



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
Π.Δ.Ε.

Εμπορικός χρόνος ζωής, μικροβιολογικές, χημικές και
οργανοληπτικές αλλαγές κατά τη συντήρηση της απεψυγμένης
σουπιάς *Sepia officinalis* στους 2°C

Shelf-life, microbiological, chemical and sensory changes during the storage of
cuttlefish *Sepia officinalis* at 2 °C



Χρήστος Ντάβαρος

ΒΟΛΟΣ, 2018



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 (Δρ.)**, Καθηγητής, Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπονδύλων και άμεση - έμμεση χρηστικότητα τους, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους που ήταν κοντά μου, για την συμπαράσταση και την δύναμη που μου μετέφεραν σε όλη τη διάρκεια υλοποίησης της.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Επιβλέποντα της εργασίας, κ. Ιωάννη Μποζιάρη, ο οποίος βρισκόταν δίπλα μου σε όλη τη διάρκεια της εργασίας αυτής. Καθώς και τον κ. Δημήτριο Βαφείδη όντας μέλος της εξεταστικής επιτροπής μου, για τις χρήσιμες συμβουλές του και την καθοδήγησή του, καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη για την πολύτιμη βοήθεια της, για την διεκπεραίωση της εργασίας τόσο στο πειραματικό μέρος όσο και για την συγγραφή της.

Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ στον συμφοιτητή, συνάδελφο αλλά και φίλο μου Τέρπο Ιωάννη για την άριστη συνεργασία και συμπαράσταση κατά την διάρκεια των πειραμάτων μας.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένεια μου και την φίλη μου Σιώρου Αποστολία, για την συνεχή στήριξη και κατανόηση που μου παρείχε καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.



Περιεχόμενα

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1	Γενικά στοιχεία και στοιχεία βιολογίας κεφαλόποδων.....	9
1.2	Συστηματική κατάταξη της κλάσης των κεφαλόποδων ανάλογα με την ύπαρξη και την μορφή του κελύφους (Barnes R. D.):	10
1.3	Στοιχεία βιολογίας της σουπιάς (<i>Sepia officinalis</i>).....	10
1.4	Γεωγραφική εξάπλωση σουπιάς <i>Sepia officinalis</i>	12
1.5	Διατροφική αξία σουπιάς	13
1.6	Μικροβιακή αλλοίωση τροφίμων	14
1.7	Μικροβιακή αλλοίωση κεφαλόποδων.....	14
1.8	Μικροβιακή αλλοίωση σουπιάς.....	15
1.9	Χημικοί δείκτες αλλοίωσης	16
1.10	Ειδικοί αλλοιωγόνι μικροοργανισμοί (EAM)	16
1.11	Σκοπός της εργασίας	17
2	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	18
2.1	Γενικός πειραματικός σχεδιασμός	18
2.2	Προέλευση δειγμάτων	18
2.3	Ανάλυση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και προσδιορισμός της διάρκειας συντήρησης.....	18
2.4	Μικροβιολογικά υλικά	19
2.5	Μικροβιολογική Ανάλυση	19
2.6	Χημική ανάλυση	20
2.6.1	Αλλαγή του pH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των κεφαλοπόδων 20	
2.6.2	Προσδιορισμός Ολικού Πτητικού Αζώτου TVB-N και Τριμεθυλαμίνης TMA-N 20	
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	21
3.1	Οργανοληπτικές αλλαγές και εμπορικός χρόνος ζωής των κεφαλόποδων ...	21
3.2	Μικροβιολογική ανάλυση	22
3.3	Χημική Ανάλυση.....	22



3.3.1	Αλλαγές pH.....	22
3.3.2	Προσδιορισμός του Ολικού Πτητικού Βασικού Αζώτου (TVB-N)	23
3.3.3	Προσδιορισμός του αζώτου της τριμεθυλαμίνης.....	24
4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	25
5	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	28
6	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	29



Περίληψη

Σκοπός της παρούσας Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας ήταν ο προσδιορισμός των οργανοληπτικών, μικροβιολογικών και χημικών μεταβολών με σκοπό την εκτίμηση της ποιότητας και του εμπορικού χρόνου ζωής των σουπιών αποθηκευμένων στους 2°C. Κατεψυγμένες σουπιές του είδους *Sepia officinalis* ελήφθησαν από ελληνική επιχείρηση και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Υγιεινής και Τεχνολογίας Αλιευτικών Προϊόντων και Τροφίμων (Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας) τον Αύγουστο του 2015. Τα κατεψυγμένα κεφαλόποδα τοποθετήθηκαν σε ψυγείο στους 4°C για να ξεπαγώσουν και έπειτα αποθηκεύθηκαν σε επωαστικούς θαλάμους στους 2°C για 8 ημέρες. Δείγματα σουπιών λαμβάνονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα (κάθε 2 ημέρες) για οργανοληπτικές, μικροβιολογικές και χημικές αναλύσεις (Ολικό Βασικό Πτητικό Άζωτο, Άζωτο της Τριμεθυλαμίνης).

Η οργανοληπτική αξιολόγηση έδειξε ότι ο εμπορικός χρόνος ζωής των σουπιών ήταν πέντε (5) ημέρες (120 h). Η αρχική τιμή του pH ήταν 6.5 και παρουσίασε ουσιαστική αύξηση από την ημέρα απόρριψης και έπειτα, με την τιμή να φτάνει τα 6.67, ενώ στο τέλος της αποθήκευσης άγγιξε τα 7.22. Οι πληθυσμός του αλλοιογόνου μικροοργανισμού, *Pseudomonas* spp. που ανιχνεύτηκε ήταν αρχικά 2.78 log cfu/g ενώ στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής έφθασε στα επίπεδα των 4.85 (day 5). Οι πληθυσμοί των υδροθειούχων (H₂S) βακτηρίων, οξυγαλακτικών βακτηρίων, *Enterobacteriaceae* και *B. thermosphacta* μικροοργανισμών που εξετάστηκαν παρέμειναν κάτω από το όριο ανίχνευσης καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα ξεπέρασε τους 6.64 log₁₀ cfu/g μετά από πέντε (5) ημέρες (120 h) αποθήκευσης, ενώ τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) βρίσκονταν κάτω του ορίου ανίχνευσης (1 log₁₀ cfu/g) καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης. Για τους χημικούς δείκτες αλλοίωσης, το TVB-N παρουσίασε ραγδαία αύξηση, καταγράφοντας τιμές 34.26 mg N/100g σάρκας τη 5^η ημέρα αποθήκευσης (τέλος εμπορικού χρόνου ζωής). Παρόμοιο προφίλ αύξησης παρουσίασε και το TMA-N καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης, φθάνοντας τα επίπεδα των 11.65mg



N/100g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής και το $20,28 \pm 1,16$ mg N/100g στο τέλος του πειράματος.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, οι σουπιές χαρακτηρίστηκαν οργανοληπτικά μη αποδεκτές (5^η ημέρα) όταν α) τα *Pseudomonas* spp. βακτήρια αποτέλεσαν τον κύριο σε πληθυσμό αλλοιωγόνο μικροοργανισμό, χωρίς να ξεπεράσουν το επίπεδο των 5- 6 log cfu/g, β) το pH έφτασε στην τιμή 7,16 και γ) οι συγκεντρώσεις του TVB-N και TMA-N έφτασαν στα επίπεδα των 34.26 mg N/100g και 11.65mg N/100g.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, φαίνεται ότι το TVB-N και TMA-N θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες αλλοίωσης των σουπιών.

Λέξεις-κλειδιά: Σουπιά (*Sepia officinalis*), Ειδικοί Αλλοιωγόνοι Μικροοργανισμοί (EAM), Εμπορικός χρόνος ζωής, Ολικό Βασικό Πτητικό Άζωτο (TVB-N), Άζωτο της Τριμεθουλαμίνης (TMA-N)



ABSTRACT

The aim of this work is to determine the microbiological changes and shelf-life of cuttlefishes (*Sepia officinalis*) stored at 2°C, and carry out an investigation of Total Volatile Basic Nitrogen and Trimethylamine Nitrogen (TVB-N and TMA-N) profiles, in order to reveal their potential to be used as Chemical Spoilage Indices (CSIs) of cuttlefishes spoilage/freshness. This study will give valuable information regarding the spoilage of cuttlefishes which is an important product of seafood market.

Shelf-life of cuttlefishes, as determined by the overall sensory scores, was 5 days. The pH value showed a considerable increase after the end of shelf-life (day 5), reaching the level of 7.22 at the end of storage period. *Pseudomonas* spp. were the dominant bacteria and reached populations not higher than 6 log₁₀ cfu/g. The populations of H₂S bacteria, lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae* και *B. thermosphacta* populations remained below the detection limit of 1 log₁₀ cfu/g throughout the experiment. Aerobic Plate Counts reached the level of 6.64 log₁₀ cfu/g at the end of shelf life of cuttlefishes (day 5). TVB-N and TMA-N values increased substantially from the middle of storage, reaching a value of 34.26 mg N/100g και 11.65mg N/100g at the end of shelf life (day 6).

Concluding, the level of TVB-N and TMA-N increased during storage, suggesting their potential as CSIs of cuttlefish *Sepia officinalis*.

Keywords: *Cuttlefish (Sepia officinalis), Specific Spoilage Organisms (SSOs), Shelf-life, Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N), Trimethylamine Nitrogen (TMA-N).*



1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά στοιχεία και στοιχεία βιολογίας κεφαλόποδων

Τα κεφαλόποδα (κλάση *Cephalopoda*) είναι μαλάκια σαρκοφάγα και θεωρούνται κυνηγοί. Διαθέτουν άκρα που χρησιμεύουν στη μετακίνηση, αλλά και στη σύλληψη τροφής και στους χειρισμούς. Σήμερα το μέγεθος των περισσότερων κεφαλόποδων κυμαίνεται από λίγα εκατοστά έως μερικά μέτρα, με θεαματικότερη εξαίρεση το γιγαντιαίο καλαμάρι *architeuthis* που φτάνει σε μήκος τα 15. Τα περισσότερα μαλάκια έχουν ένα είδος ποδιού και σε πολλά είδη αυτός ο μυς εξασφαλίζει και την κίνηση. Είναι ένα όργανο χωρίς οστά που βοηθά στη στήριξη, αλλά μπορεί να επεκτείνεται, να έρπει και να συστρέφεται με μεγάλη δύναμη ροπής, ενώ συγχρόνως συγκρατεί και ολόκληρο το ζώο. Άλλα μαλάκια όπως το κοχύλι του είδους *Polinices lewisii* έχουν μετατρέψει αυτό το εργαλείο σε θανατηφόρο όπλο, διογκώνοντάς το σε μήκος τετραπλάσιο του κελύφους ώστε να συλλαμβάνουν και να τρώνε άλλα μαλάκια. ([http1](http://))

Έχουν το στόμα στο κέντρο του σώματός τους και ανάμεσα στις εκφύσεις των πλοκαμιών. Αυτό μοιάζει με κάπως στρογγυλό ράμφος πουλιού και έχει σαγόνια από χιτίνη, μια ουσία που μοιάζει με την κερατίνη, ώστε το κεφαλόποδο να μπορεί να μασήσει την τροφή του. Τα βράγχιά τους περιβάλλονται από έναν προστατευτικό μανδύα. Μέσα σε αυτό τον μανδύα (μανδυακή κοιλότητα) βρίσκεται και ο σωλήνας (χοάνη ή υπόνομος) από τον οποίο, με απότομες συσπάσεις το κεφαλόποδο μπορεί να εκτοξεύσει δυναμικά νερό και να προωθηθεί "όπισθεν" με ταχύτητα, ώστε είτε να ξεφύγει από έναν εχθρό ή να συλλάβει ένα θήραμα. Τα περισσότερα κεφαλόποδα διαθέτουν και μελανοφόρο σάκο, ώστε να αποδεσμεύουν μελάνη και να θολώνουν τα νερά, για να διαφεύγουν από τους εχθρούς τους. Τα πλοκάμια των κεφαλόποδων φέρουν απομυζητικούς μηχανισμούς (βεντούζες). Ορισμένα από αυτά διαθέτουν επίσης νύχια ή άγκιστρα. Ο αριθμός των πλοκαμιών διαφέρει από είδος σε είδος: το χταπόδι έχει 8, η σουπιά και το καλαμάρι 10, αλλά ο ναυτίλος 38. Τα κεφαλόποδα διαθέτουν το πιο ανεπτυγμένο νευρικό σύστημα από όλα τα ασπόνδυλα. Διαθέτουν εγκέφαλο και επίσης σχετικά καλή όραση, με εξαίρεση τον ναυτίλο, που για την επιβίωσή του στηρίζεται πιθανόν στην όσφρηση. Τα κεφαλόποδα επίσης παρουσιάζουν αχρωματοψία. Εντούτοις, το μάτι τους δεν παρουσιάζει τυφλό σημείο



ή σκότωμα, χαρακτηριστικό που θεωρείται από κάποιους ατέλεια του ματιού των σπονδυλωτών. Τέλος, τα κεφαλόποδα είναι τα μόνα μαλάκια με κλειστό κυκλοφορικό σύστημα. (FAO 2005)

1.2 Συστηματική κατάταξης της κλάσης των κεφαλόποδων ανάλογα με την ύπαρξη και την μορφή του κελύφους (Barnes R. D.):

- **ΦΥΛΟ: Μαλάκια (Mollusca)**

ΚΛΑΣΗ: Κεφαλόποδα (Cephalopoda), Cuvier 1798

I. ΥΠΟΚΛΑΣΗ: Nautiloidea (πλήρη κελύφη)

ΓΕΝΗ: Endoceras, Nautilus

II. ΥΠΟΚΛΑΣΗ: Ammonoidea (δεν υπάρχει ζωντανός αντιπρόσωπος)

ΓΕΝΗ: Ceratites, Scaphites, Pachydiscus

III. ΥΠΟΚΛΑΣΗ: Coleoidea, Bathes 1888(εσωτερικά η ατροφικά κελύφη)

ΤΑΞΗ: Belemnoidea

ΓΕΝΗ: Belemnites, Belemnoteuthis

ΤΑΞΗ: Sepioidea

ΓΕΝΗ: Spirula, Sepia, Idiosepius, Sepiola, Rossia

ΤΑΞΗ: Teuthoidea

- ΥΠΟΤΑΞΗ: Myopsida

ΓΕΝΗ: Loligo, Lolliguneula, Sepioteuthis

- ΥΠΟΤΑΞΗ: Oegopsida

ΓΕΝΗ: Architeuthis, Abralia, abraliopsis, Conatus, Onychoteuthis,

Ctenopteryx, Histioteuthis, Bathyteuthis, Illex, Omnastrephes, Chiroteuthis, Cranchia,

ΤΑΞΗ: Vampyromorpha

ΓΕΝΗ: Vampyroteuthis

ΤΑΞΗ : Octopoda

ΓΕΝΗ: Octopus, Eledone, Eledonella, Vitreledonella, Amphitretus,

Cirroteuthis, Argonauta

1.3 Στοιχεία βιολογίας της σουπιάς (*Sepia officinalis*)

Το μέγεθος τους μπορεί να φτάσει τα 45 cm και το βάρος τους τα 4 kg. Διαθέτουν μεγάλο κεφάλι, με σύνθετους και ευδιάκριτους οφθαλμούς. Επίσης φέρουν



ένα εσωτερικό κέλυφος. Το στόμα περιβάλλεται από 10 βραχίονες (8 βραγχίονες και 2 κεραίες), οι οποίοι στην εσωτερική τους επιφάνεια φέρουν μυζητικές κοτύλες (σύλληψη λείας). Κοντά στη βάση του κεφαλιού υπάρχει ένας σίφωναας ή χοάνη και χρησιμοποιείται για την έξοδο του νερού (η είσοδος πραγματοποιείται από μια σχισμή της μανδουακής κοιλότητας, μεταξύ της βάσης του κεφαλιού και του μανδουακού τοιχώματος, ενώ η έξοδος του νερού από τη σχισμή εμποδίζεται από ένα ειδικό σύστημα με κουμπιά/κομβία και κομβιοδόχες που ενώνουν τη σχισμή με το μανδουακό τοίχωμα) ([http2](#)).

Μανδύας και μανδουακή κοιλότητα. Η μανδουακή κοιλότητα περιλαμβάνει τα βράγχια (ζεύγος βραγχίων). Μέσα στην κοιλότητα βρίσκονται η έδρα και οι πόροι των απεκκριτικών και γεννητικών αγωγών.

Πεπτικό σύστημα. Αποτελείται από τη στοματική συσκευή (2 ισχυρές γνάθους με τη μορφή ράμφους), τον οισοφάγο και τον πεπτικό σωλήνα (στόμαχος και έντερο) . Ο πεπτικός σωλήνας έχει σχήμα U και περιλαμβάνει και το ηπατοπάγκρεας . Μέρος του πεπτικού συστήματος αποτελεί ο μελανηφόρος σάκος (εξειδίκευση του ορθικού αδένα, με απιοειδή μορφή) .

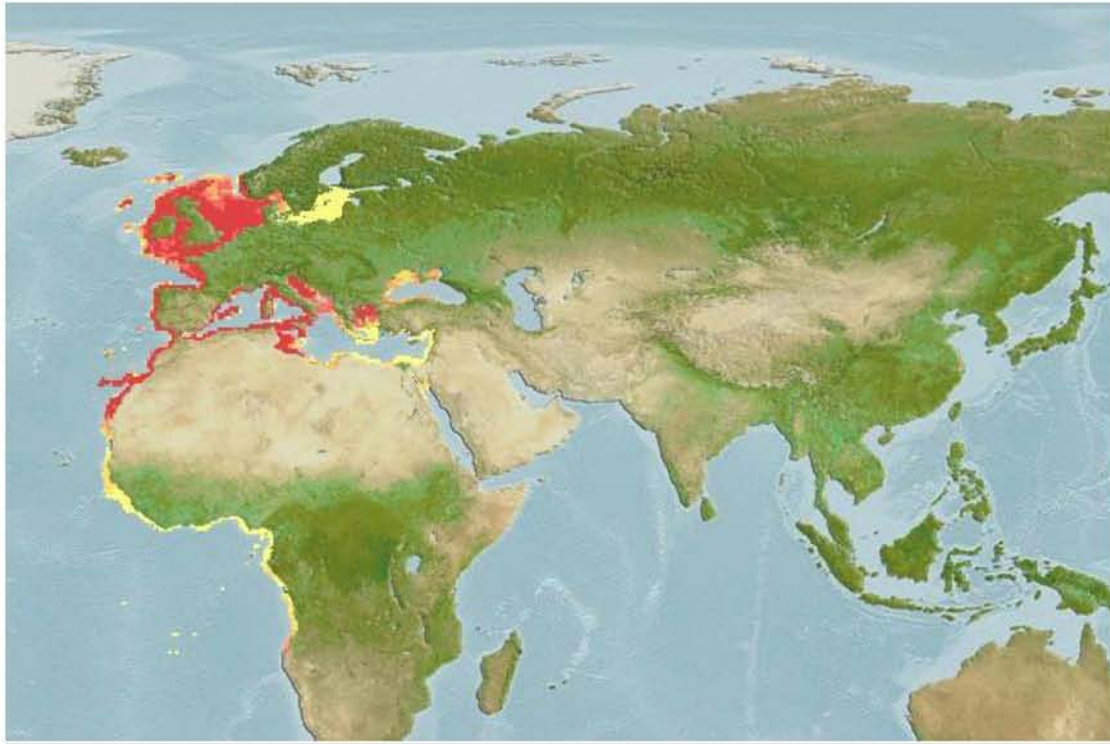
Νευρικό σύστημα και αισθητήρια όργανα. Διαθέτουν ανεπτυγμένο εγκέφαλο με αρκετούς λοβούς μέσα σε χόνδρινη κάψα γύρω από τον οισοφάγο, καθώς και ανεπτυγμένα αισθητήρια όργανα (πολύπλοκοι οφθαλμοί με κερατοειδή χιτώνα, φακό, θαλάμους και αμφιβληστροειδή, αισθητήρια αφής και χημειοαισθητήρια στους βραχίονες). Φέρουν στατοκύστεις για τον έλεγχο του προσανατολισμού οφθαλμών.

Κυκλοφορικό σύστημα. Έχουν Καρδιά με μια κοιλία και 2 κόλπους (κλειστό κυκλοφορικό σύστημα) και επίσης διαθέτουν ένα σύστημα με κλειστό πλέγμα αγγείων και τριχοειδών και ανάπτυξη βοηθητικών ή βραγχιακών καρδιών.

Γεννητικό σύστημα: Είναι γονοχωριστικά είδη με «όργανο εισαγωγής» στα ενήλικα αρσενικά άτομα (διαφοροποιημένος βραχίονας ή εξωκοτύλη) ([http3](#)).



1.4 Γεωγραφική εξάπλωση σουπιάς *Sepia officinalis*



Γεωγραφική εξάπλωση του είδους *Sepia officinalis*.

Είναι ένα βενθικό, είδος που εμφανίζεται κυρίως σε αμμώδη και λασπώδη υποστρώματα από την ακτή σε περίπου βάθος 200 μέτρα, αλλά ο αφθονότερος πληθυσμός βρίσκεται μέχρι και τα 100 μέτρα. Τα μεγαλύτερα άτομα εμφανίζονται στο βαθύτερο μέρος της σειράς (<http4>).

Αυτό το είδος εμφανίζει μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση. Εμφανίζεται στα βορειοανατολικά και ανατολικά του Ατλαντικού Ωκεανού και τη Μεσόγειο εκτεινόμενο από τις νήσους Σέτλαντ και βόρεια της Νορβηγίας και στη βορειοδυτική Αφρική (δηλ. στη Σενεγάλη) μέσω της Μεσογείου (Reid *et al.* 2005). Δεν εμφανίζεται όμως στη θάλασσα της Βαλτικής. Οι σουπιές αναφέρονται συχνά ως «ευρωπαϊκές σουπιές» (*Sepia Officinalis*) διότι βρίσκονται στον Βόρειοανατολικό Ατλαντικό σε όλο το αγγλικό κανάλι και το νότο, στη Μεσόγειο. Όπως προαναφέρθηκε όμως, οι πληθυσμοί έχουν καταγραφεί επίσης κατά μήκος της δυτικής ακτής της Αφρικής, ως και νότια της Νότιας Αφρικής. (Jereb and Roper 2005). Για τον πληθυσμό από τη Σενεγάλη, οι Bakhaykho & Drammeh (1982) αναφέρουν ένα εποχιακό βορρά-νότου και παράκτιο σχέδιο μετανάστευσης. Στη δυτική Μεσόγειο, την πρόιμη άνοιξη, τα μεγάλα άτομα αφήνουν τα βαθιά νερά, όπου



περνούν το χειμώνα, για να μεταναστεύσουν στα πιο ρηχά (τα αρσενικά προηγούνται των θηλυκών για μια εβδομάδα).

1.5 Διατροφική αξία σουπιάς

Τα κεφαλόποδα είναι μια πολύ πλούσια και σημαντική πηγή θαλάσσιας πρωτεΐνης. Οι συλλήψεις των κεφαλόποδων υπολογίζεται να είναι παγκοσμίως 8-12 εκατομμύρια τόνους το χρόνο (Stroud, 1978). Η σουπιά είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά καθώς περιέχει υψηλά ποσοστά πρωτεΐνης, ω-3 λιπαρά, βιταμίνες και μέταλλα. Ειδικότερα αποτελεί σημαντική πηγή Νιασίνης, Φολικού οξέος, Βιταμίνης Α, C και Β12. Επίσης το κρέας της σουπιάς είναι καλή πηγή σιδήρου, χαλκού, ψευδάργυρου, σεληνίου, καλίου, νατρίου, φωσφόρου, ασβεστίου και χρωμίου. Τέλος είναι η πρωτεΐνη και τα αμινοξέα συγκεντρώνονται σε μεγάλα ποσοστά. Το αρνητικό είναι ότι περιέχει υψηλή συγκέντρωση χοληστερόλης (<http5>).

Πίνακας 1 Διατροφικά στοιχεία σουπιάς (Ποσότητα ανα 100 g) (Kallimanis)

ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΚΑΤΑ ΜΕΣΟ ΟΡΟ ανά 100 γρ,

Ενέργεια/Energy	79 Kcal / 331 kj
Λιπαρά / Fat	0,7 g
εκ των οποίων κορεσμένα / Saturated fat	0,1 g
Υδατάνθρακες / Carbonhydrates	0,8 g
εκ των οποίων σάκχαρα / of which sugars	0 g
Πρωτεΐνες / Protein	16,2 g
Αλάτι / Salt	0,9 g
Φώσφορος / Phosphorus	387 mg
Σίδηρος / Iron	6,0 mg
Βιταμίνη Β2 / Vitamin Β2	0,9 mg
Βιταμίνη Β12 / Vitamin Β12	3 μg

Η σουπιά αποτελεί φυσική πηγή φωσφόρου, βιταμίνης Β12, σιδήρου και ριβοφλαβίνης. (<http6>)



1.6 Μικροβιακή αλλοίωση τροφίμων

Τα τρόφιμα είναι πολύπλοκα συστήματα χημικών συστατικών τα οποία είναι απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Είναι απαραίτητα για την δομή του μυϊκού ιστού αλλά και για τον μεταβολισμό ώστε να παρέχονται η ενέργεια για τις διάφορες λειτουργίες του σώματος και να εξασφαλίζεται η ανάπτυξη του οργανισμού του ανθρώπου. Όλα αυτά φυσικά συντελούν και προσφέρουν καλή υγεία στον ανθρώπινο οργανισμό.

Τα τρόφιμα περιέχουν θρεπτικά συστατικά, έτσι λοιπόν θα πρέπει να διασφαλίζεται η θρεπτικότητα και να διατηρείται ως και να βελτιώνεται η θρεπτική αξία αυτών. Αυτό θα επιτευχθεί έχοντας τις μικρότερες δυνατές αλλοιώσεις και μείωση στο ελάχιστο τους παράγοντες 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 στηρίζεται στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτού.

Ένας από τους ορισμούς της ποιότητας τροφίμων σύμφωνα με την ISO (International Organisation of Standardisation) ορίζει την ποιότητα ως το σύνολο των επιθυμητών χαρακτηριστικών που θα πρέπει να ικανοποιεί ένα προϊόν ή μια υπηρεσία με βάση την εκφραζόμενη ή υπονοούμενη ανάγκη. Το Ινστιτούτο Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων (IFST) δίνει την δική του πιο περιγραφική έννοια της ποιότητας τροφίμων σύμφωνα με την οποία ως ποιότητα μπορεί να αναφερθεί ο βαθμός ή το επίπεδο τελειότητας και/ή καταλληλότητας του σκοπού, και/ή συνέπεια της επίτευξης των συγκεκριμένων ιδιοτήτων ενός τροφίμου.

Ως αλλοίωση των τροφίμων θεωρείται η υπονόμηση των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών ώστε το προϊόν να μην είναι αποδεκτό για κατανάλωση (Huis in't Veld 1996).

1.7 Μικροβιακή αλλοίωση κεφαλόποδων

Τα θαλασσινά είναι πιο ευπαθή, σε σύγκριση με άλλα τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως το βοδινό, κ.α. Για το λόγο αυτό απαιτείται πιο προσεκτικός χειρισμός και αποθήκευση σε τέτοιου είδους προϊόντα. (Ashie et al. 1996). Η αλλοίωση των εν λόγω τροφίμων μπορεί να οριστεί επίσης ως οι αλλαγές στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (όψη, 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, οξείδωση, μόλυνση και φυσική βλάβη (Harbell 1988). Ο κύριος όμως παράγοντας υποβάθμισης με επιπτώσεις στη σύσταση, το χρώμα και τη γεύση των θαλασσινών, είναι μικροβιακή αλλοίωση, αυτολυτικές διεργασίες, πολυμερισμός, και βιοχημικές αντιδράσεις. Έπειτα το θάνατο των ψαριών, οι μικροοργανισμοί εισβάλλουν στη σάρκα, με συνέπεια τον μεταβολισμό μεγάλων μορίων όπως (πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και λίπη) που περιέχονται σε αυτή (Liston, 1980). Επίσης το αποτέλεσμα της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών είναι ο σχηματισμός αμινών, σουλφιδίων, αλκοολών, αλδευδών, κετόνων και οργανικών οξέων με δυσάρεστη και αποκρουστική γεύση. Η μικροβιακή αλλοίωση μπορεί επίσης να ανιχνευθεί από αποχρωματισμό του προϊόντος ή από τη δημιουργία βλέννας, ή ακόμη και από την εμφάνιση αποικιών. 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 1965).

Ειδικότερα τα κεφαλόποδα υποβάλλονται στην πολύ γρήγορη πρωτεϊνική υποβάθμιση μετά από το θάνατο τους λόγω των ενδογενών αλλά και βακτηριακών ενζύμων. Τα θρεπτικά τους συστατικά ευνοούν τον πολλαπλασιασμό της αλλοιωγόνου μικροχλωρίδας που οδηγεί στην γρήγορη αποσύνθεση τους (Vaz-Pires and Barbosa, 2004). Δεδομένου ότι τα κεφαλόποδα υπόκεινται σε γρήγορη αλλοίωση λόγω της δράσης των μικροοργανισμών και των ενζύμων που οδηγούν στο σύντομο εμπορικό χρόνο ζωής, υπάρχει ανάγκη για επέκταση της εμπορικής ζωής. Η άμεση και κατάλληλη ψύξη κρατά το προϊόν σε αποδεκτές συνθήκες για λογική περίοδο.

1.8 Μικροβιακή αλλοίωση σουπιάς

Οι σουπιές αλιεύονται κυρίως κατά τη σύλληψη λευκών ψαριών. Δεν ξεσπλαχνίζονται, απλά πλένονται και τοποθετούνται στον πάγο αφού το εμπόριο στην Μεσόγειο τα προτιμά σαν ολόκληρα προϊόντα. Όπως τα περισσότερα κεφαλόποδα, η σουπιά είναι ευαίσθητη σε αλλοιώσεις αν δεν ψύχεται αμέσως μετά την σύλληψη.

Τα θαλασσινά όπως και οι σουπιές έχουν σύντομο εμπορικό χρόνο ζωής επειδή οι μύες τους είναι πλούσιοι σε μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ενώσεις (NPN), όπως το οξίδιο τριμεθυλαμίνης (TMAO), τα νουκλεοτίδια και τα ελεύθερα αμινοξέα (Caglak et al., 2014). Αυτές οι ουσίες χρησιμεύουν ως ένα υπόστρωμα για τα την αύξηση των βακτηρίων, τα οποία είναι η κύρια αιτία αλλοίωσης της σάρκας των νωπών αλιευτικών προϊόντων (Albenese et al., 2005). Για αυτό το λόγο,



είναι πολύ σημαντικό να επεκτείνεται ο εμπορικός χρόνος ζωής των θαλάσσιων προϊόντων.

1.9 Χημικοί δείκτες αλλοίωσης

Ένας εναλλακτικός τρόπος προσδιορισμού της μικροβιακής αλλοίωσης είναι η εκτίμηση της αλλοιωγόνου δραστηριότητας των μικροοργανισμών μέσω του προσδιορισμού των μεταβολικών τους προϊόντων που προκαλούν την αλλοίωση και την οργανοληπτική απόρριψη. Οι πιο συνήθεις χημικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται είναι το ολικό πτητικό βασικό άζωτο (TVB-N), η τριμεθυλαμίνη (TMA) ή άζωτο της τριμεθυλαμίνης (TMA-N) (Scherer et al. 2006, Mol et al. 2007).

1.10 Ειδικοί αλλοιωγόνι μικροοργανισμοί (EAM)

Η μικροβιακή αύξηση μπορεί να επηρεάζεται από διάφορους ενδογενείς (εσωτερικούς) και εξωγενείς (εξωτερικούς) παράγοντες. Η αξιολόγηση αυτών των παραγόντων είναι απαραίτητη ώστε να εκτιμηθούν οι παράγοντες εκείνοι που πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν για τη συντήρηση ενός τροφίμου και εν γένει της διασφάλισης της παραγωγής ασφαλών τροφίμων. Οι ενδογενείς παράγοντες, περιλαμβάνουν κάποια φυσικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, ενώ οι εξωγενείς αναφέρονται στο περιβάλλον του τροφίμου ([http7](http://7)). Ωστόσο εκτός από τους ενδογενείς και τους εξωγενείς παράγοντες υπάρχουν και άλλοι οι οποίοι συμβάλουν και επηρεάζουν την μικροβιακή αύξηση: Παράγοντες κατά την επεξεργασία, ενδογενείς βιοτικοί παράγοντες και συνεργιστικοί παράγοντες (Nychas et al. 2005).

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). Κατά τη συντήρηση των αλιευμάτων, ένα μικρό μέρος της αρχικής μικροβιακής σύνθεσης γνωστό ως Ειδικοί Αλλοιωγόνι Μικροοργανισμοί (EAM) φθάνουν σε υψηλά αριθμητικά επίπεδα των 7-9 log cfu/g και παράγουν μεταβολίτες οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις χαρακτηριστικές δυσάρεστες οσμές στα τρόφιμα και επομένως την οργανοληπτική απόρριψη. Η επιλογή των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών εξαρτάται από τις επικρατούσες συνθήκες κατά τη συντήρηση όπως είναι η θερμοκρασία και η ατμόσφαιρα καθώς και από τις μικροβιακές αλληλεπιδράσεις (Parlapani et al., 2013). Οι Ειδικοί Αλλοιωγόνι Μικροοργανισμοί (EAM) αποτελούν την κύρια αιτία της ποιοτικής υποβάθμισης στα ωπά αλιευτικά προϊόντα (Gram & Huss 1996, Gram & Dalgaard 2002).



Αναπτύσσονται πολύ γρηγορότερα σε σχέση με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς και όταν ο πληθυσμός τους φθάσει στο επίπεδο αλλοίωσης ($7-9 \log \text{ cfu/g}$), οι ουσίες που παράγονται λόγω του μεταβολισμού τους, βρίσκονται σε τέτοιες συγκεντρώσεις ώστε να προκαλούν την απόρριψη του προϊόντος λόγω αλλοιώσεων στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (Dalgaard et al. 1993, Gram & Huss 1996, Huis in'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).

Οι μικροοργανισμοί που τελικά επικρατούν, είναι εκείνοι οι οποίοι προσαρμόζονται ευκολότερα στο μικροπεριβάλλον του τροφίμου. Η τροποποίηση ή ο έλεγχος των παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών 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).

1.11 Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας είναι ο προσδιορισμός των οργανοληπτικών, μικροβιολογικών και χημικών μεταβολών για την εκτίμηση της ποιότητας και του εμπορικού χρόνου ζωής της απευυγμένης σουπιάς κατά την συντήρηση στους 2°C .



2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Γενικός πειραματικός σχεδιασμός

Σε σουπιές που απεψύχθησαν πραγματοποιήθηκε παρακολούθηση των πληθυσμιακών μεταβολών των αλλοιογόνων μικροοργανισμών και του προφίλ των παραγόμενων χημικών δεικτών αλλοίωσης όπως TVB-N, TMA, καθώς επίσης και η μέτρηση του pH κατά την συντήρησή τους στους 2°C.

2.2 Προέλευση δειγμάτων

Οι σουπιές (≈500-700 γρ) ελήφθησαν από μια ελληνική επιχείρηση και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Υγιεινής και Τεχνολογίας Αλιευτικών Προϊόντων και Τροφίμων (Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας) τον Αύγουστο του 2015. Τα παγωμένα κεφαλόποδα τοποθετήθηκαν σε ένα ψυγείο 4°C για 24 ώρες για να ξεπαγώσουν. Κατόπιν, τα απεψυγμένα κεφαλόποδα αποθηκευτήκαν σε επωαστικούς/ψυκτικούς θαλάμους που λειτουργούν σε 2°C για 8 ημέρες. Σε κάθε σημείο δειγματοληψίας, (2) άτομα ελήφθησαν για τις αναλύσεις.

2.3 Ανάλυση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και προσδιορισμός της διάρκειας συντήρησης

Η ανάλυση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών πραγματοποιούνταν κάθε μέρα προκειμένου να καθοριστεί το χρονικό σημείο απόρριψης. Η αξιολόγηση εκτελέστηκε από έξι κριτές. Οι οργανοληπτικές ιδιότητες που αξιολογήθηκαν περιγράφονται από τους Vaz-Pires και Seixas (2006) για τις σουπιές (εμφάνιση και χρωματισμός του δέρματος/ραχιαία πλευρά, μυρωδιά και βλέννα δερμάτων, ελαστικότητα και χρωματισμός του δέρματος/κοιλιακή πλευρά, υφή σάρκας, κερατοειδής χιτώνας ματιών και κόρης, στοματική μυρωδιά, εσωτερικό κόκαλο: σύνδεση κόκαλο/κεφάλι). Η εκτίμηση κάθε οργανοληπτικής ιδιότητας αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας μια περιγραφική κλίμακα αρέσκειας από 5 έως 1 (5 που είναι το υψηλότερο ποιοτικό αποτέλεσμα και 1 το χαμηλότερο). Το 3 λήφθηκε ως μέσο αποτέλεσμα για την ελάχιστη αποδοχή. Από αυτή την άποψη, το αποτέλεσμα 1 αποδόθηκε σε ένα συνολικά αλλοιωμένο δείγμα και το αποτέλεσμα 2 θεωρήθηκε ως αποτέλεσμα για απόρριψη.



2.4 Μικροβιολογικά υλικά

Όλα τα μικροβιολογικά υλικά από την LAB M (Lancashire, UK), εκτός από το STAA (streptomycin sulphate, thallus acetate, cycloheximide actidione agar) το οποίο προέρχονταν από την Biolife Italiana srl (Milano, Italy) . Το Iron Agar (IA) προετοιμάστηκε σύμφωνα με τους Gram et al. (1987) και περιείχε τα παρακάτω: peptone 20 g l⁻¹ , meat extract 3.0 g, yeast extract 3.0 g l⁻¹ , ferric citrate 3.0 g l⁻¹ , sodium thiosulphate 0.3 g l⁻¹ , NaCl 5 g, L-cysteine 0.6 g l⁻¹ , agar 14 g l⁻¹ . Το pH ρυθμίστηκε στο 7.4.

2.5 Μικροβιολογική Ανάλυση

Εικοσιπέντε (25) g δείγματος (σάρκας) από κάθε άτομο μεταφέρθηκαν ασηπτικά σε σακούλες τύπου stomacher, όπου προστέθηκαν 225 ml MRD (Maximum Recovery Diluent, 0.1% w/v peptone, 0.85% w/v NaCl) και ομογενοποιήθηκαν για 2 λεπτά με τη χρήση της συσκευής Stomacher (Bug Mixer, Interscience, London, UK). Οι μικροοργανισμοί που καταμετρήθηκαν μετά από επίστρωση 0.1 ml σε τρυβλία Petri ήταν α) Ολικός Μικροβιακός Πληθυσμός (APC) σε TSA (Tryptone Soy Agar), μετά από επώαση των τρυβλίων στους 25°C για 48-72 ώρες, (b) *Pseudomonas* spp., σε cetrimide-fucidin-cephaloridine agar (CFC), μετά από επώαση για 48 h στους 25°C και (c) *Brochotrix thermosphacta*, σε STAA, μετά από επώαση για 48 -72 h στους 25 °C, ενώ μετά από ενσωμάτωση 1.0 ml σε τρυβλία Petri ήταν οι : (a) βακτήρια που παράγουν H₂S σε IA μετρώντας μόνο τις μαύρες αποικίες, μετά από επώαση στους 25°C για 72 h, (b) Οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) σε De Man, Rogosa, Sharpe agar (MRS) μετά από επώαση στους 25°C για 72 h και (c) Enterobacteriaceae σε Violet Red Bile Glucose agar (VRBGA), μετά από επώαση στους 37°C for 24 h.

Το TSA είναι το πιο σημαντικό θρεπτικό γενικής χρήσης για την καταμέτρηση του Ολικού μικροβιακού πληθυσμού (APC) λόγω της ικανότητας να δίνει δέκα φορές υψηλότερους αριθμούς αποικιών συγκριτικά με άλλα θρεπτικά μέσα που χρησιμοποιούνται για καταμέτρηση της APC στα θαλασσινά (Kakasis et al. 2011).



2.6 Χημική ανάλυση

2.6.1 Αλλαγή του pH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των κεφαλοπόδων

Το pH της σάρκας των κεφαλοπόδων υπολογίστηκε τοποθετώντας ηλεκτρόδια pH (Inolab WTW pH meter, Weilheim, Germany) σε αναλογία 1/10 σάρκας κεφαλόποδων/MRD ομογενοποιημένων στους 20°C.

2.6.2 Προσδιορισμός Ολικού Πτητικού Αζώτου TVB-N και Τριμεθυλαμίνης TMA-N

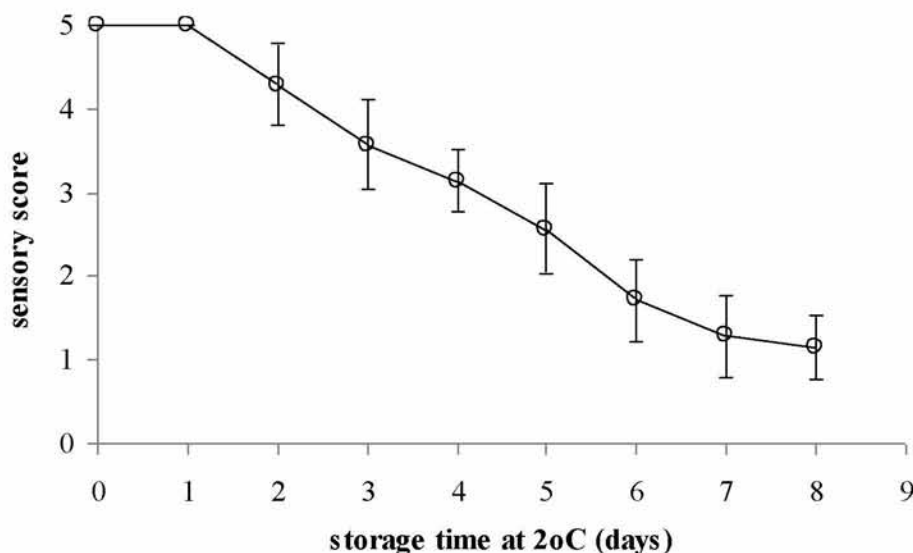
Τα αντίστοιχα χημικά προέρχονταν από τη Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Δέκα (10) g σάρκας ομογενοποιήθηκαν με διάλυμα 60 g/L τριχλωροοξικού οξέος (TCA) και κατόπιν ακολούθησε διήθηση μέσω ηθμού Whatman No.1 σε ογκομετρική φιάλη 100 ml. Ποσότητα σαράντα (40) ml εις διπλούν του διηθήματος χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση TVB-N χρησιμοποιώντας την μεθ' υδρατμών μέθοδο, σύμφωνα με προσαρμογή της μεθόδου κατά Vyncke et al. (1987). Τα υπόλοιπα 10 ml, ανά δοκιμή, χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της τριμεθυλαμίνης TMA φασματοφωτομετρικά χρησιμοποιώντας πικρικό οξύ, σύμφωνα με προσαρμογή της μεθόδου σύμφωνα με τον Dyer (1945). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg N/100g ± σταθερής απόκλισης των 4 επαναλήψεων (2 επαναλήψεις για κάθε ομάδα).



3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Οργανοληπτικές αλλαγές και εμπορικός χρόνος ζωής των κεφαλόποδων

Ο εμπορικός χρόνος ζωής των αποψυγμένων σουπιών κατά τη συντήρηση τους στους 2°C που προσδιορίστηκε από οργανοληπτικές αποτιμήσεις ήταν 5 μέρες. Αρχικά, η φρεσκάδα της σάρκας των σουπιών ήταν εξαιρετική (Διάγραμμα 3.1). Η οσμή περιγράφηκε ως θαλασσινή, το δέρμα ήταν λαμπερό με ιριδίζουσα όψη και η βλέννα χαρακτηρίστηκε ως διαυγής, υγρή και φωτεινή. Η οσμή του στόματος ήταν επίσης θαλασσινή και φρέσκια. Η σύσταση της σάρκας ήταν σταθερή, ο κερατοειδής χιτώνας των ματιών ήταν άθικτος, υγρός και λαμπερός. Και το εσωτερικό κόκαλο ήταν άριστα συνδεδεμένο με το ανώτερο σημείο της περιοχής της κεφαλής. Η φρεσκάδα των χαρακτηριστικών της σουπιάς είχε μειωθεί ουσιαστικά μετά από 4 μέρες. Στο σημείο του χρόνου απόρριψης (όπου το σκορ ήταν ανάμεσα στο 2 και 3) υπήρχε μία ελαφρά αύξηση της δυσάρεστης οσμής. Η εμφάνιση του δέρματος ήταν θολή ενώ το κεντρικό μέρος του μανδύα έγινε καφέ και το εσωτερικό κόκαλο έχανε τη σύνδεση με το ανώτερο σημείο της περιοχής της κεφαλής.

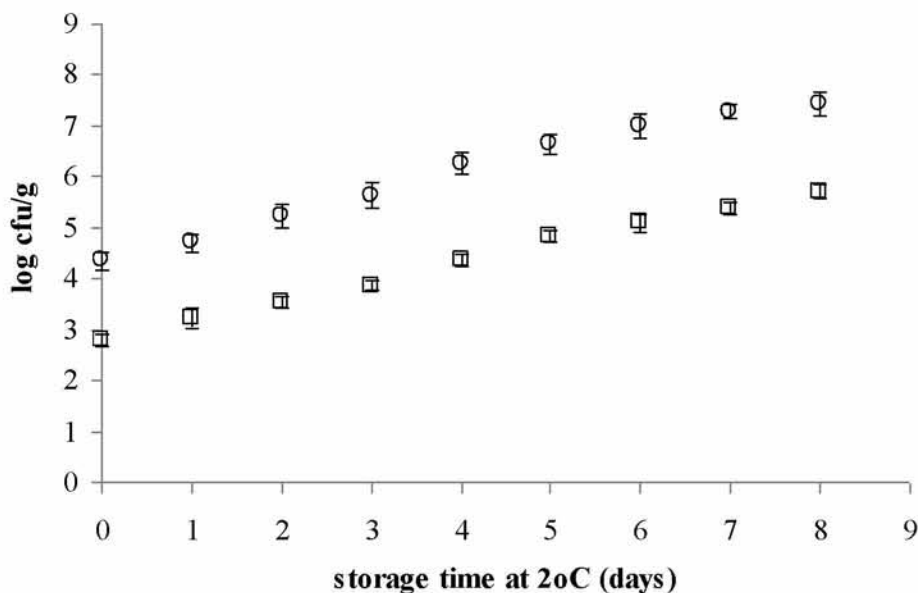


Διάγραμμα 3.1 : Μεταβολές στη γενική εμφάνιση των σουπιών κατά τη διάρκεια της συντήρησης (2 °C). Οι μπάρες σφάλματος παρουσιάζουν την τυπική απόκλιση (n=2x2=4).



3.2 Μικροβιολογική ανάλυση

Αρχικά (day 0), το APC των κατεψυγμένων σουπιών ήταν 4.35 log cfu/g, (Διάγραμμα 3.2). Στην σουπιά ο πληθυσμός των αλλοιογόνων μικροοργανισμών, *Pseudomonas* spp. που ανιχνεύτηκε ήταν, (2.78 log cfu/g). Στο σημείο απόρριψης, το APC έφθασε στα επίπεδα των 6.64 log cfu/g. Οι πληθυσμοί των *Pseudomonas* spp. βακτηρίων έφθασε στα επίπεδα των 4.85 log cfu/g (day 5). Οι υπόλοιποι πληθυσμοί των μικροοργανισμών που εξετάστηκαν παρέμειναν κάτω απο το όριο ανίχνευσης : 1 (βακτήρια που παράγουν H₂S, Enterobacteriaceae και οξυγαλακτικά βακτήρια) η 2 (*B. thermosphacta*) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος.



Διάγραμμα 3.2. Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX και των αλλοιογόνων μικροοργανισμών σε σάρκα σουπιάς, κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 2°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 4 επαναλήψεων (2X2=4) που προέκυψαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών, Ολικός μεσόφιλος πληθυσμός. (○), *Pseudomonas* spp (□) Οι μπάρες σφάλματος παρουσιάζουν την τυπική απόκλιση (n=2x2=4).

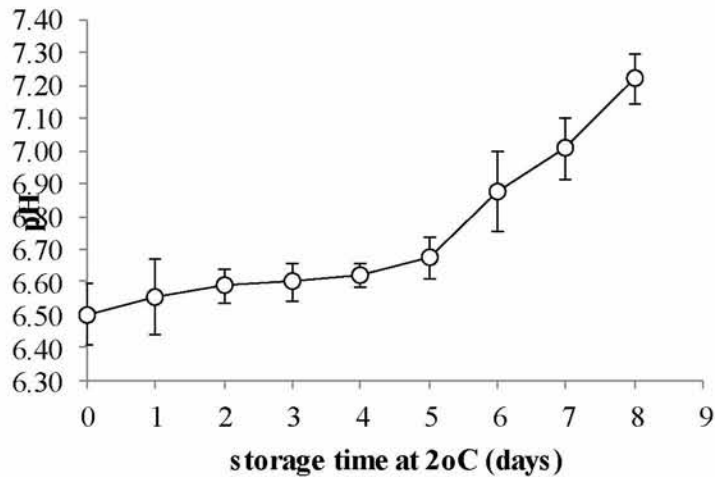
3.3 Χημική Ανάλυση

3.3.1 Αλλαγές pH

Η τιμή του pH της σάρκας των καβουριών που καταγράφηκε κατά τη διάρκεια της συντήρησης υπό συνθήκες 2°C, παρουσιάζεται στο παρακάτω Διάγραμμα (Διάγραμμα 3.3.1). Το αρχικό pH για τη σουπιά ήταν 6.5. Έπειτα το pH της σάρκας



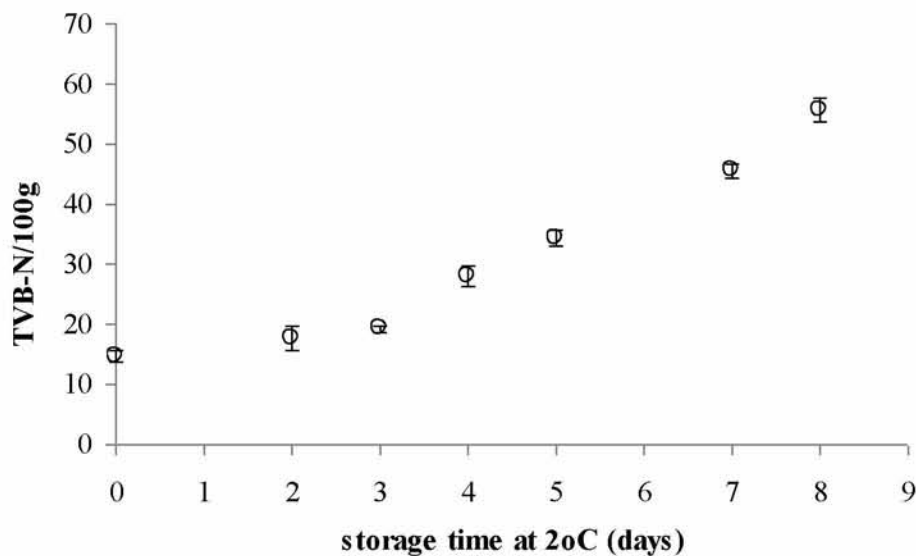
της σουπιάς είχε ελάχιστα αυξηθεί μετά την 5^η μέρα, (day 5-> pH = 6.67) φθάνοντας την τιμή του 7.22 στο τέλος του πειράματος .



Διάγραμμα 3.3.1: Μέτρηση των τιμών του pH της σάρκας σουπιάς.

3.3.2 Προσδιορισμός του Ολικού Πτητικού Βασικού Αζώτου (TVB-N)

Η συγκέντρωση του ολικού πτητικού αζώτου (mg N/100g σάρκας σουπιάς, $n=2 \times 2=4$) της σάρκας των σουπιών που καταγράφηκε κατά τη διάρκεια συντήρησης στους 2°C παρουσιάζεται στο διάγραμμα 3.3.2.



Διάγραμμα

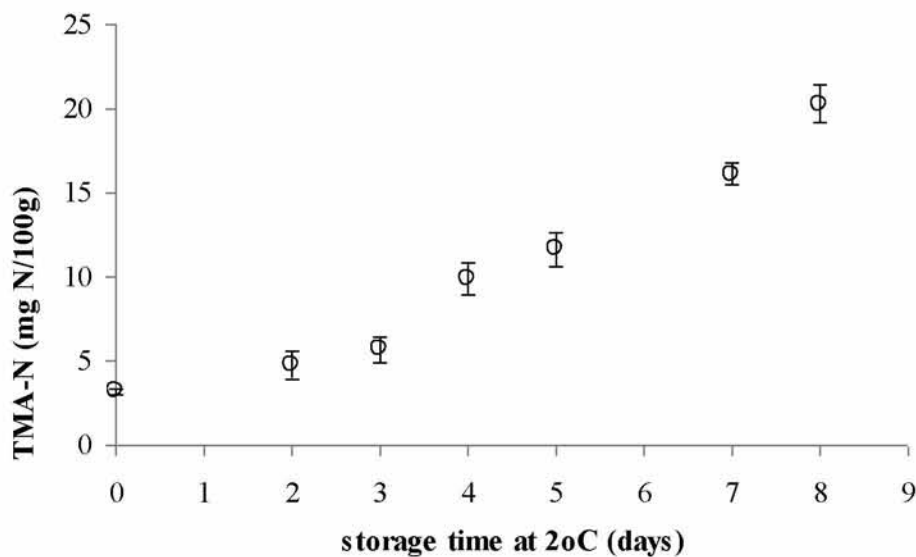
Διάγραμμα 3.3.2 Μεταβολές στο TVB-N (μ.ο. ± τυπ.αποκλ., mg /100g σάρκας σουπιάς, $n=2 \times 2=4$) κατά τη διάρκεια της συντήρησης σουπιάς υπό συνθήκες αέρα στους 2 °C.



Η αρχική συγκέντρωση του TVB-N ήταν 14.71 N mg /100g ($p>0.05$). Στις πρώτες μέρες συντήρησης, η τιμή του TVB-N δεν διέφερε και πολύ ($p>0.05$). Έπειτα από 4 μέρες συντήρησης η τιμή του TVB-N ξαφνικά αυξήθηκε ($p>0.05$) (Διάγραμμα 3.3.2). Στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής η τιμή του TVB-N έφθασε στο 34.26 mg N/100g (day 5).

3.3.3 Προσδιορισμός του αζώτου της τριμεθυλαμίνης

Η συγκέντρωση του αζώτου της τριμεθυλαμίνης (mg N/100 σάρκας σουπιάς, $n=2 \times 2=4$) στη σάρκα της σουπιάς που καταγράφηκε κατά τη διάρκεια συντήρησης στους 2°C παρουσιάζεται στο διάγραμμα 3.3.3.



Διάγραμμα 3.3.3 Μεταβολές του TMA-N (μ.ο. \pm τυπ.απ., mg N/100g σάρκας σουπιάς, $n=2 \times 2=4$) κατά τη διάρκεια της συντήρησης σουπιάς υπό συνθήκες αέρα στους 2°C.

Στην αρχή η TMA-N ήταν στην τιμή του 3.19 mg N/100g για τη σουπιά ($p>0.05$). Για τις 2 πρώτες μέρες δεν υπήρξε καμία διαφορά, ενώ μετά την 4^η μέρα συντήρησης η τιμή της TMA-N αυξήθηκε σημαντικά ($p<0.05$), φθάνοντας το 11.65mg N/100g (day 5).



4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία έγινε προσδιορισμός των οργανοληπτικών, μικροβιολογικών και χημικών μεταβολών με σκοπό την εκτίμηση της ποιότητας και του εμπορικού χρόνου ζωής των σουπιών (*Sepia officinalis*) αποθηκευμένων στους 2°C.

Μετά την οργανοληπτική αξιολόγηση των σουπιών, αποθηκευμένων υπό αερόβιες συνθήκες στους 2 °C, ο εμπορικός χρόνος ζωής αυτών προσδιορίστηκε στις πέντε (5) ημέρες (120 h). Πράγματι, σύμφωνα με τους Vaz-Pires και Seixas (2006) ο χρόνος απόρριψης των σουπιών αποθηκευμένων σε πάγο ήταν 10 μέρες λόγω αλλοιώσεων στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Καθώς επίσης οι P. Ganesan et al. (2008) αναφέρουν ότι, φιλέτα σουπιών (*Sepia pharaonis*) αποθηκευμένα σε πάγο, απορρίφθηκαν την 19^η μέρα λόγω δυσάρεστης οσμής και αποχρωματισμού της σάρκας. Ωστόσο, οι Raagup et al. (2002) παρατήρησαν ότι οι μανδύες ολόκληρων και καθαρισμένων θράψαλων (*Todaropsis eblanae*) απορρίφθηκαν οργανοληπτικά την 10^η και 12^η μέρα συντήρησης σε πάγο, αντίστοιχα. Επίσης οι Raagup et al. (2002b) ανακάλυψαν δυσάρεστη οσμή αμμωνίας στους μανδύες θράψαλων αποθηκευμένων στους 4 °C, στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής. Αξίζει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τους Civera et al. (1999) τα κεφαλόποδα, η κοινή σουπιά (*Sepia officinalis*), το θράψαλο (*Illex coindetii*) και το χταπόδι (*Eledone moschata*) εμφανίζουν μεγάλες αλλοιώσεις στην ποιότητα των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους μετά την 7^η μέρα συντήρησης στους 1-2°C, και απορρίπτονται την 10^η μέρα αποθήκευσης.

Όσο αναφορά τους μικροοργανισμούς, η ανάπτυξη των οποίων οδηγεί στην αλλοίωση των σουπιών, στην παρούσα εργασία βρέθηκε ότι οι επικρατέστεροι είναι τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* spp. Στην σουπιά ο πληθυσμός των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, *Pseudomonas* spp που ανιχνεύτηκε ήταν, 2.78 log cfu/g. Στο σημείο απόρριψης, το APC έφθασε στα επίπεδα των 6.64 log cfu/g. Ο πληθυσμός των *Pseudomonas* spp. έφθασε στα επίπεδα των 4.85 log cfu/g (day 5). Οι υπόλοιποι πληθυσμοί των μικροοργανισμών που εξετάστηκαν παρέμειναν κάτω από το όριο ανίχνευσης : 1 (βακτήρια που παράγουν H₂S, Enterobacteriaceae και οξυγαλακτικά βακτήρια) ή 2 (*B. thermosphacta*) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* sp έχει αναφερθεί ότι είναι ο κύριος αλλοιωγόνος μικροοργανισμός των ψαριών που αλιεύονται στα ελληνικά εύκρατα



νερά (Koutsoumanis & Νυχάς 1999, Koutsoumanis & Νυχάς 2000, Koutsoumanis et al. 2000. Παπαδόπουλος et al. 2003, Parlapani et al. 2013, 2014, 2015a, b).

Το Ολικό Βασικό Πτητικό Άζωτο (TVB-N) έχει προταθεί ως χημικός δείκτης αλλοίωσης στους ιχθύες (Ólafsdóttir et al. 1997). Η μέτρησή του περιλαμβάνει ουσίες όπως η TMA-N, η DMA-N, η NH₃ αλλά και άλλες πτητικές αζωτούχες ενώσεις που παράγονται από την βακτηριακή αποικοδόμηση των πρωτεϊνών και των αμινοξέων, ενώ είναι ένας εναλλακτικός τρόπος προσδιορισμού της μικροβιακής αλλοίωσης μέσω του προσδιορισμού της μεταβολικής τους δραστηριότητας (Gram & Huss 1996, Ólafsdóttir et al. 1997). Στην παρούσα μελέτη η αρχική συγκέντρωση του TVB-N ήταν 14.71 mg /100g. Στις πρώτες μέρες συντήρησης, η τιμή του TVB-N δεν διέφερε και πολύ. Έπειτα από 4 μέρες συντήρησης η τιμή του TVB-N ξαφνικά αυξήθηκε. Στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής η τιμή του TVB-N έφθασε στο 34.26 mg N/100g (day 5). Παρόμοια αποτελέσματα παρουσίασε και το TMA-N όπου στην αρχή η τιμή του ήταν 3.19 mg N/100g. Για τις 2 πρώτες μέρες δεν υπήρξε καμία διαφορά, ενώ μετά την 4^η μέρα συντήρησης η τιμή της TMA-N αυξήθηκε σημαντικά φθάνοντας το 11.65mg N/100g στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής (day 5). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι το TVB-N και το TMA-N μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες αλλοίωσης. Σύμφωνα με τους Vaz Pires et al. 2008 το VBN για σουπιά (*Sepia officinalis*) και θράψαλο (*Illex coindetii*) αποθηκευμένα σε πάγο ήταν αρχικά στην τιμή του 7.7 και 9.9 αντίστοιχα ενώ παρουσίασε μεγάλη αύξηση μετά την 7^η μέρα συντήρησης, φθάνοντας την 10^η μέρα συντήρησης τους σε πάγο, την τιμή 26.9 και 21.9 mg/100 g. Όσον αφορά το TMA-N οι τιμές ήταν 0.3 με 10.0 mg/100 g στη σουπιά και 0.1 με 8.4 mg/100 g στο θράψαλο έπειτα από 13 μέρες συντήρησης στον πάγο, με πιο εμφανείς αλλαγές μετά την 10^η μέρα συντήρησης. Επιπλέον οι Lapa-Guimaraes et al. (2005) σε έρευνά τους σε θράψαλα (*Loligo plei*) αναφέρουν ότι σημαντικές αυξήσεις στο TVB-N καθώς και στο TMA-N προκλήθηκαν μετά την 12^η μέρα συντήρησης τους σε πάγο.

Σε μελέτες που αφορούν τον προσδιορισμό του TVB-N στους ιχθύες, οι τιμές του TVB-N δεν παρουσίασαν σημαντική αύξηση, καταγράφοντας τιμές μέχρι και 20.16 mg N/100 g σάρκας ιχθύος (ημέρα 18), για ολόκληρους ιχθύες ιριδίζουσας πέστροφας, αποθηκευμένων στους 0 °C. (Chytiri et al. 2004). Επίσης, το TVB-N που καταγράφηκε στη σάρκα των απεντερωμένων ιχθύων κουτσομούρας και ειδών μπαρμπουνιού, αποθηκευμένων στους 0 °C, είχε τιμές 12.23 και 19.49 mg N/100 g σάρκας αντίστοιχα, ενώ στο τέλος της αποθήκευσης οι τιμές έφτασαν τα 47.19 και



43.97 mg N/100 g σάρκας ιχθύος, αντίστοιχα (Özyurt et al. 2009). 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).

Τέλος, στην παρούσα μελέτη η αρχική τιμή του pH της σουπιάς (*Sepia officinalis*) ήταν 6.5. Έπειτα το pH της σάρκας της σουπιάς είχε ελάχιστα αυξηθεί μετά την 5^η μέρα με τιμή 6.67 φθάνοντας την τιμή του 7.22 στο τέλος του πειράματος. Η αύξηση του pH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης μπορεί να αποδοθεί στην παραγωγή TVB-N. Η αύξηση και τα υψηλά επίπεδα του pH στους 2°C προκαλείται από την ταχύτερη παραγωγή TVB-N που συμβαίνει σε αυτή τη θερμοκρασία σε σχέση με τις χαμηλότερες θερμοκρασίες. Το συμπέρασμα αυτό, συμφωνεί με την έρευνα των Boumpalos et al. (2005) σε σουπιές (*Sepia officinalis*) αποθηκευμένες σε πάγο, όπου παρατήρησαν ότι, η γρήγορη αύξηση στο pH μετά από την 9η ημέρα συνδέεται με την κατάσταση της γρήγορης αλλοίωσης σουπιών και συνέπεσε με το αυξανόμενο ποσοστό παραγωγής πτητικών βάσεων.



5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση, λοιπόν τις μικροβιακές απαριθμήσεις και την οργανοληπτική αξιολόγηση, ο εμπορικός χρόνος ζωής σουπιών του είδους *Sepia officinalis* που αποθηκεύθηκαν υπό αερόβιες συνθήκες συντήρησης των 2°C είναι 5 ημέρες (120h). Οι κύριοι αλλιωγόνος μικροοργανισμός στην σάρκα σουπιών, στην παρούσα μελέτη ήταν τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* spp. Επιπλέον, σύμφωνα με τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι η παραγωγή του Ολικού Βασικού Πτητικού Αζώτου (TVB-N) και του αζώτου της Τριμεθυλαμίνης (TMA-N) αποτελούν αξιολογικούς δείκτες για την αποδοχή ή μη των σουπιών αλλά δεν επαρκούν για να χαρακτηρίσουν την νωπότητα των προϊόντων αυτών. Αυτό, οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι οι τιμές του δεν μεταβάλλονται κατά το πρώτο ήμισυ του εμπορικού χρόνου ζωής, με αποτέλεσμα να μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο ως δείκτες αλλοίωσης - απόρριψης και όχι αξιολόγησης της νωπότητας των σουπιών.

Τέλος η συντήρηση σουπιών στους 2°C είναι ένα καλό μέσο συντήρησης και παράτασης της διάρκειας ζωής τους, διότι σε χαμηλή θερμοκρασία, τόσο οι ενζυμικές όσο και οι χημικές αντιδράσεις, καθώς και η μικροβιακή ανάπτυξη επιβραδύνονται, καθιστώντας έτσι το προϊόν ασφαλές προς κατανάλωση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.



6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Έντυπη βιβλιογραφία

Albanese, D., L. Cinquanta, M. T. Lanorte and M. D. Matteo, 2005. Cuttlefish (*Sepia officinalis*) stored in active packaging: some chemical and microbiological changes. *Italian Journal of Food Science*, 3 (17): 325-332.

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.

Baird-Parker A. C. and Davenport E., 1965, *J. Appl. Bacteriol.*, 28:390.

Bakhaykho & Drammeh, (1982, biology of Senegalese stocks) Fisheries Committee for the Eastern Central Atlantic (CECAF) (1982, stock assessment); Conseil général des pêches pour la Méditerranée (CGPM) (1982, stock parameter for the Mediterranean).

Barbosa A., Vaz-Pires P. 2004. Quality index method (QIM): development of a sensorial scheme for common octopus (*Octopus vulgaris*), *Food Control* 15, 161–168.

Barnes R. D. 1980 . *Invertebrate Zoology*, Philadelphia, W.B. Saunders.

Boumpalos A. & Lougovois V. (2005) Shelf life assessment of whole and eviscerated cuttlefish (*Sepia officinalis*) stored in melting ice, 168-175

Caglak, E., S. Cakli and B. Kilink, (2014). Comparison chemical, sensory, microbiological and textural changes of cuttlefish (*Sepia officinalis*) stored under different packaging. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 20: 1046-1053.

Castro, P., Padrón, J. C. P., Cansino, M. J. C., Velásquez, 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

Civera, T., Grassi, M.A., and Pattono, D. (1999). Chemical and microbial characteristics of cephalopods during storage in ice. *Industrie. Alimentari.* 38: 933-937.

Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G. (2004). Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology* 21. 157-165

Dainty R.H. (1996). Chemical/biochemical detection of spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 19-33.

Dalgaard P. (1995a). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology*, 26: 319-333.



Dalgaard P. (1995b) Modelling of microbial activity and prediction of shelf life of packed fresh fish. *International Journal of Food Microbiology*, 19: 305-318.

Dalgaard P., Gram L., Huss H.H. (1993). Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 19: 283-294.

FAO (2005). Species Catalogue for Fishery Purposes No. 4, Vol. 1, Patrizia Jereb, Clyde F.E. Roper and Michael Vecchione, Cephalopods of the World, 1-9

Ganesan P., Jeyasekaran G., Maheswari K., Jeya Shakila R. & Sukumar D. 2005. Quality Evaluation in Chilled Cuttlefish (*Sepia pharaonis*) Fillets, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 14:4, 37-49

Gram L., Dalgaard P. 2002. Fish spoilage bacteria: Problems and solutions. *Current Opinion in Microbiology*, 13: 262-266

Gram L., Huss H.H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 121-137
Gram et al. 1990,

Harbell S., (1988). Controlling seafood spoilage, In *Seafood Retailing Series*, 1-7

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.

Jereb, P., Roper C. 2005. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 1. Chambered nautilus and sepioids (Nautilidae, Sepiidae, Sepiolidae, Sepiadariidae, Idiosepiidae and Spirulidae). *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*, 1 (4): 1-262. Accessed December 10, 2010 at <http://marinebio.org/cephs/FAO/A0150e00.pdf>.

Kakasis S., Parlapani F., Boziaris I.S. (2011). Performance and selectivity of media used for the enumeration of bacterial populations on seafood. In: *Proceedings of the 33rd Scientific Conference of Hellenic Society for Biological Sciences*, Edessa, Greece, May 19-21, 2011, pp.100-101.

Koutsoumanis K., Lampropoulou K., Nychas G.-J.E. (1999). Biogenic amines and sensory changes associated with the microbial flora of Mediterranean gilt-head sea bream stored aerobically at 0, 8 and 15 oC. *Journal of Food Protection*, 62: 398-402.

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



Koutsoumanis K., Nychas G.-J. E. (1999) Chemical and sensory changes associated with microbial flora of Mediterranean boque (*Boops boops*) stored aerobically at 0, 3, 7, and 10°C. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 698–706.

Koutsoumanis K., Lampropoulou K., Nychas G.-J.E. (1999) Biogenic amines and sensory changes associated with the microbial flora of Mediterranean gilt-head sea bream stored aerobically at 0, 8 and 15°C. *Journal of Food Protection*, 62: 398-402

Lapa-Guimaraes J., Eduardo de Felicio P, Segundo Contreras Guzman E. 2005. Chemical and microbial analyses of squid muscle (*Loligo plei*) during storage in ice, *Food Chemistry* 91, 477–483.

Liston J. (1980) Microbiology in fishery science. In Connell J.J. (ed) *Advances in Fish Science and Technology*. Fishing News Books, Ltd, Farnham, Surrey, UK 138-157.

Mol S., Erkan N., Ücok D., Tosun S. Y. (2007) Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. *Journal of Muscle Foods*, 18: 120–128.

Olafsdottir G., Martinsdottir E., Jonsson E.H. (1997). Gas sensor and GC measurements of volatile compounds in capelin. In: Luten J.B., Borresen T., Oehlenschlager J. (ed.) *Seafood From Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality, Development in Food Science*. Elsevier, New Cork, NY., p. 507-520.

Nychas G.-J., Skandamis P. N., Tassou C., Koutsoumanis K., (2008). Meat spoilage during distribution, *Meat Science* 78, 77–89.

Olafsdottir G., Martinsdottir E., Jonsson E.H. (1997). Gas sensor and GC measurements of volatile compounds in capelin. In: Luten J.B., Borresen T., Oehlenschlager J. (ed.) *Seafood From Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality, Development in Food Science*. Elsevier, New Cork, NY., p. 507-520.

Özyurt, G., Kuley, E., Özkütük, S., Özogul, F. (2009). Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry* 114. 505-510.

Paarup, T., Sanchez, J.A., Moral, A., Christensen, H., Bisgaard, M., and Gram, L.2002a. Sensory, chemical and bacteriological changes during storage of iced squid (*Todaropsis eblanae*). *J. Appl. Microbiol.* 92: 941-950.

Paarup, T., Sanchez, J.A., Pelaez, C., and Moral, A. (2002b). Sensory, chemical and bacteriological changes in vacuum-packed pressurized squid (*Todaropsis eblanae*) stored at 4°C. *Int. J. Food Microbiol.* 74: 1-12.

Paleologos, E. K., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G. (2004). Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Microbiology* 21. 549-557,



Papadopoulos V., Chouliara I., Badeka A., Savvaidis I.N., Kontominas M.G., (2003). Effect of gutting on microbiological, chemical and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, 20: 411–420.

Parlapani F.F., Kormas K. Ar. & I.S. Boziaris (2015). Microbiological changes, shelf life and identification of initial and spoilage microbiota of sea bream fillets stored under various conditions using 16S rRNA gene analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture* DOI 10.1002/jsfa.6957

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., 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., Haroutounian S.A., Nychas G-J.E & I.S. Boziaris (2015a). 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 (2015b). The dynamics of *Pseudomonas* and volatiles during the spoilage of gutted sea bream stored at 2°C. *Food Control* 55, 257-265.

Reid, A., P. Jereb, & C.F.E. Roper 2005. Family Sepiidae. In: P. Jereb & C.F.E. Roper, eds. *Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species known to date. Volume 1. Chambered nautilus and sepioids (Nautilidae, Sepiidae, Sepiolidae, Sepiadariidae, Idiosepiidae and Spirulidae)*. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. No. 4, Vol. 1. Rome, FAO. pp. 57–152.

Scherer R., Augusti P. R., Bochi V. C., Steffens C., Martins Fries L. L., Daniel A. P., Kubota E. H., Neto J. R., Emanuelli T. (2006). Chemical and microbiological quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) slaughtered by different methods. *Food Chemistry*, 99: 136–142

Stroud, G.D. (1978). Squid. *Torry Advisory Note No.77*. Aberdeen, Scotland: MAFF, Torry Research Station.

Vaz-Pires P., Seixas P. 2006. Development of new quality index method (QIM) schemes for cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*), *Food Control* 17, 942–949

Vaz-Pires P., Seixas P., Mota M., Lapa-Guimaraes J., Pickova J., Lindo A., Silva T. 2008. Sensory, microbiological, physical and chemical properties of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*) stored in ice, *LWT - Food Science and Technology* Volume 41, Issue 9, 1655-1664.



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.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

1. <http://www.enidrio.gr/el/mollusks/>
2. (<http://www.fao.org/fishery/species/2711/en>)
3. <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/BIO315/%CE%9D%CE%A4%CE%91%CE%99%CE%9B%CE%99%CE%91%CE%9D%CE%97%CE%A3%20%CE%A3./%CE%95%CE%A1%CE%93.%20%CE%9C%CE%91%CE%9B%CE%91%CE%9A%CE%99%CE%91%20%28%CE%A3%CE%9F%CE%A5%CE%A0%CE%99%CE%91%29.pdf>
4. <http://www.fao.org/fishery/species/2711/en>
5. <http://nutritiondata.self.com/facts/finfish-and-shellfish-products/4251/2>
6. <http://www.kallimanis.gr/products/consumer-products/natural-fish-and-seafood-gr/cuttlefish/cuttlefish-cleaned.aspx>
7. <http://www.foodbites.eu/j15/el/trofima/asfaleia-poiotita/1531-microbial-growth>