



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ



ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

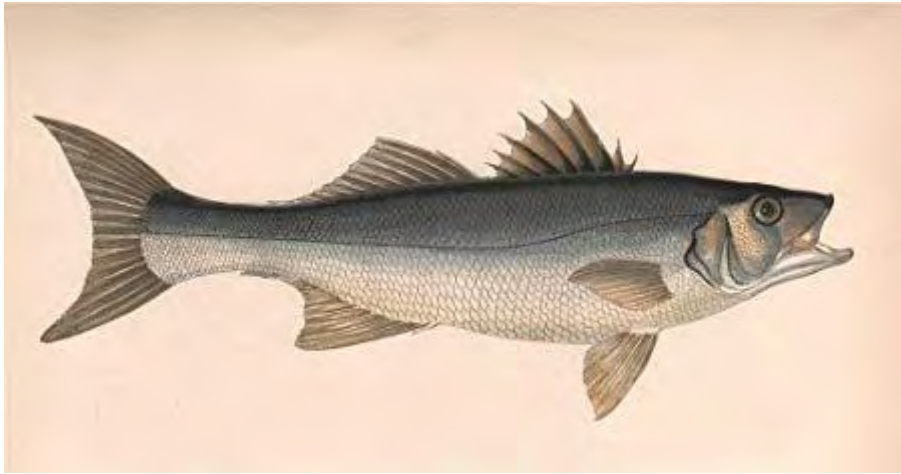
ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Μικροβιολογική ποιότητα και εμπορικός χρόνος ζωής
μαριναρισμένων με οξικό οξύ φιλέτων λαβρακιού»**

(Microbiological quality and shelf-life of marinated with acetic acid
European Sea bass fillets)

ΚΟΪΤΣΑΝΟΥ ΕΥΣΤΑΘΙΑ

ΒΟΛΟΣ, 2018



«Μικροβιολογική ποιότητα και εμπορικός χρόνος ζωής μαριναρισμένων με οξικό οξύ φιλέτων λαβρακιού»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1) **Ιωάννης Μποζιάρης (M.Sc., Ph.D.)**, Επίκουρος Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*.
- 2) **Κωνσταντίνος Κορμάς (Δρ.)**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Φτάνοντας στο τέλος της συγγραφής της παρούσας προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να , θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στους ανθρώπους που συνέβαλλαν έμπρακτα στην προσπάθεια αυτή.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Ιωάννη Μποζιάρη, για την πολύτιμη βοήθειά του και την υποστήριξή του, καθώς και για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον και πολύπλευρο αντικείμενο.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη, για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά της, κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, καθώς επίσης και για τις εξαιρετικά χρήσιμες συμβουλές και την στήριξή της κατά τη διάρκεια συγγραφής της συγκεκριμένης διπλωματικής προπτυχιακής εργασίας.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου για την υποστήριξη που παρείχαν κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου προς την οικογένειά μου που μου έδειξε αμέριστη συμπαράσταση και με στήριξε καθ' όλη τη διάρκεια συγγραφής της συγκεκριμένης εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αλλοίωση στα νωπά αλιευτικά προϊόντα οφείλεται στη μεταβολική δραστηριότητα των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών. Ο βαθμός αλλοίωσης των προϊόντων προσδιορίζεται με οργανοληπτικές, μικροβιολογικές και χημικές μεθόδους. Στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν τρεις (3) μέθοδοι συντήρησης για τη διερεύνηση του εμπορικού χρόνου ζωής οξυνισμένων φιλέτων λαβρακιού συντηρημένα στους 4°C υπό συσκευασία κενού. Η ψύξη είναι ένα μέσο για τη διατήρηση των ιχθύων πριν την επεξεργασία ή την κατανάλωση. Όταν ένας ιχθύς αποθηκεύεται σε χαμηλή θερμοκρασία, τόσο οι ενζυμικές όσο και οι χημικές αντιδράσεις, καθώς και η μικροβιακή ανάπτυξη, επιβραδύνονται. Η οξύνιση μεταβάλλει το pH (μείωση) με αποτέλεσμα να δημιουργούνται αντίξοες συνθήκες για την αύξηση των αλλοιογόνων μικροοργανισμών. Τέλος οι αναερόβια συντήρηση σε κενό επιβραδύνει την μικροβιακή ανάπτυξη με αποτέλεσμα να καθυστερεί η αλλοίωση των προϊόντων. Φιλέτα λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) υπέστησαν μαρινάρισμα με διάλυμα ξυδιού περιεκτικότητας 3% οξικού οξέος και συντηρήθηκαν στους 4°C υπό VP για μία περίοδο σαράντα (40) ημερών. Η αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών δεν έδειξε κάποια αισθητή διαφορά στην ποιότητα των φιλέτων. Επιπροσθέτως δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική μικροβιακή αλλοίωση καθώς ο μικροβιακός πληθυσμός των φιλέτων βρέθηκε κάτω του ορίου ανίχνευσης. Συγκεκριμένα, την πρώτη μέρα (d₀) αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά ως 'Άριστα'. Κατά τη διάρκεια της συντήρησης, τα δείγματα παρέμειναν σε 'Άριστη' κατάσταση έως την όγδοη μέρα (d₈). Στην πορεία της συντήρησης άρχισε να λαμβάνει χώρα υποβάθμιση με αποτέλεσμα τις ημέρες, δέκατη έκτη (d₁₆), εικοστή τέταρτη (d₂₄), τριακοστή δεύτερη (d₃₂) η κατάσταση των δειγμάτων να χαρακτηριστεί 'Καλή'. Την

τεσσαρακοστή μέρα (d₄₀) τα δείγματα αξιολογήθηκαν ως ‘Αποδεκτά’. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης καταδεικνύουν πως ο εμπορικός χρόνος ζωής των οξυνισμένων φιλέτων λαβρακιού συντηρημένων στους °C και υπό συνθήκη VP είναι σαράντα (40) ημέρες.

Λέξεις-κλειδιά: *Λαβράκι (Dicentrarchus labrax), Μαρινάρισμα, Οξικό οξύ, Συσκευασία κενού*

ABSTRACT

Fresh fish spoilage is caused by the metabolic activity of microorganisms. The degree of spoilage is determined by sensory, microbiological and chemical analysis. In the present study were used three (3) preservation methods for the investigation of the self life of marinated sea bass preserved at 4°C under vacuum packaging (VP). Chilling is a mean to preserve fish before processing or consumption. When fish is stored at low temperatures, both enzymatic and chemical reactions and microbial are inhibited. The marination process alter the pH (decrease) and as a result the spoilage organisms are unable to increase. Furthermore, the anaerobic preservation under VP packing hinders the microbial augmentation and as a result the spoilage is delayed. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets were marinated with vinegar, solution 3% v/v in acetic acid and preserved at 4°C under VP for a period of forty (40) days. The evaluation of the organoleptic characteristics did not show any major changes in the quality of the fillets. Also, no significant microbial spoilage was observed, as the population of the spoilage microorganisms was under the detection level. Specifically, the first day (d₀) the fillets were evaluated as 'Excellent'. The following days the samples were evaluated as 'Excellent' until day eight (d₈). In the course of the days sixteen (d₁₆), twenty-four (d₂₄) and thirty-two (d₃₂) a degradation started taking place and as result the condition of the products was characterized as 'Good'. At day forty (d₄₀) were evaluated as 'Acceptable'. The results of this study indicate that the commercial shelf-life of marinated sea bass fillets preserved at 4°C under VP were forty (40) days.

Keywords: *Sea bass (Dicentrarchus labrax), Marination, Acetic acid, Vacuum packaging*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	7
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Γενικά στοιχεία για τους οστεϊχθύες	10
1.2 Στοιχεία βιολογίας του <i>Dicentrarchus labrax</i> (λαβράκι)	11
1.3 Οικονομική σημασία του <i>Dicentrarchus labrax</i>	12
1.4 Διατροφική αξία <i>Dicentrarchus labrax</i>	12
1.5 Μικροβιακή αλλοίωση τροφίμων	13
1.6 Μικροβιακή αλλοίωση οστεϊχθύων	15
1.7 Μικροβιακή αλλοίωση λαβρακιού (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	16
1.8 Διερεύνηση του μικροβιακού πληθυσμού	17
1.9 Χημικοί δείκτες αλλοίωσης	19
1.10 Ειδικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί (EAM)	20
1.11 Τεχνολογία εμποδίων και μέθοδοι συντήρησης αλιευμάτων	21
1.11.1 Ψύξη.....	22
1.11.2 Τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) και Vacuum packaging	23
1.11.4 Συντήρηση με θέρμανση.....	23
1.11.5 Συντήρηση με αλάτιση, κάπνιση και οξύνιση	24
1.11.6 Συντήρηση με χημικά συντηρητικά	25

1.11.7 Ξύδι.....	26
1.12 Σκοπός της εργασίας.....	27
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	28
2.1 Γενικά.....	28
2.2 Μικροβιολογική ανάλυση.....	29
2.2.1 Προετοιμασία θρεπτικών	29
2.2.2 Προετοιμασία θρεπτικών	35
2.2.3 Επώαση δειγμάτων και απαρίθμηση μικροβιακών πληθυσμών	35
2.3 Μέτρηση pH	36
2.4 Οργανοληπτική ανάλυση	36
2.5 Μαρινάρισμα	37
2.6 Συσκευασία και συντήρηση.....	37
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	38
3.1 Οργανοληπτική ανάλυση	38
3.2 Μικροβιολογική αξιολόγηση	39
3.3 Προσδιορισμός pH.....	40
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	42
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	46
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	47

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά στοιχεία για τους οστεϊχθύες

Η τάξη των οστεϊχθύων αποτελεί την μεγαλύτερη ομάδα ιχθύων και περιλαμβάνει 160 οικογένειες και 16 υποτάξεις. Οι πρώτοι οστεϊχθύες εμφανίστηκαν και ξεκίνησαν να διαφοροποιούνται στο τέλος της Κρητιδικής περιόδου. Σήμερα είναι γνωστά περισσότερα από 6.000 είδη τα περισσότερα κατοικούν σε παράκτια θαλάσσια ύδατα ενώ 2.000 είδη σε εσωτερικά και 2.200 κατοικούν σε εσωτερικά νερά για ένα μέρος της ζωής τους. Παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές σε μέγεθος λόγω των διαφορετικών ενδιαιτημάτων στα οποία κατοικούν καθώς συναντώνται παγκοσμίως. Η ευρεία εξάπλωσή τους τα καθιστά σημαντικά τόσο για την οικολογική ισορροπία του περιβάλλοντος στο οποίο διαβιούν όσο και για την οικονομική τους αξία για τον άνθρωπο.

Η φύση και η ποικιλομορφία των οστεϊχθύων κάνουν τον διαχωρισμό τους πιο δύσκολο. Τα πιο κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά συναντώνται στις μεγαλύτερες οικογένειες πχ. *Moronidae*, *Scombridae*, *Serranidae*. Στους οστεϊχθύες συναντώνται αγκάθια συνήθως ραχιαίο, ουραίο και κοιλιακό πτερύγιο το οποίο χωρίζεται σε δύο μέρη. Τα πτερύγια τους στηρίζονται από ακτίνες και φέρουν θωρακικά κοιλιακά πτερύγια. Τα πλευρικά πτερύγια είναι τοποθετημένα ψηλά στις πλευρές και συνήθως φέρουν κτενοειδή λέπια ενώ τα κοιλιακά προσδίδουν την δυνατότητα ελιγμού σε μικρές αποστάσεις. Επιπλέον παρατηρούνται μορφολογικές διαφορές στα στόματα των ιχθύων λόγω των διαφορετικών διατροφικών συνηθειών, παρόλο που τα περισσότερα εμφανίζουν γνάθους που προεξέχουν.

Οι οστεϊχθύες έχουν μεγάλη οικονομική αξία λόγω της ευρείας κατανάλωσής και της συνεχούς ζήτησής τους. Το γεγονός πως αρκετά είδη οστεϊχθύων εκτρέφονται

επιτυχώς σε ιχθυοκαλλιέργειες ανοιχτού τύπου, ημιεντατικές και εντατικές, τα καθιστά ένα οικονομικά σημαντικό εμπόρευμα.

1.2 Στοιχεία βιολογίας του *Dicentrarchus labrax* (λαβράκι)

Το είδος *Dicentrarchus labrax* συναντάται κυρίως στην Μεσόγειο και τη Μαύρη θάλασσα καθώς και στην ανατολικές ακτές του Ατλαντικού ωκεανού. Το λαβράκι είναι ένα ευπροσάρμοστο και ανθεκτικό είδος ψαριού και γι' αυτό το λόγο προτιμάται σε πολλά είδη ιχθυοκαλλιέργειας. Είναι βενθικό είδος που συναντάται σε παράκτια νερά καθώς και σε εκβολές ποταμών και λιμνοθάλασσες.

Η φυσιολογία του λαβρακιού χαρακτηρίζεται από ένα ατρακτοειδές αποστρογγυλεμένο σώμα το οποίο παρουσιάζει δυο (2) αγκάθια στο βραγχιοκάλυμμα και δύο (2) ισοϋπή ραχιαία πτερύγια. Τα χρώματα που κυριαρχούν είναι: γκρι στην ράχη, ασημί στις πλευρές, λευκό στην κοιλιά και εμφανίζεται μία μαύρη κηλίδα στο τέλος τους βραγχιοκαλύμματος.

Είναι ένα αρπακτικό είδος κατά συνέπεια είναι σαρκοφάγο και τρέφεται με ποικιλία ψαριών, καλαμαριών και οστρακοειδών.

Είναι πρωτανδρικό αλλά και γονοχωριστικό είδος, αναπαράγεται την περίοδο μεταξύ Ιανουαρίου – Απριλίου. Η διαδικασία της γενετικής ωρίμανσης διαρκεί στα αρσενικά δύο (2) χρόνια ενώ στα θηλυκά τέσσερα (4).



Εικόνα 1.1 Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*)

1.3 Οικονομική σημασία του *Dicentrarchus labrax*

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί μία ανοδική πορεία στην παγκόσμια παραγωγή λαβρακιού με κύριες χώρες παραγωγής την Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία και Τουρκία. Συγκεκριμένα η παγκόσμια παραγωγή το 2014 έφτασε τους 147.449 τόνους (FAO). Η εξέλιξη νέων τεχνολογικών μεθόδων συντήρησης και μεταποίησης αλιευμάτων κάνουν εφικτή την παραγωγή και εξαγωγή προϊόντων κατάλληλων για ανθρώπινη κατανάλωση. Επιπλέον η χρήση νέων τεχνολογιών στις ιχθυοκαλλιέργειες επισπεύδει την αλίευση και την αρχική διατήρηση των ιχθύων χωρίς να υπάρχει σοβαρή επιμόλυνση. Τέλος η υψηλή θρεπτική αξία του λαβρακιού το κάνει ιδανικό για μία υγιεινή διατροφή.

1.4 Διατροφική αξία *Dicentrarchus labrax*

Το λαβράκι αποτελεί ένα υψηλής διατροφικής ποιότητας τρόφιμο καθώς είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά και έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, γεγονός που τα καθιστά μία αρκετά υγιεινή επιλογή σε σχέση με το κρέας. Ως σαρκοφάγο ψάρι η σάρκα του είναι ανώτερης ποιότητας.

- Είναι πλούσιο σε ανόργανα στοιχεία όπως Μαγνήσιο, ενισχύει την ενζυμική δράση, Φώσφορο, Κάλιο, Νάτριο, Ψευδάργυρο και εμφανίζει υψηλά ποσοστά Σεληνίου το οποίο έχει αντιοξειδωτική και αντιτοξική δράση.
- Το κρέας του είναι άπαχο έως ημι-λιπαρό. Το λίπος του περιέχει 50-60% ελαϊνη, πολλά ω-3 και ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως EPA και DHA και λινολεϊκό οξύ. Επίσης περιέχονται και κάποια μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA).
- Έχει καλής ποιότητας πρωτεΐνες και αμινοξέα όπως λυσίνη, ιστιδίνη, λευκίνη, αργινίνη και τρυπροφάνη τα οποία είναι απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό.
- Περιέχει ελάχιστες ποσότητες υδατανθράκων γεγονός που τα καθιστά μία υγιεινή επιλογή.
- Τέλος, είναι πλούσια σε βιταμίνες κυρίως A (ρετινόλη) , βιταμίνες του συμπλέγματος B κυρίως B₁₂,B₆ (πυριδοξίνη) και B₅ (παντοθενικό οξύ) που συμβάλλει στην καλύτερη λειτουργία του μεταβολισμού όπως και B₁ (θειαμίνη) και B₃ (νιασίνη). Επιπλέον συναντώνται και οι βιταμίνες P (βιοφλαβονοειδή) και E η οποία έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

1.5 Μικροβιακή αλλοίωση τροφίμων

Τα τρόφιμα είναι πολύπλοκα συστήματα – μίγματα χημικών συστατικών τα οποία είναι απαραίτητα για την ομαλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Εκτός από τα δομικά συστατικά που παρέχουν για τον μυϊκό ιστό και τα απαραίτητα στοιχεία για την ορθή λειτουργία του μεταβολισμού, εξυπηρετούν τον άνθρωπο είτε συμβάλλοντας στην ανάπτυξη και διασφάλιση της ποιότητας της υγείας του, είτε προμηθεύοντάς τον απαιτούμενη ενέργεια για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του οργανισμού του.

Τα τρόφιμα, όντας θεμελιώδεις συστατικό της ύπαρξης μας, είναι απαραίτητο να εξασφαλίζεται και να διαφυλάσσεται η ποιότητά τους. Ποιότητα του τροφίμου χαρακτηρίζεται ως το σύνολο εκείνων των χαρακτηριστικών. θρεπτικότητα και οργανοληπτικά στοιχεία, που έχουν σημασία για τον καθορισμό του βαθμού αποδεκτότητας του καταναλωτή. Εξαρτάται δε από την ποιότητα των πρώτων υλών και την τεχνολογία παραγωγής, ενώ εκφράζεται με τα χαρακτηριστικά του γνωρίσματα όπως είναι το άρωμα, η γεύση, η σύσταση κ.α. Η ποιότητα ενός τροφίμου αποτελεί την οριακή «συνισταμένη των επιμέρους ποιοτήτων» των υλικών και των μεθόδων τεχνολογίας που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή ενός προϊόντος. Οι επεξεργασίες παραγωγής και συντήρησης των τροφίμων πρέπει να είναι κατάλληλες ώστε να καθυστερούν την αλλοίωση των τροφίμων και να παρέχουν προϊόντα ασφαλή με υψηλό βαθμό αποδοχής από τον καταναλωτή. Η αποδεκτότητα γίνεται αντιληπτή με τις αισθήσεις , δηλαδή τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτού (εμφάνιση, οσμή, γεύση, χρώμα ,υφή).

Ως αλλοίωση των τροφίμων θεωρείται η υποβάθμιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών που τα στερεί από τις υψηλές και αποτελεσματικές ιδιότητές τους και τα καθιστά ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση (Huis in't Veld 1996). Τα θαλασσινά προϊόντα είναι τα πιο ευπαθή σε σύγκριση με άλλα ζωικά προϊόντα. Για το λόγο αυτό απαιτούνται πολύ προσεκτικοί χειρισμοί καθ' όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας τους. Η υποβάθμιση της ποιότητας των προϊόντων μπορεί να προκληθεί κυρίως λόγω της δράσης αλλοιογόνων μικροοργανισμών (μικροβιολογικό αίτιο), ενδογενών ενζύμων (αυτόλυση) και μη ενζυματικών αιτίων όπως η οξείδωση των λιπών) (Ashie et al. 1996, Gram et al 1996).

1.6 Μικροβιακή αλλοίωση οστεϊχθύων

Το ψάρι θεωρείται ένα ιδιαίτερα ευαλλοίωτο τρόφιμο λόγω της αυτόλυσης, οξείδωσης, υδρόλυσης του λίπους και μικροβιακής αλλοίωσης. Συγκεκριμένα λόγω των φυσικοχημικών του χαρακτηριστικών αποτελεί εξαιρετικό θρεπτικό μέσο για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Η μεγάλη ποικιλία μικροβιακών ειδών προέρχεται από την φυσιολογική κατάσταση του ζώου κατά τη διάρκεια της εκτροφής, συλλογής, επεξεργασίας, μετακίνησης, διατήρησης και αποθήκευσης του (Nychas et al., 2007, 2008; Doulgeraki et al., 2011; Casaburet al., 2015; Remenant et al., 2015). Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών και η μεταβολική τους δραστηριότητα έχουν ως αποτέλεσμα των σχηματισμό αμινών, σουλφιδίων, αλκοολών, αλδευδών, κετονών και οργανικών οξέων. Η μικροβιακή αλλοίωση μπορεί να ανιχνευθεί από τον αποχρωματισμό της σάρκας, την ύπαρξη βλέννας και από την ύπαρξη αποικιών.

Είναι κοινός αποδεκτό πως η σάρκα των πρόσφατα συλλεχθέντων ψαριών είναι στείρα μικροβίων αλλά το δέρμα τα βράγχια και το πεπτικό σύστημα φέρουν μικροοργανισμούς. Συγκεκριμένα το μικροβιακό φορτίο του δέρματος ανέρχεται σε $10^2 - 10^7 \text{ cm}^2$, των βραγγίων σε $10^3 - 10^6$ ανά γραμμάριο ιστού και τέλος του πεπτικού σε $10^3 - 10^8$ ανά ml περιεχομένου. Η επιμόλυνση και κατ' επέκταση η αλλοίωση ξεκινά από την έλλειψη συνθηκών υγιεινής που επικρατούν στο αλιευτικό σκάφος κατά την αλίευση και αρχική αποθήκευση στον πάγο των ιχθύων. Επιπλέον η έλλειψη της διαδικασίας της απεντέρωσης, με την οποία μπορεί να αποφευχθεί η περαιτέρω μόλυνση και η απουσία τήρησης κανόνων υγιεινής στις αποβάθρες, ενισχύουν την πιθανότητα μόλυνσης και αυξάνουν τον κίνδυνο της αλλοίωσης.

Επιπλέον παράγοντες που επηρεάζουν την αλλοίωση των ιχθύων είναι το η συγκέντρωση λιπιδίων στη σάρκα, η φθορά τους από τα δίχτυα κατά την διάρκεια της σύλληψης, το stress στο οποίο έχουν υποβληθεί και η καταπόνηση.

Συμπερασματικά , όσο μεγαλύτερο είναι το μικροβιακό φορτίο τόσο συντομότερα εμφανής είναι η αλλοίωση.

1.7 Μικροβιακή αλλοίωση λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*)

Το λαβράκι είναι ένα από τα σημαντικότερα εμπορεύσιμα είδη οστεϊχθύων με παγκόσμια παραγωγή 71,581 τόνους το 2014 (FAO). Όπως όλα τα ψάρια έτσι και το λαβράκι λόγω της φυσικοχημικής του σύστασης είναι ευαλλοιώτο, στην αλλοίωση του οποίου συμβάλλουν πολλοί μικροοργανισμοί. Η αρχική μόλυνση εξαρτάται από την φυσιολογική κατάσταση του ζώου, τον τρόπο και τα εργαλεία με τα οποία επεξεργάζονται τη σάρκα του.

Οι παράμετροι στις οποίες οφείλεται η μικροβιακή αλλοίωση είναι:

- Το νερό και η ενεργότητα (a_w) του η οποία επηρεάζει σημαντικά την δράση των μικροοργανισμών καθώς όταν μειώνεται, μειώνεται και ο ρυθμός ανάπτυξης τους.
- Το pH αποτελεί έναν ακόμη σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Το pH στη σάρκα των ιχθύων κυμαίνεται από 5.5 – 6.5 και είναι ιδανικό για την ανάπτυξη των αλλοιογόνων βακτηρίων. Με την μείωση του pH (όξυνση) μειώνεται και ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών.
- Οι πρωτεΐνες, το μη πρωτεϊνικό άζωτο (NPN), οι βιταμίνες, τα λίπη και τα οργανικά οξέα, τα οποία αποτελούν θρεπτικούς παράγοντες και συμβάλλουν στην ανάπτυξη των βακτηρίων.
- Επιπροσθέτως, ο χαμηλός βαθμός ύπαρξης συνδετικού ιστού , που κυριαρχεί στα ψάρια, τα κάνει πιο επιρρεπή στην αλλοίωση.
- Τέλος η θερμοκρασία και το οξυγόνο αποτελούν πολύ σημαντικούς παράγοντες αλλοίωσης. Οι θερμοκρασίες συντήρησης κυμαίνονται από 2 – 7 °C και κατά τη διάρκεια της συντήρησης μπορούν να αναπτυχθούν ψυχρόφιλα βακτήρια όπως

Pseudomonas. Στην ύπαρξη οξυγόνου μπορούν να αναπτυχθούν αερόβια βακτήρια, ενώ στην απουσία του αναερόβια όπως τα *Enterobacteriaceae*.

Η αλλοίωση ξεκινά με τον θάνατο του ζώου και είναι μία διαδικασία που περιλαμβάνει τον ιστό του ζώου και βακτηριακά ένζυμα. Ο ιστός και τα ένζυμα της πέψης είναι τα πρώτα που ξεκινούν την αλλοίωση και παράγουν μικρού μοριακού βάρους καταβολίτες οι οποίοι αποτελούν το κατάλληλο υπόστρωμα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι καταβολίτες αυτοί προέρχονται από εκχύσεις της σάρκας όπως είναι η ινοσίνη, ριβόζη, γαλακτικό, κρεατίνη, ουρία, καρνοσίνη, ελεύθερα αμινοξέα και τρυμεθυλαμίνη (TMA) (Comi, 2016).

Τα στάδια της αλλοίωσης είναι δύο. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την αυτολυτική διαδικασία που προκαλείται από τα ενδογενή ένζυμα, τα οποία δημιουργούν κατάλληλο υπόστρωμα για την ανάπτυξη των βακτηρίων. Το δεύτερο στάδιο καθορίζεται από την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Με την θανάτωση του ιχθύος το οξυγόνο που βρίσκεται στους μυς εξαντλείται, με αποτέλεσμα να ξεκινήσει η αναερόβια γλυκόλυση και να παραχθεί γαλακτικό οξύ ως συνέπεια το pH μειώνεται. Μετά την γλυκόλυση τα ενδογενή βακτήρια που έχουν ενεργοποιηθεί κατά την πτώση του pH προκαλούν την πρωτεόλυση. Συγκεκριμένα ο μεταβολισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) , επιφέρει απώλεια στην φρεσκάδα του ψαριού (Comi and Cattaneo, 2007). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται αποδόμηση του ATP σε φωσφο – ινοσίνη και στη συνέχεια σε υποξανθίνη στην οποία οφείλεται η πικρή γεύση της αλλοιωμένης σάρκας. Επιπλέον παράγεται αμμωνία που προέρχεται από τον μικροβιακό μεταβολισμό των αμινοξέων. Τέλος τα φωσφολιπίδια μετατρέπονται σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και βακτηριακές λιπάσες.

1.8 Διερεύνηση του μικροβιακού πληθυσμού

Οι μικροβιολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της μικροβιακής σύνθεσης ενός τροφίμου χαρακτηρίζονται ως κλασσικές. Οι κλασσικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται εδώ και πολλές δεκαετίες για την μελέτη της αλλοίωσης των θαλασσινών από μικροοργανισμούς. Περιλαμβάνει τη χρήση τεχνητών μέσων (εκλεκτικών, μη εκλεκτικών και υλικών διαφοροποίησης αποικιών) για την καλλιέργεια και απομόνωση των βακτηρίων από δείγματα θαλασσινών (Amann et al., 1995). Παρά το γεγονός ότι οι κλασσικές μέθοδοι καλλιέργειας είναι συνήθως οικονομικοί και απλοί υπάρχουν περιορισμοί στην χρήση τους (Law et al., 2014). Οι περιορισμοί είναι οι εξής:

- Η διαδικασία είναι χρονοβόρα (Odeyemi, Burke, Bolch et al., 2018)
- Επίπονη (Odeyemi, Burke, Bolch et al., 2018)
- Η αδυναμία της μεθόδου να εντοπίσει μη καλλιεργήσιμα βακτήρια (VBNC) στα θαλασσινά (Odeyemi, Burke, Bolch et al., 2018)
- Έλλειψη απαραίτητων παραγόντων για την ανάπτυξη βακτηρίων οι οποίοι δεν είναι διαθέσιμοι σε κάποια μέσα καλλιέργειας (Odeyemi, Burke, Bolch et al., 2018)
- Η αναπαραγωγικότητα, η ευαισθησία και οι περιορισμένες πληροφορίες (Kim et al., 2014; Lee et al., 2014)
- Οι κλασσικές μέθοδοι εμφανίζουν μόνο τα βιώσιμα βακτήρια και όχι τον συνολικό αριθμό (βιώσιμα και μη βιώσιμα) (Lee and Levin, 2007)
- Υπάρχει μεγάλο ρίσκο επιμόλυνσης κατά τη διαδικασία προετοιμασίας των θρεπτικών μέσων και των τρυβλίων, το οποίο μπορεί να περιορίσει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου (Zhao et al., 2014)

Για τους λόγους αυτούς είναι αναγκαία η εύρεση νέων ανεξάρτητων από τις κλασσικές μεθόδων, που θα έχουν την ικανότητα να δίνουν μία ταχύτερη, πιο ευαίσθητη και εμπειριστατωμένη εικόνα για της βακτηριακές αποικίες.

1.9 Χημικοί δείκτες αλλοίωσης

Η συσχέτιση της μικροβιακής ανάπτυξης και των χημικών αλλαγών κατά τη διάρκεια της αλλοίωσης αναγνωρίζονται ως δείκτες κατάλληλοι για την ποσοτικοποίηση της ποιότητας ιστού όπως και για τον βαθμό αλλοίωσης του (Marshall and Sofos, 2007). Συγκεκριμένα μέσω του προσδιορισμού των μεταβολικών προϊόντων, των μικροοργανισμών, που προκαλούν την αλλοίωση και την οργανοληπτική απόρριψη, είναι δυνατή η χρήση τους ως χημικοί δείκτες μικροβιακής αλλοίωσης. Οι κυριότεροι χημικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται ευρέως 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).

Τα χαρακτηριστικά ενός δείκτη αλλοίωσης θα πρέπει να είναι:

- Θα πρέπει να είναι απών ή να συναντάται σε χαμηλά επίπεδα στα φρέσκα και αναλλοίωτα δείγματα.
- Θα πρέπει να αυξάνεται καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης.
- Θα πρέπει να παράγεται από τη μικροβιακή χλωρίδα κατά τη διάρκεια της αλλοίωσης.
- Τέλος, θα πρέπει να έχει καλή συσχέτιση με τα αισθητήρια τεστ (Marshall and Sofos, 2007).

1.10 Ειδικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί (EAM)

Μεταξύ των μικροοργανισμών που κυριαρχούν κατά τη διαδικασία της αλλοίωσης μόνο αυτοί με την ικανότητα να παράγουν μεταβολίτες (δυνατότητα αλλοίωσης) ,σε ικανοποιητικές ποσότητες (δραστηριότητα αλλοίωσης) , ώστε να προκαλούν την οργανοληπτική απόρριψη μπορούν να θεωρηθούν ο κύριος λόγος αλλοίωσης. Αυτοί οι μικροοργανισμοί ονομάζονται Ειδικοί Αλλοιογόνοι Μικροοργανισμοί (ΑΕΜ) (Gram and Huss, 1996; Gram and Dalgaard, 2002). Οι EAM μπορεί να ανήκουν μόνο σε ένα μικροβιακό γένος ή είδος, σε αντίθεση με την μικροχλωρίδα αλλοίωσης που μπορεί να αποτελείται από περισσότερα από ένα μικροβιακά group, γένη και είδη (Dalgaard, 2003). Είναι ένα μικρό μέρος της αρχικής μικροχλωρίδας που αναπτύσσεται γρήγορα κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες αποθήκευσης, φτάνει σε υψηλό επίπεδο και γίνεται το μεγαλύτερο μέρος του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού το οποίο στη συνέχεια παράγει μεταβολίτες (CSIs) οι οποίοι προκαλούν την οργανοληπτική απόρριψη του προϊόντος.

Ο χρόνος που απαιτείται ώστε να φτάσουν οι EAM το ελάχιστο επίπεδο αλλοίωσης, συμπίπτει με την συγκέντρωση των μεταβολιτών που προκαλούν αισθητήρια απόρριψη, καθορίζει τη διάρκεια ζωής ενός προϊόντος. Για διαφορετικά είδη, διαχειρίσεις και αποθηκευτικές συνθήκες, κυριαρχούν διαφορετικοί EAM, επίπεδα αλλοίωσης και CSIs (Boziaris and Parlapani, 2016).

Ο διαχωρισμός των EAM από την υπόλοιπη κυρίαρχη μικροχλωρίδα είναι μία περίπλοκη διαδικασία η οποία δεν έχει διευκρινιστεί και καταγραφθεί στις περισσότερες έρευνες. Η σύγκριση των μεταβολικών προϊόντων μεταξύ των εμβολιασμένων ή του πρότυπου υποστρώματος ιχθύων είναι απαραίτητη (Gram and Huss, 1996; Dalgaard, 2003). Συνεπώς σε πολλές περιπτώσεις οι EAM και οι κυρίαρχες μικροχλωρίδες αλλοίωσης θεωρούνται τυπικά συνώνυμα.

Οι κυρίαρχοι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί που οφείλονται για την υποβάθμιση της ποιότητας του λαβρακιού που βρέθηκαν σε οργανικές εκτροφές είναι κυρίως του είδους *Pseudomonas* spp. και βακτήρια που παράγουν H₂S (Kostaki et al., 2003; Roumis et al., 2005; Parlapani et al., 2014). Επιπλέον σε δείγματα που προήλθαν από τον Ατλαντικό ωκεανό πέρα από *Pseudomonas* sp. βρέθηκαν και *Aeromonas* sp. όπως και *S.putrefaciens*.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη συγκεκριμένων αλλοιογόνων μικροοργανισμών είναι (Boziaris and Parlapani, 2016):

- Η αρχική σύνθεση της μικροχλωρίδας η οποία εξαρτάται από την περιοχή προέλευσης των ψαριών και της επιμόλυνσης μετά την αλίευση.
- Μέτρα που έχουν ληφθεί για την εμπόδιση της πρόωμης αλλοίωσης.
- Η θερμοκρασία και η ατμοσφαιρική κατάσταση κατά την αποθήκευση και διανομή των ιχθύων.
- Τέλος, η σύνθεση του υποστρώματος και η μικροβιακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλλοιογόνων βακτηρίων.

1.11 Τεχνολογία εμποδίων και μέθοδοι συντήρησης αλιευμάτων

Τα αλιεύματα αποτελούν ένα αναπόσπαστο κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής, ιδιαίτερα στις ανεπτυγμένες χώρες και αναγνωρίζεται παγκοσμίως ως ένα υγιεινό και νόστιμο φαγητό (Vidaček and Jančić, 2016).

Είναι γνωστό πως η κύρια αιτία αλλοίωσης των αλιευμάτων είναι η μικροβιακή δραστηριότητα. Παρ' όλα αυτά η μικροβιακή δραστηριότητα στα τρόφιμα μπορεί να διαχειριστεί με τον έλεγχο των συνθηκών που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των μικροοργανισμών (Boziaris, 2016). Περιοριστικοί παράγοντες

χρησιμοποιούνται ώστε να περιορίζουν ή να καθυστερούν την αλλοίωση, συγκεκριμένα , κάθε περιοριστικός παράγοντας μπορεί να θεωρηθεί ως ένα εμπόδιο που προστατεύει το τρόφιμο από τους μικροοργανισμούς (Leistner, 1992). Οι περιοριστικοί παράγοντες ή αλλιώς εμπόδια, χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό 2-3 και επεκτείνουν τον εμπορικό χρόνο ζωής , παράλληλα με την εξασφάλιση της υγιεινής και ασφάλειας του προϊόντος.

Η εφαρμογή των απαιτούμενων εμποδίων καθορίζει και τις μεθόδους συντήρησης των αλιευμάτων.

1.11.1 Ψύξη

Με την εφαρμογή της ψύξης πραγματοποιείται επιβράδυνση της μικροβιακής ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Επιπλέον συμβαίνει επιβράδυνση της χημικής και ενζυμικής δραστηριότητας. Συγκεκριμένα στη συντήρηση με ψύξη έχουμε τοποθέτηση των ιχθύων σε θερμοκρασίες 0 - 17°C καθώς καθυστερεί την μικροβιακή ανάπτυξη με αποτέλεσμα να παρατείνει τον εμπορικό χρόνο ζωής του προϊόντος. Εκτός από τον ρυθμό ανάπτυξης των βακτηρίων, η ψύξη επιδρά και στη σύνθεση του τελικού πληθυσμού της μικροχλωρίδας αλλοίωσης και λειτουργεί ως εκλεκτικός παράγοντας. Η άμεση ψύξη των αλιευμάτων επιβάλλεται καθώς:

- Καθυστερεί τις διεργασίες αλλοίωσης.
- Επιβραδύνει την νεκρική ακαμψία, υπάρχει χαμηλή παραγωγή γαλακτικού οξέος με αποτέλεσμα την ηπιότερη βράχυνση των μυών.
- Τέλος, προλαμβάνει την δημιουργία βιογενών αμινών.

Η μέθοδοι ψύξεως των αλιευμάτων είναι: (1) σε πάγο, (2) βύθισμα ή ψεκάσμος με θαλασσινό νερό ή άλμη σε θερμοκρασία $-1-0^{\circ}\text{C}$, (3) υπερψύξη -2.2°C , (4) με ψυχρό αέρα (φυσική κυκλοφορία) στους $-1 - -1^{\circ}\text{C}$.

1.11.2 Τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) και Vacuum packaging

Τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) είναι ο εγκλεισμός του τροφίμου σε υμένα χαμηλής περατότητας με την προσθήκη αερίων O_2 , CO_2 , N_2 . Η σύνθεση της ατμόσφαιρας μέσα στη συσκευασία καθορίζει την έκταση και τον τύπο της μικροβιακής αλλοίωσης που λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και λειτουργεί ως εκλεκτικός παράγοντας για τον βακτηριακό πληθυσμό. Συγκεκριμένα τα αέρια που χρησιμοποιούνται δρουν ως:

- Το O_2 περιορίζει την ανάπτυξη των αυστηρά αναερόβιων μικροοργανισμών. Η υψηλή συγκέντρωσή του όμως μπορεί να προκαλέσει οξείδωση και τάγγιση των λιπιδίων.
- Το CO_2 αποτελεί βακτηριοστατικό παράγοντα, παρατείνοντας τη φάση προσαρμογής ή και τον χρόνο διπλασιασμού των κυττάρων των μ/ο.
- Το N_2 δεν παρουσιάζει μικροβιακή δράση και δεν επιδρά στο χρώμα των ιστών των ιχθύων.

Vacuum Packaging είναι η διαδικασία κατά την οποία μειώνεται η μερική πίεση των ατμοσφαιρικών αερίων όπως το οξυγόνο O_2 .

1.11.4 Συντήρηση με θέρμανση

Με την θερμική επεξεργασία επιτυγχάνουμε θερμική καταστροφή βλαστικών μορφών και σπορίων μ/ο ανάλογα με την έντασή της. Η θερμική επεξεργασία εκτός από την διασφάλιση της υγιεινής και ασφάλειας του προϊόντος καθώς και της

αύξησης του εμπορικού χρόνου ζωής, οδηγεί και στην παρασκευή νόστιμης και εύπεπτης τροφής. Με την θερμική επεξεργασία επιτυγχάνεται:

- Αδρανοποίηση των παθογόνων μ/ο (βλαστικών μορφών και σπορίων).
- Μείωση του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού.
- Καταστροφή παρασίτων.
- Καταστροφή τοξικών ουσιών.
- Αδρανοποίηση ενζύμων.
- Βελτίωση οργανοληπτικών ιδιοτήτων.

Η αρνητική πλευρά των θερμικών επεξεργασιών πχ. Ζεμάτισμα, παστερίωση, αποστείρωση, είναι πως καταστρέφεται ένα μέρος των θρεπτικών ουσιών των ιχθύων.

1.11.5 Συντήρηση με αλάτιση, κάπνιση και οξύνιση

1.11.5.1 Αλάτιση

Πραγματοποιείται με την προσθήκη άλατος ,NaCl, το οποίο μειώνει την ενεργότητα του νερού (a_w) η οποία με τη σειρά της παρεμποδίζει την ανάπτυξη μικροοργανισμών και αναστέλλει τη βακτηριακή δράση. Η αλάτιση μπορεί να είναι ξηρή (λεπτό αλάτι) ή υγρή (άλμη) και επηρεάζεται από τους εξής παράγοντες:

- Την καθαρότητα του άλατος που προορίζεται για την αλάτιση.
- Τους μ/ο που βρίσκονται στο αλάτι.
- Τη θερμοκρασία που κυριαρχεί κατά τη διαδικασία του αλατίσματος, υψηλή θερμοκρασία υψηλότερη διάχυση του άλατος. Ιδανική θερμοκρασία 4-18 °C.
- Τα χαρακτηριστικά προετοιμασίας της πρώτης ύλης πχ. επιδερμίδα, μέγεθος τεμαχίων, φρεσκότητα των ψαριών.
- Τέλος, από τις συνθήκες ωρίμανσης, το χρονικό διάστημα αποθήκευσης του προϊόντος πριν δοθεί για κατανάλωση.

1.11.5.2 Κάπνιση

Η διεργασία της κάπνισης είναι συνήθως εφαρμογή συνδυασμού εμποδίων όπως η μειωμένη ενεργότητα νερού διότι κατά τη διάρκεια της πραγματοποιείται αφυδάτωση των προϊόντων. Η κάπνιση μπορεί να είναι θερμή (θερμική επεξεργασία), ψυχρή (ψυχρή κάπνιση) και υγρή (ψεκασμός). Ο καπνός εμπεριέχει διάφορες αντιμικροβιακές

ουσίες οι οποίες μπορεί να είναι διάφορες φαινολικές ή καρβονυλικές ουσίες όπως: η φορμαλδεΰδη, διάφορα οξέα και κερσόλες.

1.11.5.3 Οξύνιση

Η συντήρηση με οξύνιση ή οξέωση ή μαρινάρισμα είναι ένας τρόπος συντήρησης που βασίζεται στις αντιμικροβιακές ιδιότητες των οργανικών οξέων. Πραγματοποιείται συνήθως με ξύδι, το οποίο περιέχει 5-6% οξικό οξύ. Τα ασθενή οργανικά οξέα μικρού μοριακού βάρους όπως το οξικό οξύ (ξύδι), το κιτρικό (λεμόνι), το προπιονικό και γαλακτικό οξύ, περιλαμβάνονται στα κυριότερα οξέα που χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τη συντήρηση των ιχθύων. Είναι πιο αποτελεσματικά σε όξινο περιβάλλον γι' αυτό το λόγο είναι και πιο δραστικά έναντι των μ/ο καθώς εισέρχονται στο εσωτερικό των κυττάρων.

1.11.6 Συντήρηση με χημικά συντηρητικά

Χημικά συντηρητικά θεωρούνται οι ουσίες οι οποίες αναστέλλουν την ανάπτυξη των μ/ο και παρεμποδίζουν τις ενζυμικές αντιδράσεις με αποτέλεσμα να επιβραδύνουν ή να σταματούν την αλλοίωση. Τέτοιες ουσίες είναι τα αντιοξειδωτικά, τα οξέα και τα πρόσθετα που σχηματίζουν χηλικές ενώσεις. Οι προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούν τα συντηρητικά των τροφίμων είναι:

- Να αποτελούν μία οικονομική και συμφέρουσα μέθοδο συντήρησης των τροφίμων.
- Να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στις περιπτώσεις που οι άλλες μέθοδοι συντήρησης είναι ανεπαρκείς ή μη εφαρμόσιμες.
- Να μην υποβαθμίζουν την ποιότητα των τροφίμων όσον αφορά το χρώμα, το άρωμα και τη γεύση.
- Να είναι ευδιάλυτα και να κατανέμονται ομοιόμορφα στα τρόφιμα που χρησιμοποιούνται.
- Να μπορούν να προσδιοριστούν εύκολα.
- Να μην εμποδίζουν τη δράση των ενζύμων της πέψης.
- Να μην διασπώνται ή αντιδρούν με άλλα συστατικά ώστε να σχηματίζονται ουσίες με μεγαλύτερη τοξικότητα.
- Τέλος, να έχουν ευρύ βακτηριοστατικό φάσμα, ώστε να αναστέλλουν την ανάπτυξη όσο το δυνατό περισσότερων παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών.

Τα κυριότερα αντιμικροβιακά συντηρητικά είναι το βενζοϊκό οξύ και τα άλατά του, το σορβικό οξύ και τα άλατά του, το οξικό οξύ, το γαλακτικό οξύ, το προπιονικό οξύ και τα άλατά τους, να νιτρικά – νιτρώδη άλατα, το διοξειδίο του θείου και τα θειώδη άλατα.

Τα κυριότερα αντιοξειδωτικά συντηρητικά είναι τα BHA, BHT, TBHQ, PG, EDTA, ασκορβικό οξύ, κιτρικό οξύ και τοκοφερόλες.

1.11.7 Ξύδι

Το ξύδι χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακός παράγοντας λόγω της ικανότητάς του οξικού οξέος όταν βρίσκεται στην αδιάλυτη μορφή του, καθώς είναι λιπόφιλο, να

διέρχεται ελεύθερα μέσω της μικροβιακής μεμβράνης στο κυτταρόπλασμα. Αυτό το χαρακτηριστικό περιορίζει την μεταβολική λειτουργία του κυττάρου καθώς προσπαθεί να διατηρήσει τη διαμεμβρανική διαφορά στο pH, εκτρέποντας την ενέργεια του κυττάρου μακριά από διαδικασίες ανάπτυξης. Η έκταση αυτής της επίδρασης εξαρτάται από το εξωκυττάριο pH και της συγκέντρωσης οξέος. Με αυτή τη διαδικασία οι μόνοι οργανισμοί που μπορούν να επιβιώσουν είναι και αυτοί με την μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο οξύ. Για τον λόγο αυτό το ξύδι χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακός καθώς και ως αντιοξειδωτικός παράγοντας. Το χαμηλό pH μεταβάλλει την χημική σύσταση του τροφίμου και καθυστερούν την ενζυματική δράση. Επιπλέον οι βιοδραστικές ουσίες όπως οι πολυφαινόλες και οι βιταμίνες προστατεύουν το τρόφιμο από το οξειδωτικό stress (Davalos and others 2005; Nishino and others 2005).

1.12 Σκοπός της εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας ήταν η διερεύνηση των μικροβιολογικών μεταβολών καθώς και η εκτίμηση του εμπορικού χρόνου ζωής των φιλέτων λαβρακιού που υπέστησαν οξύνιση με οξικό οξύ και διατηρήθηκαν υπό ψύξη στους 4°C σε συσκευασία κενού.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Γενικά

Ολόκληροι απεντερωμένοι ιχθύες λαβρακιού βάρους 450g που πάρθηκαν από την εταιρεία «ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΕΙΑ ΚΕΦΑΛΛΟΝΙΑΣ ΑΒΕΕ» και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Εμπορίας και Τεχνολογίας Αλιευτικών Προϊόντων και Τροφίμων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Οι ιχθύες πλύθηκαν και φιλεταρίστηκαν.

Οι ιχθύες φιλετοποιήθηκαν σε φιλέτα των 30 – 40 g τα οποία υπέστησαν μαρινάρισμα με διάλυμα ξυδιού (οξικό οξύ) και συσκευάστηκαν. Δημιουργήθηκαν δώδεκα (12) δείγματα μαριναρισμένου λαβρακιού τα οποία στην πορεία ομογενοποιήθηκαν για την επίστρωση και ενσωμάτωση. Τα δείγματα προετοιμάζονταν ανά επτά (7) μέρες και η καταμέτρηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας, καθώς και οι πληθυσμοί των κυριότερων αλλοιογόνων μικροοργανισμών, όπως τα *Pseudomonas* spp., υδροθειούχα βακτήρια (H_2S) οξυγαλακτικά (LAB) και *Enterobacteriaceae* μετά από την λήξη των δύο (2) ημερών.

Τα φιλέτα μαριναρίστηκαν με οξικό οξύ. Ξύδι αραιωμένο με νερό 1 προς 1 χρησιμοποιήθηκε για μαρινάρισμα. Η αναλογία προϊόντος προς μαρινάδας ήταν 1:1.5 (100 g προϊόντος εμβαπτίστηκε σε 150 ml μαρινάδας). Το μαρινάρισμα πραγματοποιήθηκε στους 8°C για 24 ώρες. Μετά από αυτό τα φιλέτα αφέθηκαν να στραγγίσουν και στεγνώσουν για 1 ώρα στους 8°C, πριν συσκευασθούν σε πλαστικές σακούλες υπό κενό και συντηρηθούν στους 4°C.

Επιπλέον αξιολογήθηκε μία σειρά από οργανοληπτικά στοιχεία όπως (γεύση, χρώμα, οσμή, εμφάνιση, κτλ.) για να προσδιοριστεί ο εμπορικός χρόνος ζωής των

προϊόντων και να συσχετισθεί με τις μικροβιακές και φυσικοχημικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της συντήρησης.

2.2 Μικροβιολογική ανάλυση

2.2.1 Προετοιμασία θρεπτικών

Τα θρεπτικά υλικά για την διεξαγωγή του πειράματος πάρθηκαν από τα LAB M, Lancashire, UK, & Biolife (Milano, Italy)

2.2.1.1 Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX)

Το TSA (Tryptic Soy Agar) είναι ένα στέρεο θρεπτικό μέσο γενικής χρήσης που συστήνεται για χρήση σε ποιοτικές διαδικασίες και για την καλλιέργεια μικροοργανισμών. Το TSA περιέχει πεπτόνες καζεΐνης και σόγιας οι οποίες παρέχουν άζωτο (N) , αμινοξέα και πεπτίδια απαραίτητα για την ανάπτυξη ενός ευρέως φάσματος μικροοργανισμών. Η δεξτρόζη ως απλός υδατάνθρακας αποτελεί άμεση πηγή ενέργειας. Το χλωριούχο νάτριο (NaCl) προμηθεύει τους απαραίτητους ηλεκτρολύτες και χρησιμεύει ως ρυθμιστής της ωσμωτικής πίεσης .

Διαδικασία παρασκευής :

Σε μία φιάλη των 1.000 ml ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 18,5 g θρεπτικού υλικού σε 500 ml απιονισμένου νερού. Ακολούθησε αποστείρωση στους 121 °C για 15 min και στη συνέχεια η διαδικασία της ενσωμάτωσης μικρής ποσότητας θρεπτικού υλικού σε τρυβλία Petri στα οποία στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε επίστρωση με τον ζωμό του ψαριού.

Η σύνθεση του θρεπτικού φαίνεται παρακάτω g/1000 ml :

Casein Peptone	15.0
Sodium Chloride	5.0
Soy Peptone	5.0
Agar	12.0

2.2.1.2 Βακτήρια της οικογένειας των Enterobacteriaceae

Το Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) είναι ένα επιλεκτικό θρεπτικό μέσο το οποίο συστήνεται για την ανίχνευση και απαρίθμηση των *Enterobacteriaceae* συγκεκριμένα τα ανεκτικά Gram⁻ στη χολή. Η παγκρεατική πέψη της ζελατίνης και το εκχύλισμα ζύμης παρέχουν αζωτούχες ενώσεις και άλλα θρεπτικά απαραίτητα για τον βακτηριακό μεταβολισμό. Αυτό το μέσο είναι επιλεκτικό λόγω της ύπαρξης των αναστολέων: χολικών αλάτων (bile salts) και του κρυσταλλικού ιώδους. Το κρυσταλλικό ιώδες αναστέλλει τους Gram⁺ μικροοργανισμούς , συγκεκριμένα *Staphylococci*. Ο ουδέτερος κόκκινος δείκτης (neutral red indicator) βοηθάει στην ανίχνευση ζύμωσης λακτόζης και γλυκόζης. Τα ζυμωμένα στελέχη σχηματίζουν κόκκινες αποικίες με ροζ-κόκκινα φωτοστέφανα στην παρουσία του neutral red. Το χλωριούχο νάτριο διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία του μέσου. Το κόκκινο χρώμα οφείλεται στην απορρόφηση του neutral red και σε μία επακόλουθη αλλαγή της βαφής όταν το pH του μέσου πέσει κάτω από το 6,8 .

Διαδικασία παρασκευής:

Σε μία φιάλη μετρήθηκαν και προστέθηκαν 19,25g θρεπτικού για 500ml απιονισμένου νερού. Η φιάλη τοποθετείται στο hot plate με ένα μαγνήτη όπου αναδεύεται και βράζει ταυτόχρονα (δεν χρειάζεται περεταίρω αποστείρωση). Το θρεπτικό κρυνώνει στους 45-50 °C και στη συνέχεια μοιράζεται σε τρυβλία Petri.

Η σύνθεση του θρεπτικού φαίνεται παρακάτω g/1000 ml :

Yeast extract	3.0
Pancreatic digest of gelatin	7.0
Bile salts	1.50
Sodium chloride	5.0
Glucose monohydrate	10.0
Neutral red	0.03
Crystal violet	0.002
Agar	15.0

2.2.1.3 Βακτήρια του γένους *Pseudomonas* spp.

Cephalothin-Sodium Fusidate-Cetrimide Agar (CFC) είναι ένα επιλεκτικό θρεπτικό υλικό που συστήνεται για την απομόνωση των *Pseudomonas* spp. Περιέχει χλωριούχο μαγνήσιο ($MgCl_2$) και θειικό κάλιο (K_2SO_4) τα οποία παράγουν χρωστική. Η πεπτόνη ζελατίνης και η καζεΐνη από ενζυματική πέψη παρέχουν το άζωτο και το θείο που απαιτούν οι μικροοργανισμοί για την ανάπτυξή τους επιπλέον η γλυκερόλη αποτελεί πηγή άνθρακα. Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες Sodium Nalidixate, Fucidin και Cephaloridine είναι εκλεκτικά υλικά και χρησιμοποιούνται ώστε να αναστείλουν την δράση Gram⁺ και ορισμένων Gram⁻ βακτηριδίων.

Διαδικασία παρασκευής:

Σε φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 24.2 g θρεπτικού υλικού σε 500 ml απιονισμένου νερού. Πραγματοποιήθηκε ανάδευση σε επαγωγική εστία μέχρι να ομογενοποιηθεί το θρεπτικό. Το θρεπτικό αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 min. Στη συνέχεια το θρεπτικό αφέθηκε να κρυώσει σε υδατόλουτρο στους 45-50 °C όπου προστέθηκε το εκλεκτικό CFC.

Η σύνθεση του θρεπτικού φαίνεται παρακάτω g/1000 ml :

Gelatin peptone	16.0
Casitose	10.0
Potassium sulphate	10.0
Magnesium chloride	1.4
Agar	15.0

2.2.1.4 Βακτήρια που παράγουν υδρόθειο

Iron Agar (Triple Sugar-Iron Agar Medium) συστήνεται για την εξακρίβωση των Gram⁻ εντερικών βακίλων με βάση των χρωματισμό της δεξτρόζης, λακτόζης και σουκρόζης που με την ζύμωσή τους παράγουν υδρόθειο (H₂S). Η πεπτόνη, το εκχύλισμα μαγιάς και το εκχύλισμα από ιστό βοοειδών παρέχουν αζωτούχες ενώσεις, θείο, ιχνοστοιχεία και βιταμίνη Β. Το χλωριούχο άζωτο διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία του θρεπτικού. Τοθειθειϊκό νάτριο (Na₂S₂O₂) ανάγεται σε υδρόθειο (H₂S) με την συμμετοχή των σιδηρικών ιόντων. Το υδρόθειο αντιδρά με τα άλατα του σιδήρου και αποδίδει ένα τυπικό μαύρο χρώμα στις αποικίες. Επιπροσθέτως τοθειθειϊκό νάτριο είναι αναστολέας του αλογόνου και μειώνει την τοξικότητά του στο δείγμα. Το ερυθρό της φαινόλης αποτελεί χρωματικό δείκτη.

Διαδικασία παρασκευής:

Σε μία φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν σε 500 ml απιονισμένου νερού με ρυθμισμένο το pH στο 7,4.

Η σύνθεση του θρεπτικού φαίνεται παρακάτω g/1000 ml :

Beef extract	3.0
Peptone	20.0
Yeast extract	3.0
Lactose	10.0
Sucrose	10.0
Dextrose monohydrate	1.0
Ferrous sulphate	0.2
Sodium chloride	5.0
Sodium thiosulphate	0.3
Phenol red	0.024
Agar	12.0

2.2.1.5 Οξυγαλακτικά βακτήρια

MRS (Lactobacillus MRS Agar) συστήνεται για την καλλιέργεια όλων των *Lactobacillus* spp. Από την ενζυματική πέψη του ζωικού ιστού και του εκχυλίσματος βοοειδών παράγεται αντίστοιχα πεπτόνη της πρωτεόζης (proteose peptone), η οποία είναι πλούσια σε πρωτεόζες, πεπτόνες και σε 5 διαφορετικά αμινοξέα καθώς και αζωτούχες και ανθρακικές ενώσεις. Το εκχύλισμα ζύμης παρέχει βιταμίνη Β και δεξτρόζη, ζημούμενος υδατάνθρακας που αποτελεί πηγή ενέργειας. Το πολυσορβικό 80 (Polysorbate 80) παρέχει τα απαραίτητα λιπαρά οξέα για τον μεταβολισμό των *Lactobacilli*. Το θεικό μαγνήσιο ($MgSO_4$) και το θεικό μαγγάνιο ($MnSO_4$) παρέχουν θετικά ιόντα για τον πολλαπλασιασμό των *Lactobacilli*. Τα φωσφορικά άλατα δρουν ως ρυθμιστικοί παράγοντες στο μέσο ενώ το οξικό νάτριο είναι ανασταλτικός παράγοντας και μαζί με το κιτρικό αμμώνιο δρουν ως εκλεκτικοί παράγοντες. Το άγαρ χρησιμοποιείται ως σταθεροποιητικός παράγοντας ενώ το pH είναι 6.5 ± 0.2 .

Διαδικασία παρασκευής:

Τα *Lactobacilli* είναι μικροαερόφιλα και γενικά απαιτούν επίστρωση για αερόβια καλλιέργεια στο στερεό θρεπτικό υλικό. Όταν το μέσο είναι έτοιμο επιστρώνουμε με ένα επιπλέον στρώμα MRS το οποίο δεν έχει δεχθεί εμβολισμό.

Η σύνθεση του θρεπτικού φαίνεται παρακάτω g/1000 ml :

Proteose peptone	10.0
Beef extract	10.0
Yeast extract	5.0
Dextrose	20.0
Polysorbate 80	1.0
Ammonium citrate	2.0
Sodium acetate	5.0
Magnesium sulphate	0.1
Manganese sulphate	0.05
Dipotassium phosphate	2.0
Agar	12.0

2.2.1.6 MRD (Maximum Recovery Diluent)

Είναι ένα ισοτονικός διαλύτης και χρησιμοποιείται για την μέγιστη επαναφορά των μικροοργανισμών. Είναι ένα αλατούχο διάλυμα που περιέχει πεπτόνη. Παρέχει τις θρεπτικές ιδιότητες της πεπτόνης και την ωσμωτική ρυθμιστική ικανότητα του φυσιολογικού αλατούχου διαλύματος.

Διαδικασία παρασκευής:

Σε μία φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 4,25 g σε 500 ml απιονισμένου νερού.

Διαδικασία παρασκευής δείγματος:

Πάρθηκαν 10g από το μαριναρισμένο δείγμα του ψαριού και προστέθηκε MRD 90g μέσα σε ειδική σακούλα stomacher για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της ομογενοποίησης με τη βοήθεια του μηχανήματος Stomacher.

Η σύνθεση του θρεπτικού φαίνεται παρακάτω g/1000 ml :

Peptic digest of animal tissue	1.0
Sodium chloride	8.5

2.2.2 Προετοιμασία θρεπτικών

- I. Λήφθηκαν ασηπτικά ανά 7 μέρες 10g, σάρκας ιχθύος (λαβρακιού) και μεταφέρθηκαν σε αποστειρωμένη σακούλα stomacher. Στη συνέχεια προστέθηκε αραιωτικό διάλυμα MRD 90g και η σακούλα stomacher μεταφέρθηκε σε συσκευή ομογενοποίησης, όπου το δείγμα ομογενοποιήθηκε για 2 λεπτά . Με το τέλος της ομογενοποίησης πραγματοποιήθηκε ενοφθαλμισμός του βακτηριακού εναιωρήματος με τη χρήση δύο (2) τεχνικών ενσωμάτωσης.
- II. Επίστρωση: Επιφανειακή επίστρωση (spread plate technique) για τα θρεπτικά TSA, CFC, IA. Πραγματοποιήθηκε εξάπλωση γνωστού όγκου (0.1ml) βακτηριακού εναιωρήματος σε στέρεο θρεπτικό υλικό με τη βοήθεια ειδικού διανομέα (πιπέτα). Αυτή η τεχνική ενσωμάτωσης εφαρμόζεται συνήθως για την ανάπτυξη αερόβιων βακτηρίων.
- III. Ενσωμάτωση: Με την τεχνική της ενσωμάτωσης (pour plate technique) για τα θρεπτικά υλικά MRS, VRBGA. Αρχικά γίνεται ενοφθαλμισμός γνωστού όγκου (1ml) από το βακτηριακό εναιώρημα του δείγματος σε θρεπτικό υλικό και στην συνέχεια γίνεται μετάγγιση τηγμένου θρεπτικού υλικού, θερμοκρασίας 45°C. Στη συνέχεια, και αφού το θρεπτικό υλικό έχει στερεοποιηθεί, μεταγγίζεται επιπλέον ποσότητα θρεπτικού υλικού (overlay). Εφαρμόζεται, γενικά, για την ανάπτυξη των μικροαερόφιλων και προαιρετικά αναερόβιων μικροοργανισμών.

2.2.3 Επώαση δειγμάτων και απαρίθμηση μικροβιακών πληθυσμών

Οι μικροοργανισμοί που απαριθμήθηκαν στις καλλιέργειες ήταν: 1) Ο Ολικός Μεσόφιλος Πληθυσμός σε θρεπτικό υπόστρωμα TSA μετά από επώαση των τρυβλίων στους 25°C για 48h, 2) βακτήρια που παράγουν H₂S σε θρεπτικό IA (καταμέτρηση μαύρων αποικιών μετά από επώαση στους 25°C για 48h. 3)

καταμέτρηση των *Enterobacteriaceae* σε θρεπτικό VRBGA (καταμέτρηση των μωβ αποικιών με δακτύλιο) μετά από επώαση στους 37°C για 24h, 4) *Pseudomonas* spp. με τη χρήση θρεπτικού υλικού CFC και μετά από επώαση στους 27°C για 48h, 5) Οξυγαλακτικά βακτήρια σε θρεπτικό MRS μετά από επώαση στους 25°C για 72h.

2.3 Μέτρηση pH

Για την μέτρηση του pH πάρθηκαν 5g δείγματος σάρκας του ιχθύος και τοποθετήθηκαν μαζί με 25g απιονισμένου νερού σε αποστειρωμένη σακούλα stomacher. Με τη χρήση ηλεκτρονικού πεχάμετρου πραγματοποιήθηκε η μέτρηση της αραίωσης που χρησιμοποιούνταν κάθε φορά για την επίστρωση και ενσωμάτωση των τρυβλίων. Το πεχάμετρο καθαριζόταν κάθε φορά, πριν και μετά την χρήση του, με απιονισμένο νερό, για να αποφευχθεί η μεταφορά δείγματος που θα επηρέαζε το pH των υπόλοιπων δειγμάτων.

2.4 Οργανοληπτική ανάλυση

Η οργανοληπτική αξιολόγηση πραγματοποιούνταν σε κάθε δειγματοληψία πριν την έναρξη των αναλύσεων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε πενταβάθμια κλίμακα αρεσκείας (hedonic scale). Τα κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της ποιότητας των ιχθύων, με τις αισθήσεις, ήταν εκείνα που περιγράφονται στον Πολύγλωσσο Οδηγό της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη Βαθμονόμηση της Νωπότητας των αλιευτικών προϊόντων (Multilingual Guide to EU Freshness Grades for Fishery Products, Howgate et al., 1992), καθώς και στον Κανονισμό 2406/96/EK. Έτσι, το Ε αντιστοιχήθηκε με το 5 και βαθμολογήθηκε ως άριστο, τα Α, Β και C, με 4, 3 και 2 αντίστοιχα, ως φρέσκο, αποδεκτό και μη αποδεκτό, ενώ το 1 αντιστοιχήθηκε στην προχωρημένη αλλοίωση (κάτι που δεν υπάρχει στον Οδηγό). Σύμφωνα με τη γενική βαθμολογία, ως χρόνος απόρριψης είναι ο χρόνος όπου το προϊόν βαθμολογήθηκε με 2.

2.5 Μαρινάρισμα

Η συντήρηση με οξύνιση ή οξέωση ή μαρινάρισμα είναι ένας τρόπος συντήρησης που βασίζεται στις αντιμικροβιακές ιδιότητες των οργανικών οξέων. Πραγματοποιείται συνήθως με ξύδι, το οποίο περιέχει 5-6% οξικό οξύ. Στο συγκεκριμένο πείραμα, τα φιλέτα μαριναρίστηκαν με οξικό οξύ, ξύδι του εμπορίου (3% w/v οξικό οξύ) αραιωμένο με νερό 1 προς 1. Η αναλογία προϊόντος προς την μαρινάδα ήταν 1:1.5, 100 g προϊόντος εμβαπτίσθηκε σε 150 ml μαρινάδας. Για τον προσδιορισμό του pH της μαρινάδας το ηλεκτρόδιο βυθίστηκε εντός του δείγματος της. Επιπλέον προσδιορίστηκε και η οξύτητα του δείγματος με την χρήση ογκομέτρησης χρησιμοποιώντας NaOH 0.01 N, με δείκτη φαινολαφθαλείνη και εκφράστηκε ως mg NaOH που απαιτήθηκαν για την εξουδετέρωση 1 ml μαρινάδας. Το pH της μαρινάδας ήταν τρία (3) ενώ η οξύτητα βρέθηκε να είναι 20 mg NaOH / ml μαρινάδας.

Η οξύνιση πραγματοποιήθηκε στους 8°C για 24 h και στη συνέχεια τα φιλέτα αφέθηκαν να στραγγίσουν και να στεγνώσουν για διάρκεια μίας (1) ώρας στους 8°C, πριν συσκευαστούν σε πλαστικές σακούλες υπό κενό και τοποθετηθούν για συντήρηση στους 4°C.

2.6 Συσκευασία και συντήρηση

Μετά την οξύνιση τα φιλέτα λαβρακιού συσκευάστηκαν σε πλαστική συσκευασία σε ατμόσφαιρα κενού με σκοπό την ελάττωση της μικροβιακής ανάπτυξης και της επιβράδυνσης της ενζυμικής αλλοίωσης με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ζωής του προϊόντος ενώ. Τέλος όλα τα φλιταρισμένα τεμάχια αποθηκεύτηκαν στην συντήρηση σε θερμοκρασίες των 4°C.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Οργανοληπτική ανάλυση

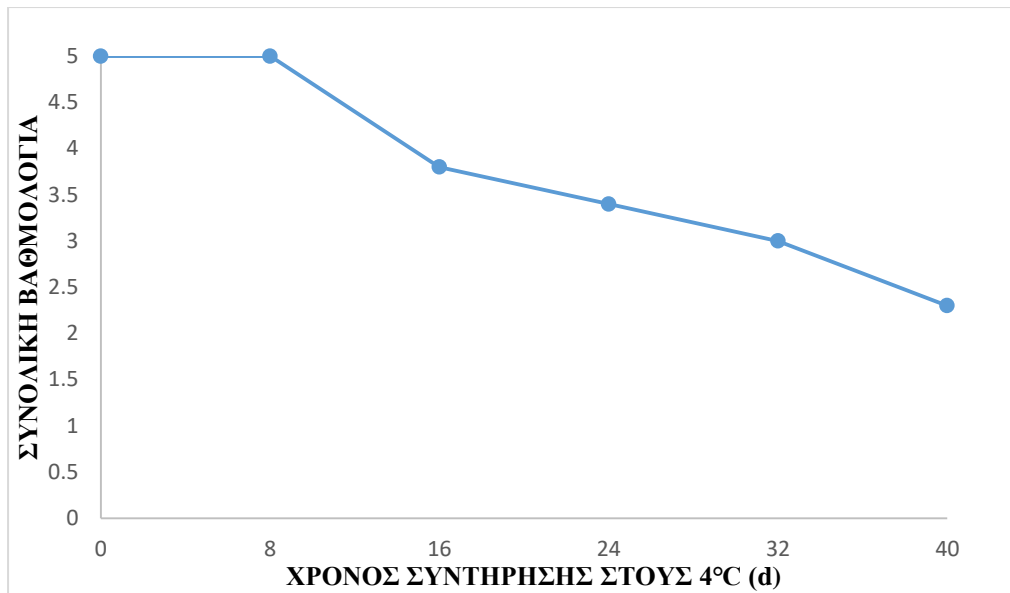
Μετά την οργανοληπτική αξιολόγηση ,τα οξυνισμένα δείγματα που είχαν αποθηκευτεί υπό συνθήκη VP στους 4°C, την πρώτη μέρα (d₀) αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά ως ‘Άριστα’. Κατά τη διάρκεια της συντήρησης , τα δείγματα παρέμειναν σε ‘Άριστη’ κατάσταση έως την όγδοη μέρα (d₈). Στην πορεία της συντήρησης άρχισε να λαμβάνει χώρα υποβάθμιση με αποτέλεσμα τις ημέρες, δέκατη έκτη (d₁₆) , εικοστή τέταρτη (d₂₄), τριακοστή δεύτερη (d₃₂) η κατάσταση των δειγμάτων να χαρακτηριστεί ‘Καλή’. Την τεσσαρακοστή μέρα (d₄₀) τα δείγματα αξιολογήθηκαν ως ‘αποδεκτά’. Η διαδικασία διήρκησε συνολικά σαράντα (40) ημέρες.

Η βαθμολόγηση της οργανοληπτικής ανάλυσης φαίνεται παρακάτω **Πίνακας 3.1** , τα αποτελέσματα (Σχήμα **3.1.1**).

Πίνακας 3.1 Άριστο (5), Πολύ καλό (4 – 4,9), Καλό (3 – 3,9), Αποδεκτό (2 – 2,9),

Απαράδεκτο (1-1,9)

Μέρα	Εξωτερική Εμφάνιση	Άρωμα	Γεύση	Χρώμα	Συνεκτικότητα Σάρκας	Συνολική Εμφάνιση – Αποδοχή
0	5	5	5	5	5	5
8	5	5	5	5	5	5
16	4	4	4	4	3	3,8
24	4	3	3	4	3	3,4
32	4	3	2,5	3	2,5	3
40	3	2	2	2,5	2	2,3



Σχήμα 3.1.1. Μεταβολές στη γενική εμφάνιση των οξυνισμένων δειγμάτων κατά τη διάρκεια συντήρησης υπό συνθήκη ψύξης (4°C) σε VP.

Επομένως, σύμφωνα με τον πίνακα ο εμπορικός χρόνος ζωής των δειγμάτων προσδιορίστηκε στις 40 μέρες.

3.2 Μικροβιολογική αξιολόγηση

Οι πληθυσμιακές μεταβολές της OMX αλλά και των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών (*Pseudomonas* spp., υδροθειούχα (H₂S) βακτήρια, *Enterobacteriaceae* και οξυγαλακτικά βακτήρια), των οξυνισμένων φιλέτων λαβρακιού αποθηκευμένων σε συνθήκη VP στους 4°C, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3.2**. Όπως φαίνεται και στον πίνακα δεν υπάρχει επικράτηση συγκεκριμένου είδους μικροοργανισμών, καθώς οι τιμές του είναι σταθερές και παραπλήσιες.

Οι μικροβιακοί πληθυσμοί στην έναρξη της πειραματικής διαδικασίας και καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης βρέθηκαν σε πληθυσμό κάτω του ορίου ανίχνευσης.

Κατά τη συντήρηση των ιχθύων και με το πέρας των σαράντα (40) ημερών οι πληθυσμοί των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών παρέμειναν κάτω το ορίου

ανίχνευσης. Κανείς από τους πληθυσμούς δεν επικράτησε στη σάρκα των οξυνισμένων φιλέτων.

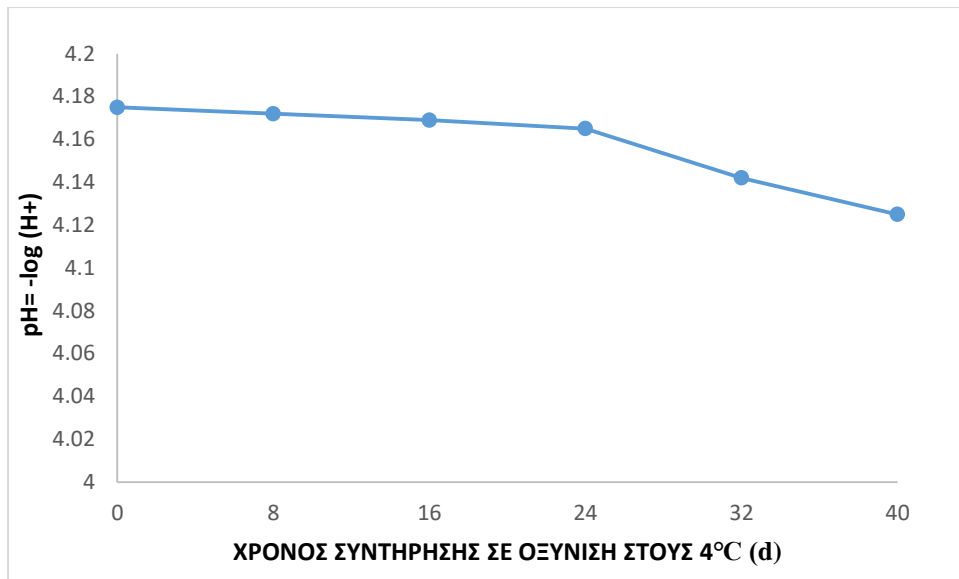
Συμπερασματικά, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 3.2.** το οξικό οξύ που χρησιμοποιήθηκε στην οξύνιση σε συνδυασμό με την συντήρηση στους 4°C αποτέλεσαν ιδανικούς περιοριστικούς παράγοντες για την διατήρηση των νωπών φιλέτων λαβρακιού.

Πίνακας 3.2. Πληθυσμιακές μεταβολές στις αποικίες της OMX (TSA) και των κυριότερων αλλοιογόνων μικροοργανισμών (*Enterobacteriaceae*, VRBGA, Βακτήρια που παράγουν υδρόθειο (H₂S), IA, *Pseudomonas* spp. , CFC, Οξυγαλακτικά βακτήρια (*Lactobacillus* spp.), MRS.) σε οξυνισμένα φιλέτα λαβρακιού κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους στους 4°C σε VP στην πρώτη αραίωση.

	VRBGA	IA	CFC	TSA	MRS
18/10/16	1	0	0	0	0
27/10/16	0	0	0	1	0
4/11/16	0	0	0	1	0
12/11/16	0	0	0	0	0
20/11/16	0	3	0	6	0
26/11/16	0	0	0	0	0

3.3 Προσδιορισμός pH

Η ποσότητα του pH που καταγράφηκε στη σάρκα των δειγμάτων λαβρακιού κατά τη διάρκεια της συντήρησης υπό συνθήκες 4°C και σε συσκευασία VP παρουσιάζεται στον **Σχήμα 3.3.1**



Σχήμα 3.3.1. Διακύμανση του pH των οξυνομένων φιλέτων λαβρακιού κατά τη συντήρηση υπό συνθήκη VP στους 4°C μετά από τρεις επαναλήψεις.

Σύμφωνα με το **Σχήμα 3.3.1**, οι τιμές του pH των νωπών οξυνομένων φιλέτων που καταγράφηκαν κατά τη διάρκεια της συντήρησης παρουσίασαν μια σταδιακή μείωση. Οι τιμές στην έναρξη του πειράματος ήταν 4,23 (d₀) ενώ στο τέλος των σαράντα (40) ημερών οι τιμές του pH έφτασαν στο 4,069.

Πίνακας 3.3: Μέτρηση των τιμών του pH στη σάρκα του λαβρακιού.

Μέρες	pH
0	4,175 ± 1,57
8	4,172 ± 1,57
16	4,169 ± 1,57
24	4,165 ± 1,57
32	4,142 ± 1,57
40	4,125 ± 1,57

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η αλλοίωση των θαλασσινών προσδιορίζεται από τις οργανοληπτικές αλλαγές (οσμή, χρώμα, υφή) που συμβαίνουν στη σάρκα τους Gram and Huss, (1996), τη μικροβιακή αλλοίωση, τις αυτολυτικές διαδικασίες και τη χημική οξείδωση Ashie *et al.*, 1996.

Μετά την οργανοληπτική αξιολόγηση των οξυνισμένων φιλέτων λαβρακιού σε διάλυμα 6% οξικού οξέος και αποθηκευμένων υπό συνθήκη VP (vacuum packaging) στους 4°C ο εμπορικός χρόνος ζωής τους προσδιορίστηκε στις σαράντα (40) ημέρες (960h). Πράγματι, οι Gokoglu *et al.*, 2002 αναφέρουν πως η διάρκεια ζωής μαριναρισμένης σαρδέλας (*Sardina pilchardus*) οξυνισμένης σε διάλυμα 2% και 4% οξικού οξέος και διατηρημένης σε θερμοκρασία 4°C ήταν 90 ημέρες και 60 ημέρες αντίστοιχα. Οι Sallam *et al.*, 2006 επιπλέον αναφέρουν πως η διάρκεια του εμπορικού χρόνου ζωής μαριναρισμένου *Cololabis saira* οξυνισμένου σε διάλυμα 2% και 3% οξικού οξέος και διατηρημένου σε συνθήκη VP (vacuum packaging) στους 4°C φάνηκε να είναι γύρω στις 90 ημέρες, με το προϊόν να χαρακτηρίζεται ως αποδεκτό προς ανθρώπινη κατανάλωση. Επιπροσθέτως, σύμφωνα με τους Zhang *et al.*, 2015 ο εμπορικός χρόνος ζωής των προϊόντων του κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*) υπό συνθήκες VP και διατήρηση τους 4°C βρέθηκε να είναι 12 ημέρες, ενώ οι Silbande *et al.*, 2017 προσδιόρισαν τον χρόνο απόρριψης των προϊόντων του *Sciaenous ocellatus* υπό συνθήκη VP στους 4°C στις 29 ημέρες. Ακόμη, οι Kachel *et al.*, 2017 κατέληξαν στο συμπέρασμα πως τα φιλέτα του ασημοκυπρίνου (*Hypophthalmichthys molitrix*) διατηρημένα στους 4°C υπό κατάσταση VP και ατμοσφαιρική πίεση 30kPA παρατείνουν τον εμπορικό χρόνο ζωής των προϊόντων μέχρι τις 11 ημέρες.

Στην παρούσα μελέτη το pH καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος εμφάνισε μία σταδιακή μείωση 6.3 το αρχικό pH των μη οξυνισμένων φιλέτων. Μετά την οξύνιση το τελικό pH των φιλέτων στις 40 ημέρες έφτασε το 4,069. Πράγματι, οι Kilnic & Gakli, 2004 αναφέρουν πως οι τιμές του pH στα αποψυγμένα φιλέτα σαρδέλας (*Sardina pilchardus*) μαριναρισμένα σε διάλυμα 7% οξικού οξέος και 14% χλωριούχου νατρίου (NaCl) και συντηρημένα σε βαρέλια εμφάνισαν μία μικρή πτώση καθώς την d_0 το pH ήταν 4,23 ενώ την d_{22} 4,11. Αντιθέτως στην έρευνά τους οι Sallam *et al.*, 2006 διαπίστωσαν πως το τελικό pH των φιλέτων του *Cololabis saira* οξυνισμένου σε διάλυμα 2% και 3% οξικού οξέος και διατηρημένου σε συνθήκη VP (vacuum packaging) στους 4°C είχε μία μικρή αύξηση, 4,56 και 4,47 αντίστοιχα. Οι Gokoglu *et al.*, 2002 αναφέρουν πως κατά τη διάρκεια του πειράματος το pH των φιλέτων της μαριναρισμένης σαρδέλας (*Sardina pilchardus*) οξυνισμένης σε διάλυμα 2% και 4% οξικού οξέος και διατηρημένης σε θερμοκρασία 4°C παρουσίασε διαβαθμίσεις όπως αύξηση στη μέση της συντήρησης και πτώση προς το τέλος της.

Η αύξηση του pH ξεκινάει συνήθως μετά την θανάτωση του ιχθύος αφού η φρέσκια σάρκα έχει σχεδόν ουδέτερο pH. Η αποσύνθεση των αζωτούχων ενώσεων οδηγεί σε αύξηση του pH στη σάρκα των ιχθύων Shenderyuk & Bykowski, 1989. Η αύξηση του pH υποδεικνύει την απώλεια της ποιότητας. Κατά την διατήρηση της μαρινάδας heterofermentatif οξυγαλακτικά βακτήρια μπορούν να αυξηθούν και να προκαλέσουν αποσύνθεση των αμινοξέων, με αποτέλεσμα να δημιουργείται διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) και άλλα προϊόντα που προέρχονται από την αποκαρβοξυλίωση. Αυτά τα προϊόντα δεσμεύουν το οξικό οξύ και το pH της μαρινάδας αυξάνεται (Shenderyuk & Bykowski, 1989). Η μείωση του pH όπως διαπίστωσαν οι Cabrer *et al.*, 2002; Karl, Roepstorff, Huss, & Bloemsma, 1995; Meyer, 1965, οφείλεται στην επαφή της μαρινάδας με τη σάρκα του ιχθύος κατά την οποία προκαλείται διάχυση

του οξικού οξέος και του άλατος στον ιστό του ιχθύος μέχρι να υπάρξει ισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων.

Η οργανοληπτική αξιολόγηση είναι ο πιο κοινός τρόπος εκτίμησης της φρεσκότητας ενός ιχθύος. Είναι μια γρήγορη και απλή διαδικασία που παρέχει άμεση πληροφόρηση σε σχέση με την ποιότητα. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ιχθύος είναι εμφανή στον καταναλωτή και απαραίτητα για την ευχαρίστησή του (Reineccius, 1990). Η οργανοληπτική αξιολόγηση των οξυνισμένων φιλέτων λαβρακιού αποθηκευμένων υπό συνθήκη VP στους 4°C έδειξε πως τα φιλέτα λαβρακιού με το πέρας των σαράντα (40) ημερών βρίσκονταν σε "αποδεκτή" κατάσταση, συνολική εμφάνιση και αποδοχή 2,3. Πράγματι οι Shallam *et al.*, 2006 επιβεβαίωσαν πως στα φιλέτα του μαριναρισμένου *Cololabis saira* οξυνισμένου σε διάλυμα 2% και 3% οξικού οξέος και διατηρημένου σε συνθήκη VP (vacuum packaging) στους 4°C, τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά είχαν μεταβληθεί ελάχιστα ώστε να χαρακτηριστούν αποδεκτά με το πέρας το εξήντα (60) και ενενήντα (90) ημερών. Επιπλέον οι Gokoglu Gokoglu *et al.*, 2002 αναφέρουν πως τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της μαριναρισμένης σαρδέλας (*Sardina pilchardus*) οξυνισμένης σε διάλυμα 2% και 4% οξικού οξέος και διατηρημένης σε θερμοκρασία 4°C μεταβλήθηκαν ελάχιστα και χαρακτηρίστηκαν ως "πολύ καλό" στις ενενήντα (90) και εξήντα (60) ημέρες αντίστοιχα.

Στην παρούσα μελέτη, οι επικρατέστεροι μικροοργανισμοί που οφείλονται για την αλλοίωση των οξυνισμένων, σε διάλυμα 6% οξικού οξέος, φιλέτων λαβρακιού αποθηκευμένων υπό συνθήκη VP (vacuum packaging) στους 4°C βρίσκονταν κάτω από το όριο ανίχνευσης 10 CFU/g. Πράγματι, οι Shallam *et al.*, 2006 επιβεβαίωσαν πως στα φιλέτα του μαριναρισμένου *Cololabis saira* οξυνισμένου σε διάλυμα 2% και

3% οξικού οξέος και διατηρημένου σε συνθήκη VP (vacuum packaging) στους 4°C, οι μικροβιακοί πληθυσμοί ήταν $3.95 \log_{10}$ CFU/g. Επιπροσθέτως οι Kilnic & Gakli, 2004 αναφέρουν πως οι μικροβιακοί πληθυσμοί στα αποψυγμένα φιλέτα σαρδέλας (*Sardina pilchardus*) μαριναρισμένα σε διάλυμα 7% οξικού οξέος και 14% χλωριούχου νατρίου (NaCl) και συντηρημένα σε βαρέλια, βρέθηκαν να είναι <10 CFU/g. Οι Rodrigues *et al.*, 2015 απέδειξαν πως σε φιλέτα πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) αποθηκευμένα σε VP οι μικροβιακοί πληθυσμοί έγιναν εμφανείς μετά το πέρας των επτά (7) ημερών. Επιπλέον οι Silbande *et al.*, 2017 βρήκαν πως οι μικροβιακοί πληθυσμοί των προϊόντων του *Sciaenous ocellatus* υπό συνθήκη VP στους 4°C στις 29 ημέρες είχαν περάσει το όριο ανίχνευσης.

Εν κατακλείδι τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας αλλά και η υπάρχουσα βιβλιογραφία καταδεικνύουν πως υπό αναερόβιες συνθήκες VP (vacuum packaging), οξύνιση των φιλέτων με διάλυμα 6% οξικού οξέος και συντήρηση σε θερμοκρασία 4°C δημιουργούνται αντίξοες συνθήκες για την αύξηση των αλλοιογόνων μικροοργανισμών.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση, λοιπόν, τις μικροβιακές απαριθμήσεις και την οργανοληπτική αξιολόγηση, ο εμπορικός χρόνος ζωής των οξυνισμένων φιλέτων λαβρακιού σε διάλυμα 6% οξικού οξέος και αποθηκευμένων υπό συνθήκη VP (vacuum packaging) στους 4°C προσδιορίστηκε στις σαράντα (40) ημέρες (960h). Οι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί βρέθηκαν σε επίπεδα κάτω του ανιχνεύσιμου σημείου με αποτέλεσμα να μην υπάρξει αισθητή αλλοίωση στα φιλέτα του λαβρακιού. Οι τρεις (3) μέθοδοι συντήρησης των τροφίμων, όπως η ψύξη, όπου ένας ιχθύς αποθηκεύεται σε χαμηλή θερμοκρασία και τόσο οι ενζυμικές όσο και οι χημικές αντιδράσεις, καθώς και η μικροβιακή ανάπτυξη επιβραδύνονται, η οξύνιση, η οποία ρίχνει το pH σε σημείο τέτοιο ώστε η ανάπτυξη των μικροοργανισμών να επιβραδύνεται και η συντήρηση υπό αναερόβιες συνθήκες VP, όταν συνδυαστούν, μπορούν να αποτελέσουν ένα καθοριστικό περιοριστικό παράγοντα για την συντήρηση των ιχθύων.

Τέλος, λόγω της επιθυμίας των καταναλωτών για νωπά υπό ψύξη προϊόντα με εκτεταμένη διάρκεια ζωής, πολυάριθμες μελέτες (συμπεριλαμβανομένης και της παρούσης) έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό διαφορετικές στρατηγικές συντήρησης για να διατηρήσουν ή να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής των νωπών τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων και των αλιευτικών, για να εξασφαλισθεί η ασφάλειά τους.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abdollahzadeh, Esmail, Masoud Rezaei, and Hedayat Hosseini. 2014.** “Antibacterial Activity of Plant Essential Oils and Extracts: The Role of Thyme Essential Oil, Nisin, and Their Combination to Control *Listeria Monocytogenes* Inoculated in Minced Fish Meat.” *Food Control* 35 177–83. doi:10.1016/j.foodcont.2013.07.004.
- Adams, M. R. 2014.** “Vinegar.” *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* 3: 717–21. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00348-7.
- Ahmad, Mehraj, Soottawat Benjakul, Punnanee Sumpavapol, and Nilesh Prakash Nirmal. 2012.** “Quality Changes of Sea Bass Slices Wrapped with Gelatin Film Incorporated with Lemongrass Essential Oil.” *International Journal of Food Microbiology* 155 (3). Elsevier B.V.: 171–78. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.027.
- Alasalvar, C, K.D.A Taylor, E Zubcov, F Shahidi, and M Alexis. 2002.** “Differentiation of Cultured and Wild Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*): Total Lipid Content, Fatty Acid and Trace Mineral Composition.” *Food Chemistry* 79 (2): 145–50. doi:10.1016/S0308-8146(02)00122-X.
- Angiolillo, L., A. Conte, and M. A. Del Nobile. 2018.** “A New Method to Bio-Preserve Sea Bass Fillets.” *International Journal of Food Microbiology* 271 (September 2017): 60–66. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.010
- Atrea, I., A. Papavergou, I. Amvrosiadis, and I. N. Savvaidis. 2009.** “Combined Effect of Vacuum-Packaging and Oregano Essential Oil on the Shelf-Life of Mediterranean Octopus (*Octopus Vulgaris*) from the Aegean Sea Stored at 4 °C.” *Food Microbiology* 26 (2). Elsevier Ltd: 166–72. doi:10.1016/j.fm.2008.10.005.
- Bae, Young Min, and Sun Young Lee. 2017.** “Effect of Salt Addition on Acid Resistance Response of *Escherichia Coli* O157:H7 against Acetic Acid.” *Food Microbiology* 65. Elsevier Ltd: 74–82. doi:10.1016/j.fm.2016.12.021.
- Berk, Zeki. 2013.** “Spoilage and Preservation of Foods.” *Food Process Engineering and Technology* III: 395–98. doi:10.1016/B978-0-12-415923-5.00016-2.

- Berk, Zeki. 2013.** “Chemical Preservation.” *Food Process Engineering and Technology*, no. 1997: 591–606. doi:10.1016/B978-0-12-415923-5.00025-3.
- Bhourri, Amira Mnari, Hanene Jrah Harzallah, Madiha Dhibi, Imen Bouhlel, Mohamed Hammami, and Abdelhamid Chaouch. 2010.** “Nutritional Fatty Acid Quality of Raw and Cooked Farmed and Wild Sea Bream (*Sparus Aurata*).” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (1): 507–12. doi:10.1021/jf902096w.
- Björkroth, Johanna. 2005.** “Microbiological Ecology of Marinated Meat Products.” *Meat Science* 70 (3 SPEC. ISS.): 477–80. doi:10.1016/j.meatsci.2004.07.018.
- Boziaris, Ioannis S., and Foteini F. Parlapani. 2016.** *Specific Spoilage Organisms (SSOs) in Fish. The Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers.* Elsevier Ltd. doi:10.1016/B978-0-08-100502-6.00006-6.
- Broekaert, K., M. Heyndrickx, L. Herman, F. Devlieghere, and G. Vlaemynck. 2011.** “Seafood Quality Analysis: Molecular Identification of Dominant Microbiota after Ice Storage on Several General Growth Media.” *Food Microbiology* 28 (6). Elsevier Ltd: 1162–69. doi:10.1016/j.fm.2011.03.009.
- Broekaert, Katrien, Marc Heyndrickx, Lieve Herman, Frank Devlieghere, and Geertrui Vlaemynck. 2013.** “Molecular Identification of the Microbiota of Peeled and Unpeeled Brown Shrimp (*Crangon Crangon*) during Storage on Ice and at 7.5°C.” *Food Microbiology* 36 (2). Elsevier Ltd: 123–34. doi:10.1016/j.fm.2013.04.009.
- Budak, Nilgün H., Elif Aykin, Atif C. Seydim, Annel K. Greene, and Zeynep B. Guzel-Seydim. 2014.** “Functional Properties of Vinegar.” *Journal of Food Science* 79 (5). doi:10.1111/1750-3841.12434.
- Cabrer, A. I., M. R. Casales, and M. I. Yeannes. 2002.** “Physical and Chemical Changes in Anchovy (*Engraulis Anchoita*) Flesh During Marination.” *Journal of Aquatic Food Product Technology* 11 (1): 19–30. doi:10.1300/J030v11n01_03.

- Castro, Pedro, Juan Carlos Penedo Padrón, Ma José Caballero Cansino, Esther Sanjuán Velázquez, and Rafael Millán De Larriva. 2006.** “Total Volatile Base Nitrogen and Its Use to Assess Freshness in European Sea Bass Stored in Ice.” *Food Control* 17 (4): 245–48. doi:10.1016/j.foodcont.2004.10.015.
- Comi, Giuseppe. 2016.** *Spoilage of Meat and Fish. The Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers.* Elsevier Ltd. doi:10.1016/B978-0-08-100502-6.00011-X.
- Cooksey, Kay. 2013.** *Modified Atmosphere Packaging of Meat, Poultry and Fish. Innovations in Food Packaging: Second Edition.* Elsevier Ltd. doi:10.1016/B978-0-12-394601-0.00019-9.
- Dondero, Marta, Fabiola Cisternas, Laura Carvajal, and Ricardo Simpson. 2004.** “Changes in Quality of Vacuum-Packed Cold-Smoked Salmon (*Salmo Salar*) as a Function of Storage Temperature.” *Food Chemistry* 87 (4): 543–50. doi:10.1016/j.foodchem.2004.01.005.
- Fletcher, G. C. 2012.** *Advances in Vacuum and Modified Atmosphere Packaging of Fish and Crustaceans. Advances in Meat, Poultry and Seafood Packaging.* Woodhead Publishing Limited. doi:10.1533/9780857095718.2.261.
- Fraise, A. P., M. A.C. Wilkinson, C. R. Bradley, B. Oppenheim, and N. Moimen. 2013.** “The Antibacterial Activity and Stability of Acetic Acid.” *Journal of Hospital Infection* 84 (4). Elsevier Ltd: 329–31. doi:10.1016/j.jhin.2013.05.001.
- K, Gülsün Beklev, Abdurrahman Polat, and Fatih Ö Z O Ul. 2005.** “Nutritional Value of Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*) Fillets during Frozen (-18 ° C) Storage.” *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 29: 891–95.
- Kachele, Robert, Min Zhang, Zhongxue Gao, and Benu Adhikari. 2017.** “Effect of Vacuum Packaging on the Shelf-Life of Silver Carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*) Fillets Stored at 4 °C.” *LWT - Food Science and Technology* 80. Elsevier Ltd: 163–68. doi:10.1016/j.lwt.2017.02.012.
- Karapinar, M, and S A Gonul. 1992.** “Effects of Sodium Bicarbonate, Vinegar,

- Acetic and Citric Acids on Growth and Survival of *Yersinia-Enterocolitica*.” *Int. J. of Food Microbiol.* 16 (4): 343–47.
- Karapinar, Mehmet, and Şahika Aktuğ Gönül. 1992.** “Removal of *Yersinia Enterocolitica* from Fresh Parsley by Washing with Acetic Acid or Vinegar.” *International Journal of Food Microbiology* 16 (3): 261–64. doi:10.1016/0168-1605(92)90086-I.
- Karpińska, M., J. Borowski, and M. Danowska-Oziewicz. 2001.** “The Use of Natural Antioxidants in Ready-to-Serve Food.” *Food Chemistry* 72 (1): 5–9. doi:10.1016/S0308-8146(00)00171-0.
- Kilinc, Berna, and Sukran Cakli. 2004.** “Chemical, Microbiological and Sensory Changes in Thawed Frozen Fillets of Sardine (*Sardina Pilchardus*) during Marination.” *Food Chemistry* 88 (2): 275–80. doi:10.1016/j.foodchem.2004.01.044.
- Lyhs, U, J Lahtinen, M Fredriksson-Ahomaa, E Hyytia-Trees, K Elfingm, and H Korkeala. 1997.** “Microbiological Quality and Shelf Life of Vacuum-Packaged ‘Gravad’ Rainbow Trout Stored at 3 and 8°C.” *Int. J. Food Microbiology* 70: 221–30.
- Mani-López, E., H. S. García, and A. López-Malo. 2012.** “Organic Acids as Antimicrobials to Control Salmonella in Meat and Poultry Products.” *Food Research International* 45 (2). Elsevier Ltd: 713–21. doi:10.1016/j.foodres.2011.04.043.
- Mannar, M. G.Venkatesh, and N. A. Khan. 2015.** *Food Fortification: Rationale and Methods. Encyclopedia of Food and Health.* 1st ed. Elsevier Ltd. doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00309-3.
- Marshall, D. L. 2014.** “Spoilage of Animal Products: Seafood.” *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* 3 (Chapter 6): 453–58. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00372-4.
- Marshall, Douglas L, and John N Sofos. 2007.** “Meat, Poultry, and Seafood 6.”
- Mejlholm, Ole, Tina D. Devitt, and Paw Dalgaard. 2012.** “Effect of Brine Marination on Survival and Growth of Spoilage and Pathogenic Bacteria during Processing and Subsequent Storage of Ready-to-Eat Shrimp (*Pandalus borealis*).” *International Journal of Food Microbiology* 157 (1). Elsevier B.V.: 16–27. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.006.

- Mogos, George Dan. 2017.** *Natural Products Used for Food Preservation*. doi:10.1016/B978-0-12-804303-5/00011-0.
- Montaño, A., A. H. Sánchez, V. M. Beato, A. López-López, and A. de Castro. 2015.** “Pickling.” *Encyclopedia of Food and Health*, 369–74. doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00545-6.
- Muela, E., V. Alonso, P. Morago, J. B. Calanche, P. Roncalés, and J. A. Beltrán. 2014.** “Effect of Gas Packaging Conditions on Thawed *Thunnus Obesus* Preservation.” *Food Control* 46: 217–24. doi:10.1016/j.foodcont.2014.05.022.
- Nasopoulou, Constantina, Haralabos C Karantonis, and Ioannis Zabetakis. 2011.** “Nutritional Value of Gilthead Sea Bream and Sea Bass.” *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*, 5: 32-40.
- Nychas, George John E., Panos N. Skandamis, Chrysoula C. Tassou, and Konstantinos P. Koutsoumanis. 2008.** “Meat Spoilage during Distribution.” *Meat Science* 78 (1–2): 77–89. doi:10.1016/j.meatsci.2007.06.020.
- O’Sullivan, Maurice G., and Maurice G. O’Sullivan. 2017.** “Chapter 7 – Packaging Technologies for Maintaining Sensory Quality.” *A Handbook for Sensory and Consumer-Driven New Product Development*, 125–49. doi:10.1016/B978-0-08-100352-7.00007-5.
- Odeyemi, Olumide A., Christopher M. Burke, Christopher C.J. Bolch, and Roger Stanley. 2018.** “Seafood Spoilage Microbiota and Associated Volatile Organic Compounds at Different Storage Temperatures and Packaging Conditions.” *International Journal of Food Microbiology* 280 (December 2017). Elsevier: 87–99. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.029.
- Özogul, F., C. Gökbulut, G. Özyurt, Y. Özogul, and M. Dural. 2005.** “Quality Assessment of Guttled Wild Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*) Stored in Ice, Cling Film and Aluminium Foil.” *European Food Research and Technology* 220 (3–4): 292–98. doi:10.1007/s00217-004-1029-8.
- Özogul, F., K. D.A. Taylor, P. Quantick, and Y. Özogul. 2000.** “Chemical, Microbiological and Sensory Evaluation of Atlantic Herring (*Clupea Harengus*) Stored in Ice, Modified Atmosphere and Vacuum Pack.” *Food Chemistry* 71 (2): 267–73. doi:10.1016/S0308-8146(00)00169-2.
- Parlapani, F.F., S. Michailidou, D.A. Anagnostopoulos, A.K. Sakellariou, K. Pasentsis, F. Psomopoulos, A. Argiriou, S.A. Haroutounian, and I.S.**

- Boziaris. 2018.** “Microbial Spoilage Investigation of Thawed Common Cuttlefish (*Sepia Officinalis*) Stored at 2 °C Using next Generation Sequencing and Volatilome Analysis.” *Food Microbiology* 76 (March). Elsevier Ltd: 518–25. doi:10.1016/j.fm.2018.08.004.
- Parlapani, Foteini F., Serkos A. Haroutounian, George John E. Nychas, and Ioannis S. Boziaris. 2015.** “Microbiological Spoilage and Volatiles Production of Guttled European Sea Bass Stored under Air and Commercial Modified Atmosphere Package at 2°C.” *Food Microbiology* 50. Elsevier Ltd: 44–53. doi:10.1016/j.fm.2015.03.006.
- Parlapani, Foteini F., Athanasios Mallouchos, Serkos A. Haroutounian, and Ioannis 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. Elsevier B.V.: 153–63. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.006.
- Parlapani, Foteini F., George I. Verdos, Serkos A. Haroutounian, and Ioannis S. Boziaris. 2015.** “The Dynamics of Pseudomonas and Volatilome during the Spoilage of Guttled Sea Bream Stored at 2°C.” *Food Control* 55. Elsevier Ltd: 257–65. doi:10.1016/j.foodcont.2015.03.004.
- Pleadin, Jelka, Greta Kresic, and Drazen Oraic. 2017.** “NUTRITIONAL QUALITY OF DIFFERENT FISH,” no. July.
- Poli, Bianca M., Giuliana Parisi, Giulia Zampacavallo, Massimo Mecatti, Paola Lupi, Manuela Gualtieri, and Oreste Franci. 2001.** “Quality Outline of European Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*) Reared in Italy: Shelf Life, Edible Yield, Nutritional and Dietetic Traits.” *Aquaculture* 202 (3–4): 303–15. doi:10.1016/S0044-8486(01)00780-3.
- Pollution, Marine Plastic, and Seafood Safety. 2015.** *Fish and Shellfish*. Vol. 123. doi:10.1016/B978-0-12-811816-0.00013-0.
- Rasooli, Iraj. 2007.** “Food Preservation – A Biopreservative Approach.” *Food* 1 (2): 11–136.
http://www.researchgate.net/profile/Iraj_Rasooli/publication/228364282_Food_preservationA_biopreservative_approach/links/09e41513ffc12af572000000.pdf.
- Remenant, Benoît, Emmanuel Jaffrès, Xavier Dousset, Marie France Pilet, and Monique Zagorec. 2015.** “Bacterial Spoilers of Food: Behavior, Fitness and

Functional Properties.” *Food Microbiology* 45 (PA). Elsevier Ltd: 45–53.
doi:10.1016/j.fm.2014.03.009.

Rodrigues, Bruna Leal, Thiago da Silveira Alvares, Guilherme Sicca Lopes Sampaio, Claudius Couto Cabral, Jasmim Valéria Arcanjo Araujo, Robson Maia Franco, Sergio Borges Mano, and Carlos Adam Conte Junior. 2016. “Influence of Vacuum and Modified Atmosphere Packaging in Combination with UV-C Radiation on the Shelf Life of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Fillets.” *Food Control* 60: 596–605.
doi:10.1016/j.foodcont.2015.09.004.

Rossi, M. 2015. *Chilled Foods: Packaging Under Vacuum. Encyclopedia of Food and Health*. 1st ed. Vol. 2. Elsevier Ltd. doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00146-X.

Saichana, Natsaran, Kazunobu Matsushita, Osao Adachi, Ivo Frébort, and Jitka Frebortova. 2015. “Acetic Acid Bacteria: A Group of Bacteria with Versatile Biotechnological Applications.” *Biotechnology Advances* 33 (6). Elsevier Inc.: 1260–71. doi:10.1016/j.biotechadv.2014.12.001.

Sakanaka, Senji, and Yuuya Ishihara. 2008. “Comparison of Antioxidant Properties of Persimmon Vinegar and Some Other Commercial Vinegars in Radical-Scavenging Assays and on Lipid Oxidation in Tuna Homogenates.” *Food Chemistry* 107 (2): 739–44. doi:10.1016/j.foodchem.2007.08.080.

Sallam, Kh I., A. M. Ahmed, M. M. Elgazzar, and E. A. Eldaly. 2007. “Chemical Quality and Sensory Attributes of Marinated Pacific Saury (*Cololabis Saira*) during Vacuum-Packaged Storage at 4 °C.” *Food Chemistry* 102 (4): 1061–70. doi:10.1016/j.foodchem.2006.06.044.

Silbande, Adèle, Sandra Adenet, Christine Chopin, Josiane Cornet, Juliette Smith-Ravin, Katia Rochefort, and Françoise Leroi. 2018. “Effect of Vacuum and Modified Atmosphere Packaging on the Microbiological, Chemical and Sensory Properties of Tropical Red Drum (*Sciaenops Ocellatus*) Fillets Stored at 4 °C.” *International Journal of Food Microbiology* 266 (May 2017). Elsevier: 31–41. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.015.

Silbande, Adèle, Sandra Adenet, Juliette Smith-Ravin, Jean Jacques Joffraud, Katia Rochefort, and Françoise Leroi. 2016. “Quality Assessment of Ice-Stored Tropical Yellowfin Tuna (*Thunnus Albacares*) and Influence of Vacuum

and Modified Atmosphere Packaging.” *Food Microbiology* 60: 62–72. doi:10.1016/j.fm.2016.06.016.

Sullivan, David Joseph, Shafrina Azlin-Hasim, Malco Cruz-Romero, Enda Cummins, Joseph P. Kerry, and Michael A. Morris. 2018. *Natural Antimicrobial Materials for Use in Food Packaging. Handbook of Antimicrobial Coatings.* Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-811982-2.00011-1.

Torrieri, Elena, Pier Antimo Carlino, Silvana Cavella, Vincenzo Fogliano, Ilaria Attianese, Giovanna Giuliana Buonocore, and Paolo Masi. 2011. “Effect of Modified Atmosphere and Active Packaging on the Shelf-Life of Fresh Bluefin Tuna Fillets.” *Journal of Food Engineering* 105 (3). Elsevier Ltd: 429–35. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.02.038.

Tveteras, Ragnar, Ragnar Nystoyl, and Darryl Jory. 2016. “Global Fish Production Data & Analysis.” *Global Aquaculture Alliance Goal, Guan.* https://www.aquaculturealliance.org/wp-content/uploads/2017/06/Day1_RagnarTveteras.pdf.

Vidaček, Sanja, and Tibor Janči. 2016. “Chapter 5 - Safety of Fish Products,” 79–97. doi:10.1016/B978-0-12-800605-4.00005-0.

Wang, Luxin, and United States. 2018. *The Storage and Preservation of Seafood. Encyclopedia of Food Security and Sustainability.* Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-812687-5.22270-3.

Zhang, Yuemei, Qian Li, Dongping Li, Xiaochang Liu, and Yongkang Luo. 2015. “Changes in the Microbial Communities of Air-Packaged and Vacuum-Packaged Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Stored at 4 °C.” *Food Microbiology* 52. Elsevier Ltd: 197–204. doi:10.1016/j.fm.2015.08.003.

6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

Μποζιάρης, Ι. Σ. (2012). Υγιεινή και Συντήρηση Εδώδιμων Αλιευμάτων. Έκδοση 2.. Κεφάλαιο 2: Μεταθανάτιες μεταβολές. 36. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Σχολή Γεωπονικών Επιστημών. Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος.

