τοπικό επίπεδο της δημόσιας υγείας. Το διεθνές εμπόριο είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας καθώς, ένα σημαντικό ποσοστό των μολύνσεων *Vibrio* στην Ευρώπη οφείλονται σε άτομα που έχουν μολυνθεί στο εξωτερικό. Η παγκόσμια κλιματική αλλαγή μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση σε ορισμένους τύπους παθογόνων των καρκινοειδών. Ωστόσο, για ορισμένα είδη οι νέες τεχνολογίες επεξεργασίας σε συμφωνία με την ορθή υγιεινή πρακτική, προσφέρουν τη δυνατότητα



για την παροχή ασφαλέστερων προϊόντων, εφ' όσον το αποτέλεσμα είναι αποδεκτό από τους καταναλωτές.

Οι συμβατικές μέθοδοι ανίχνευσης, ταυτοποίησης και απαρίθμησης, έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για ορισμένα παθογόνα βακτήρια σε καρκινοειδή αλλά λιγότερο επιτυχώς για άλλα, όπως τα *vibrios*, όπου δεν επιτευχθεί επαρκώς η διάκριση των παθογόνων από τα μη παθογόνα. Νεότερες μοριακές μέθοδοι έχουν τη δυνατότητα να ξεπερασουν ορισμένα από τα μειονεκτήματα και να συμβάλουν έτσι στην ασφάλεστερη κατάσταση των προϊόντων. Από αυτή την άποψη, οι μοριακές μέθοδοι που έχουν ερευνηθεί στο πλαίσιο του έργου SEAFOOD plus συμβάλλουν στη δημιουργία καλύτερων πρότυπων μεθόδων υπό την αιγίδα του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO).



5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1 Έντυπη

- ❖ **Adams, M.R and Moss, M.O. (1995)** Microbiology of primary food commodities. *In Food Microbiology*. Royal Society of Chemistry, 103-135
- ❖ **Adesiyun, A. A. (1993)**. Prevalence of *Listeria* spp. *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. and toxigenic *Escherichia coli* on meat and seafoods in Trinidad. *Food Microbiology*, 10, 395–403.
- ❖ **Akpan, E. J. 1997**. Proximate composition of edible blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Food Sci. Technol.*, 34, (1), 59-60.
- ❖ **Albalat A., Gornik S., Mullen W., Crozier A., Atkinson R., Coombs G., Neili D. (2011)** Quality changes in chilled Norway lobster (*Nephrops norvegicus*), tail meat and the effects of delayed icing *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1413–1421.
- ❖ **Andrews, L. S., Key, A. M., Martin, R. L., Grodner, R., & Park, D. L. (2002)**. Chlorinedioxide wash of shrimp and crawfish an alternative to aqueous chlorine. *Food Microbiology*, 19, 261–267.
- ❖ **Asai, Y., Kaneko, M., Ohtsuka, K., Morita, Y., Kaneko, S., Noda, H., et al. (2008)**. Salmonella prevalence in seafood imported into Japan. *Journal of Food Protection*, 71(7), 1460–1464
- ❖ **Ashie I. N. A., Smith J. P., Simpson B. K. 1996** Spoilage and self-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36 (1–2): 87– 121.
- ❖ **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

- ❖ **Baird-Parker A. C. and Davenport E., 1965**, *J. Appl. Bacteriol.*, 28:390.
- ❖ **Bell, M.C., Redant, F. & Tuck, I. (2006)**. *Nephrops* Species. In: *Lobsters. Biology, Management, Aquaculture and Fisheries* (edited by B. Phillips). Pp. 412–461. UK:
- ❖ **Blackwell Publishing. Boskou, G. & Debevere, J. (1997)**. Reduction of trimethylamine oxide by *Shewanella* spp. Under modified atmospheres in vitro. *Food Microbiology*, 14, 543–553.
- ❖ **Bonzek C., Fegley L., Hoenig J., Miller T., O'Reilly R., Orner D., Sharov A., Terceiro M., and Vaughan D. 2005**. Chesapeake Bay Blue Crab Advisory Report. Chesapeake Bay Stock Assessment Committee.
- ❖ **Boziaris, I. S. and Parlapani, F. F. 2014**. Microbiological examination of seafood. In: *Seafood Processing. Technology, Quality & Safety*. Edited by Boziaris I.S. IFST Advances in Food Science Series Wiley-Blackwell. 387-418
- ❖ **Boziaris, I., Kordila, A., Neofitou, C. 2011**. Microbial spoilage analysis and its effect on chemical changes and shelf-life of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in air at various temperatures. *International Journal of Food Science and Technology* 46. 887-895.
- ❖ **Brylawski, B.J., Miller, T.J., 2006**. Temperature-dependent growth of the blue crab (*Callinectes sapidus*): a molt process approach. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic sciences*, 63: 1298-1308.



- ❖ **Bunnell, D.B, T.J. Miller., 2005.**An individual-based modeling approach to spawning-potential pre-recruit models: an application to blue crab (*Callinectes sapidus*) in Chesapeake Bay. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62: 2560–2572.
- ❖ **Cann D.C. (1976)** Bacteriology of shellfish with reference to international trade, in *Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish*. [ed.] Ministry of Overseas Development. Tropical Products Institute, 377-94.
- ❖ **Castro, P., Padron, J.C.P., Cansino, M.J.C., Velazquez, E.S. & De Larriva, R.M. (2006).** Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice. *Food Control*, 17, 245–248.
- ❖ **Çelik, M., et al.(2004)** Fatty acid composition of the blue crab (*Callinectes sapidus* Rathbun, 1896) in the North Eastern Mediterranean. *Food Chem.* 2004, 88:271-273.
- ❖ **Chinivasagam, H.N., Bremner, H.A., Thrower, S.J. & Nottingham, S.M. (1996).** Spoilage patterns of five different species of Australian prawns: deterioration is influenced by environment of capture and mode of storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 5, 25– 50.
- ❖ **Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N. & Kontominas, M.G. (2004).** Microbial, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*, 21, 157– 165.
- ❖ **Churchill, E.P., Jr., 1919.** Life history of the blue crab. *Bulletin of the Bureau of Fisheries*, 36: 95-128



- ❖ **Dalgaard P. 1995** Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology*, 26: 319-333.
- ❖ **Daniels, N. A., L. C. MacKinnon, R. Bishop, S. Altekruuse, B. Ray, R. M. Hammond, S. Thompson, S. Wilson, N. H. Bean, P. M. Griffin, and L. Slutsker. 2000.** *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998, 181,1661-1666.
- ❖ **Dechet, A. M., P. A. Yu, N. Koram, and J. Painter. 2008.** Nonfoodborne *Vibrio* infections: an important cause of morbidity and mortality in the United States, 1997-2006. *Clin. Infect. Dis.* 46:970-976.
- ❖ **Drosinos, E.H. & Nychas, G.-J.E. (1996).** *Brochothrix thermosphacta*, a dominant microorganism in mediterranean fresh fish (*Sparus aurata*) stored under modified atmosphere. *Italian Journal of Food Science*, 4, 323–329.
- ❖ **Elwood, R.W., Barr, S. & Patterson, L. (2009).** Pain and stress in crustaceans? *Applied Animal Behaviour Science*, 118, 128– 136.
- ❖ **Enzeross, R., Enzeross, L., & Bingel, F., 1997.** Occurrence of the blue crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Crustacea, Brachyura) on the Turkish Mediterranean and the adjacent Aegean coast and its size distribution in the bay of Iskenderun. *Turkish Journal of Zoology*, 21: 113-1222.
- ❖ **Ferreira, L.S., D’Incao, F., 2008.** Growth of *Callinectes sapidus* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) in the estuary of the Patos Lagoon, RS, Brazil. *Iheringia Serie Zoologia*, 98: 70-77.
- ❖ **Farragut, R. N.1965.,** Proximate composition of Chesapeake Bay blue crab (*Callinectes sapidus*). *J. Food Sci.* 30, 538-544



- ❖ **Gennari, M., and F. Dragotto 1992.** A study of the incidence of different fluorescent *Pseudomonas* species and biovars in the microflora of fresh and spoiled meat and fish, raw milk, cheese, soil and water. *J. Appl. Bacteriol.* 72:281–288.
- ❖ **Gill C. D., Molin G. 1991.** Modified atmospheres and vacuum packaging. In: Russell N.S., Gould G.W. (eds.) *Food preservatives*. Blackie and Son Limited, Glasgow, London, pp. 172-199.
- ❖ **Gökođlu, N. and Yerlikaya, P. (2003)** Determination of proximate composition and mineral contents of blue crab (*Callinectes sapidus*) and swim crab (*Portunus pelagicus*) caught off the Gulf of Antalya. *Food Chemistry*, 80:495-498.
- ❖ **Gram L., Huss H.H. 1996.** Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 121-137
- ❖ **Gram L., Dalgaard P. 2002.** Fish spoilage bacteria: Problems and solutions. *Current Opinion in Microbiology*, 13: 262-266
- ❖ **Grigorakis K., Alexis M., 2005,** Effects of fasting on the meat quality and fat deposition of commercial-size farmed gilt-head bream (*Sparus aurata* L.) fed different dietary regimes., *Aquaculture Nutrition*, 11(5): 341-344
- ❖ **Grodner, R.M. and Andrews, L.S. 1991.** Irradiation, Ch. 17 in *Microbiology of Marine Food Products*, D.R.Ward and C. Hackney (Ed.), p. 429–440.
- ❖ **Harper W.J. 2001.** The strengths and weaknesses of the electronic nose. *Adv. Exp. Med. Biol.* 488: 59-71.
- ❖ **Hlady, W. G., and K. C. Klontz. 1995.** The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. 173, 1176-1183



- ❖ **Hung-Hung Sung, Shu-Fen Hwang, Fu-Ming Tasi, 2000.** Responses of Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) to Challenge by Two Strains of *Aeromonas* spp. *Journal of Invertebrate Pathology* 76, 278–284
- ❖ **Holthuis, L.B., 1961.** Report on a collection of Crustacea Decapoda and Stomatopoda from Turkey and the Balkans. *Zoologische Verhandelingen, Leiden*, 47: 1-67.
- ❖ **Hugenholtz P., Goebel B.M., Pace N.R. 1998.** Impact of culture independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*, 180: 4765-4774.
- ❖ **Huis in't Veld J. H. J. 1996.** Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 1-18.
- ❖ **Ingham, S.C. and Moody, M.W. 1990.** Enumeration of aerobic plate counts and *E. coli* during blue crab processing by standard methods, Petri-film, and Redigel. *J. Food Prot. Vol. 53(5): 423–424.*
- ❖ **Jensen, O.P., 2004.** Spatial ecology of blue crab (*Callinectes sapidus*) in Chesapeake Bay. University of Maryland, 166 pp
- ❖ **Jorgensen B.R., Huss H.H. 1989.** Growth and activity of *Shewanella putrefaciens* isolated from spoiling fish. *International Journal of Food Microbiology*, 9: 51–62.
- ❖ **Lopez, A.; Williams, H. L. Ward, D. R. 1981,** Essential elements in raw, boiled, steamed, and pasteurized crabmeat. *J. Food Sci.*, 46, 1128-1131
- ❖ **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 and Agriculture*, 86, 1552– 1558.
- ❖ **Martinez-Alvarez, O., Lopez-Caballero, M.E., Montero, P. & GomezGuillen, 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.
 - ❖ **Maulvault A.L. , Anacleto P. , Lourenço H.M. , Carvalho M.L., Nunes M. , Marques A. (2012).** Nutritional quality and safety of cooked edible crab (*Cancer pagurus*). *Food Chemistry* 133 , 77–283.
 - ❖ **Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe.** 1999. Food-related illness and death in the United States. 5, 607-625.
 - ❖ **Mendes, R., Huidobro, A. & Lopez-Caballero, M.E. (2002).** Indole levels in deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) from the Portuguese coast. Effect of temperature abuse. *European Food Research Technology*, 214, 125– 130.
 - ❖ **Mente, E., Karapanagiotidis, I.T., Logothetis, P. (2009).** The reproductive cycle of Norway lobster. *Journal of Zoology*, 278, 324– 332.
 - ❖ **Mohamed Hatha A.A, Lakshmanaperumalsamy P. (1997).** Prevalence of Salmonella in fish and crustaceans from markets in Coimbatore, South India *Food Microbiology*, 14, 111–116.
 - ❖ **Neil D. (2012).** Ensuring crustacean product quality in the post-harvest phase, *Journal of Invertebrate Pathology* 110 267–275



- ❖ **Nilsson L., Gram L., Huss H.H. (1999)** Growth control of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon using a competitive lactic acid bacteria flora. *Journal of Food Protection*, 62: 336-342.
- ❖ **Nilsson L., Ng Y.Y., Christiansen J.N., Jorgensen B.L., Grotnum D., Gram L. (2004)** The contribution of bacteriocin to inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium piscicola* strains in cold-smoked salmon systems. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 133-143.
- ❖ **Oliver, J. D. 2005.** Wound infections caused by *Vibrio vulnificus* and other marine bacteria. *Epidemiol. Infect.* 133:383-391
- ❖ **Pancucci-Papadopoulou A., Kevrekidis, K., Corsini, M. & Simbora, N., 2005.** Changes in species: invasion of exotic species. Pp. 336-342. In: 'SoHelME. State of the Hellenic marine environment'. E. Papathanassiou & A. Zenetos (Eds). HCMR Publications, Athens
- ❖ **Parlapani F.F., Meziti A., Kormas Ar.K. & I.S. Boziaris (2013).** Indigenous and spoilage microbiota of farmed sea bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis. *Food Microbiology* 33, 85-89.
- ❖ **Parlapani F.F., Malouchos A., Haroutounian S.A. & I.S. Boziaris (2014).** Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of sea bream fillets under various conditions. *International Journal of Food Microbiology* 189, 153–163.
- ❖ **Parlapani F.F., Kormas K.Ar. & I.S. Boziaris (2015a).** Microbiological changes, shelf life and identification of initial and spoilage microbiota of sea bream fillets stored under various conditions using 16S rRNA gene analysis. '*Journal of the Science of Food and Agriculture*' DOI 10.1002/jsfa.6957
- ❖ **Parlapani F.F., Haroutounian S.A., Nychas G-J.E & I.S. Boziaris (2015b).** Microbiological spoilage and volatiles production of gutted European sea bass



- stored under air and commercial modified atmosphere package at 2°C. *Food Microbiology* 50, 44-53.
- ❖ **Parlapani F.F., Verdos G.I., Haroutounian S.A. & I.S. Boziaris (2015c).**The dynamics of *Pseudomonas* and volatiles during the spoilage of gutted sea bream stored at 2°C. *Food Control* 55, 257-265.
 - ❖ **Parlapani F.F., I.S Boziaris (2016)** Monitoring of spoilage and determination of microbial communities based on 16S rRNA gene sequence analysis of whole sea bream stored at various temperatures. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 553–559
 - ❖ **Reilly, P.J.A. (1992)** Salmonella and *Vibrio cholerae* in brackishwater cultured tropical prawns. *International Journal of Food Microbiology*, 16, 293-301.

 - ❖ **Ridgway, I.D., Taylor, A.C., Atkinson, R.J.A. et al. (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.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.
 - ❖ **Roth, B. & Øines, S. (2010).** Stunning and killing of edible crabs. *Animal Welfare*, 19, 287–294
 - ❖ **Sarnoski P., O’Keefe S., Jahncke M, Mallikarjuna P., Flick G.(2010).**Analysis of crab meat volatiles as possible spoilage indicators for blue crab (*Callinectes sapidus*) meat by gas chromatography–mass spectrometry, *Food Chemistry* 122 930–935
 - ❖ **Serbetis, C., 1959.** Un nouveau crustace comestible en Mer Egge *Callinectes sapidus* Rathbun (Decapoda Brach.). *Proceedings General Fisheries Council Mediterranean*, 5: 505-507



- ❖ **Smith, R. Nickelson, R.; Martin, R.; Finne, G. 1984.**Bacteriology of indole production in shrimp homogenates held at different temperatures. *J. Food Prot.* 47, 861.
- ❖ **Spink, A.; Goodrum, A.; Veciana-Nogues, M. T.; Albala-Hurtado, M. S.; Izquierdo Pulido, M. 1996.**Vidal-Carou, M. C., Validation of a gas-chromatographic method for volatile amine determination in fish samples. *Food Chem.*, 57, 569-573..
- ❖ **Söderhäll, K. & Cerenius, L. (1992).** Crustacean immunity. *Annual Review of Fish Diseases* 2, 3–23.
- ❖ **Suyama, M 1987. Konosu, A.,** Postmortem changes of fish and shellfish, in *Marine Food Science (Suison Shokuhin-Gaku)*. Koseisha, Koseikaku: Tokyo,
- ❖ **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.
- ❖ **Tsigarida, E., Boziaris, I.S. & Nychas, G.-J.E. (2003).**Bacterial Synergism or Antagonism in a Gel Cassette System. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 7204–7209.
- ❖ **Vyncke, W., Lutén, J., Bruñner, K. & Moermans, R. (1987).** Determination of total volatile bases in fish: a collaborative study by the West European Fish Technologists' Association (WEFTA). *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und –Forschung A*, 184, 110–114
- ❖ **Wan Norhana M.N. , Susan E. Poole , Hilton C. Deeth , Gary A. Dykes (2010).**Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: A review, *Food Control* 21, 343–361



- ❖ **Ward D.M., Weller R., Bateson M. M. 1990** 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature (London)*, 345: 63–65.
- ❖ **Yun-Fang Qian, Jing Xie , Sheng-Ping Yang, Wen-Hui Wu, Qing Xiong, Zhi-Li Gao(2014)**In vivo study of spoilage bacteria on polyphenoloxidase activity and melanosis of modified atmosphere packaged Pacific whitem shrimp food. *Food Chemistry* 155 126–131.
- ❖ **Κεβρεκίδης, Κ., 2010.** *Callinectes sapidus* (Decapoda, Brachyura): ένα αλλόθρονο είδος στον Θερμαϊκό κόλπο. *Αλιευτικά Νέα*, 340: 44-49

5.2 Ηλεκτρονική

- ❖ <http://kpe-kastor.kas.sch.gr> (http 1)
- ❖ <http://www.vims.edu/> (http 2)
- ❖ <http://www.ciesm.org/atlas> (http 3)
- ❖ <http://www.etanal.gr> (http 4)
- ❖ <http://www.iatronet.gr> (http 5)
- ❖ <http://www.fao.org> (http 6)
- ❖ <http://www.google.com> (http 7)