



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**



**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ**  
**ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Επίδραση εδώδιμων μεμβρανών και υγρού καπνού στην συμπεριφορά  
της *Listeria monocytogenes* σε τσιπούρα (*Sparus aurata*)  
κατά την συντήρηση υπό ψύξη**

**ΤΖΟΥΜΚΑΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**

**ΒΟΛΟΣ 2022**

**Επίδραση εδώδιμων μεβρανών και υγρού καπνού στην συμπεριφορά της *Listeria monocytogenes* σε τσιπούρα (*Sparus aurata*) κατά την συντήρηση υπό ψύξη**

Effect of edible films and liquid smoke on fate of *Listeria monocytogenes* on gilt-head seabream (*Sparus aurata*) flesh during chill storage

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

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

***ΣΤΗΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΜΟΥ,  
ΧΡΗΣΤΟ, ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΚΑΙ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟ  
ΠΟΥ ΗΤΑΝ ΠΑΝΤΑ ΔΙΠΛΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΜΕ ΣΤΗΡΙΖΑΝ***



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, η οποία ήταν αποτέλεσμα αναζήτησης και ταυτοχρόνως προσπάθειας ώστε τελικά να θεωρηθεί μια πολύ ευχάριστη και αξέχαστη εμπειρία. Η καθοδήγηση και η συνεργασία με την ομάδα του Εργαστηρίου Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας είναι το δίπτυχο που με βοήθησε να τα καταφέρω και τους είμαι ευγνώμων για αυτό.

Πρώτα από όλα , θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα καθηγητή μου, τον κ. Μποζιάρη Ιωάννη ο οποίος ήταν πάντα διαθέσιμος όποτε τον χρειάστηκα και υποστήριξε την προσπάθεια μου κατά την διάρκεια της εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, κα. Φωτεινή Παρλαπάνη και κα Ελένη Γκολομάζου, για την συμπαράσταση και την καθοδήγηση όλων αυτών τον καιρό.

Επίσης, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους υποψήφιους διδάκτορες κ. Κακάση Στέφανο και κα. Συροπούλου Φαίδρα που με την άμεση και ανιδιοτελή βοήθεια τους πέτυχα να ολοκληρώσω την εργασία αυτή.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια μου και τους φίλους μου που ήταν πάντοτε δίπλα μου κατά την διάρκεια των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία έγινε διερεύνηση της επίδρασης και αποτελεσματικότητας των εδώδιμων επικαλυμμάτων αλγινικών αλάτων (coatings) και υγρών καπνών στους μικροβιακούς πληθυσμούς φιλέτων ιχθύων και σε ενοφθαλμισμένη *Listeria monocytogenes*. Πραγματοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές μεταχειρίσεις σε φιλέτα τσιπούρας (*Sparus aurata*). Η πρώτη μεταχείριση δεν περιείχε καπνό ενώ στις άλλες δύο υπήρξε χρήση των υγρών καπνών G6 και L9 αντίστοιχα. Τα φιλέτα και από τις τρεις μεταχειρίσεις αποθηκεύτηκαν στους 4°C για 10 ημέρες με τις δειγματοληψίες να πραγματοποιούνται κάθε δύο μέρες. Χρησιμοποιώντας τη τεχνική της επίστρωσης σε θρεπτικά υλικά έγιναν καταμετρήσεις του Ολικού Μικροβιακού Πληθυσμού, των αλλοιογόνων βακτηρίων *Pseudomonas* spp., Οξυγαλακτικών και Υδροθειοπαραγωγών βακτηρίων αλλά και του παθογόνου *Listeria monocytogenes*, προκειμένου να γίνει μικροβιολογική ανάλυση και κατά επέκταση παρατήρηση των μεταβολών του μικροβιακού τους προφίλ. Έπειτα από τη σύγκριση των μεταχειρίσεων μεταξύ τους και με τον μάρτυρα, διαπιστώσαμε ότι όλες είχαν δραστηριότητα με την μεγαλύτερη όμως να παρατηρείται υπό την παρουσία καπνού L9. Κατά την όγδοη μέρα παρατηρείται πλέον πως και ο καπνός G6 φτάνει στα επίπεδα δραστηριότητας του L9 καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως η χρήση καπνών έχει καλύτερα αποτελέσματα και πως ο L9 μπορεί να θεωρηθεί ένα υποσχόμενο «όπλο» έναντι των αλλοιογόνων αλλά και παθογόνων μικροοργανισμών.

**Λέξεις–Κλειδιά:** τσιπούρα (*Sparus aurata*), εδώδιμα επικαλύμματα, αλγινικά, υγρή κάπνιση, ψύξη, αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί, *Listeria monocytogenes*

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	.....
1.1 Αλλοίωση των ιχθύων.....	.....
1.2 <i>Sparus aurata</i> ( Τσιπούρα ).....	.....
1.3 Μέθοδοι συντήρησης ιχθύων.....	.....
1.3.1 Κάπνιση.....	.....
1.3.2 Συντήρηση υπό ψύξη.....	.....
1.4 Εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις.....	.....
1.4.1 Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων.....	.....
1.4.2 Πλεονεκτήματα εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων.....	.....
1.4.3 Άλατα αλγινικού οξέος.....	.....
1.5 Παθογόνοι μικροοργανισμοί.....	.....
1.5.1 Παθογόνοι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα.....	.....
1.5.2 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	.....
1.5.3 Χαρακτηριστικά ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> .....	.....
1.6 Ειδικό αλλοιωγόνο μικροοργανισμοί στους ιχθύες.....	.....
1.7 Σκοπός της μελέτης.....	.....

**2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....**

2.1 Προέλευση φιλέτων.....

2.2 Γενικός πειραματικός σχεδιασμός.....

2.3 Εκτίμηση εμπορικού χρόνου ζωής με οργανοληπτική αξιολόγηση.....

2.4 Μικροβιακή ανάλυση.....

**3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....**

**4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....**

**5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....**

**6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - ABSTRACT.....**



## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Αλλοίωση των ιχθύων

Μια μεταβολή που μετατρέπει ένα προϊόν ακατάλληλο για την κατανάλωση του ανθρώπου λογίζεται ως αλλοίωση τροφίμου (Huis in't Veld, 1996). Η αλλοίωση των ιχθύων πιο συγκεκριμένα είναι σύνθετη διαδικασία και αποτέλεσμα τριών διαφορετικών μηχανισμών, αυτός της μικροβιακής δραστηριότητας, της αυτόλυσης καθώς και της χημικής οξείδωσης των λιπιδίων τους (Gram & Huss , 1996).

Κατά την αλλοίωση παρατηρούνται χημικές αντιδράσεις, δηλαδή λαμβάνει χώρα η αποδόμηση τόσο των πρωτεϊνών όσο και λιπιδίων, οι οποίες προκαλούν αρχικά μέσω των μεταβολών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της σάρκας την υποβάθμιση της ποιότητας και εν συνεχεία καθορίζεται η διάρκεια ζωής τους από τη μικροβιολογική δραστηριότητα. Αμέσως μόλις αλιευθούν οι ιχθύες αλλοιώνονται με αλλαγές ορατές στην εμφάνιση τους όπως για παράδειγμα ο σχηματισμός βλέννας ή με αλλαγές στη δομή της σάρκας τους που δεν αναγνωρίζονται εύκολα. Το πόσο επιδρά ο κάθε μηχανισμός στο σύνολο αλλοίωσης εξαρτάται από το είδος του ιχθύος (π.χ. λιπαρός, καρκινοειδές κτλ), τις αρχικές πρακτικές χειρισμού του και τις θερμοκρασίες κατά τη συντήρηση.

Έτσι για τα αλιευτικά προϊόντα που είναι νωπά ή αυτά που έχουν επεξεργαστεί ελαφρά και έχουν σχετικά μικρή διάρκεια εμπορικής ζωής, η υποβάθμιση οφείλεται κυρίως σε βακτηριακή δραστηριότητα. Στα κατεψυγμένα προϊόντα η αλλοίωση παρατηρείται κυρίως λόγω της χημικής και ενζυμικής δραστηριότητας. Η συνεισφορά της χημικής οξείδωσης των λιπιδίων στη συνολική αλλοίωση είναι μεγαλύτερη στα λιπαρά ψάρια από αυτή στα άπαχα ψάρια. Στα δεκάποδα πέρα από τη βακτηριακή δραστηριότητα εντοπίζεται ότι και η ενζυματική αμαύρωση στο κέλυφος δρα αρνητικά με αποτέλεσμα να τα δέχονται λιγότερο οι καταναλωτές (Μποζιάρης, 2012).



Σε ότι αφορά τα νωπά αλιεύματα ο πιο σημαντικός παράγοντας υποβάθμισης της ποιότητας τους αλλά και ο περιοριστικός παράγοντας της διάρκειας του εμπορικού χρόνου ζωής τους είναι η μικροβιακή δράση (Gram and Huss 1996). Τα σημάδια που παρατηρούμε όταν έχει αλλοιωθεί ένα τρόφιμο και κατά συνέπεια πιο συγκεκριμένα ένα αλιεύμα είναι :

- Ανεπιθύμητες οσμές
- Παραγωγή αερίων
- Σχηματισμός της λεγόμενης γλίτσας
- Αλλαγές στο χρώμα, την εμφάνιση αλλά και την υφή

## 1.2 *Sparus aurata* ( Τσιπούρα )

Το είδος *Sparus aurata* ανήκει στην οικογένεια των σπαροειδών (Sparidae) όπου βρίσκονται σχετικά στα ρηγά νερά και συχνά σε βραχώδεις περιοχές. Η τσιπούρα είναι ένα είδος κοινό στη Μεσόγειο και στις ακτές του βορειοανατολικού Ατλαντικού. Τα νεαρά σχηματίζουν κοπάδια και ζουν σε πιο ρηχές περιοχές από τα ενήλικα τα οποία παρουσιάζουν συνήθως απόμερη συμπεριφορά. Η τσιπούρα είναι είδος πρότανδρο ερμαφρόδιτο, σαρκοφάγο που τρέφεται κυρίως με μαλάκια και άλλους βενθικούς οργανισμούς με τη βοήθεια των ισχυρών δοντιών του, ενώ θεωρείται επίσης ψάρι ευρύαλο και ευρύθερμο. Αποτελεί τον κύριο εκτροφεύσιμο ιχθύ της Μεσογείου με την κύρια μέθοδο εκτροφής να είναι σε πλωτούς ή υποβρύχιους ιχθυοκλωβούς. Μαζί με το λαβράκι ( *Dicentrarchus labrax* ) αποτελούν τα κύρια είδη που εκτρέφονται στην Ελλάδα οπότε κατέχει προνομιούχο θέση για την αλιεία μας.

### 1.3 Μέθοδοι συντήρησης ιχθύων

Η λήψη μέτρων για την αντιμετώπιση όλων εκείνων των μεταβολών που προκαλούν την αλλοίωση ή ποιοτική υποβάθμιση των τροφίμων για καθορισμένο χρονικό διάστημα σε συγκεκριμένες συνθήκες ορίζεται ως συντήρηση ιχθύων. Οι κύριοι μέθοδοι συντήρησης ιχθύων είναι:

- Ψύξη
- Κατάψυξη
- Αλάτιση
- Κάπνιση
- Τροποποιημένη ατμόσφαιρα
- Με χρήση θερμότητας - Κονσερβοποίηση
- Βραστά ιχθυοαλλαντικά ( χρήση αυτής της μεθόδου παρατηρείται κυρίως στην Ιαπωνία )

#### 1.3.1 Κάπνιση

Η κάπνιση αναλυτικότερα είναι η μέθοδος κατά την οποία τα αλιεύματα διαποτίζονται με αντισηπτικές ουσίες που παράγονται από την καύση του ξύλου. Χρησιμοποιούνται μη ρητινούχα ξύλα που κατά την καύση τους δεν δίνουν άσχημη μυρωδιά στη σάρκα του ιχθύος (οξιά, βελανιδιά κτλ.). Πριν την κάπνιση τα αλιεύματα πλένονται, εκσπλαχνίζονται, τεμαχίζονται, αλατίζονται και αποξηραίνονται. Είναι μια μέθοδος που συνηθίζεται να εφαρμόζεται στις βόρειες χώρες με σκοπό την παραγωγή αλιευμάτων με ευχάριστο άρωμα και γεύση. Επίσης, με τη δράση του καπνού μεταφέρονται στη σάρκα ουσίες που έχουν βακτηριοστατική ή βακτηριοκτόνο ιδιότητα με αποτέλεσμα να επιμηκύνεται και η διάρκεια ζωής των προϊόντων που παράγονται.

### *Ψυχρή κάπνιση*

Στην περίπτωση αυτή, η αφυδάτωση πραγματοποιείται σε θερμοκρασία που δεν υπερβαίνει τους 37°C. Στη κύρια κάπνιση παράγεται άφθονος και πυκνός καπνός, ενώ η θερμοκρασία στο εσωτερικό του θαλάμου κάπνισης κυμαίνεται από 18 - 33°C. Υπάρχουν κάποιες πιο σπάνιες περιπτώσεις που υπερβαίνουμε αυτές τις τιμές όπως για παράδειγμα η κάπνιση ισχνών ή ημιλιπαρών ιχθύων όπου η θερμοκρασία ορισμένες φορές φτάνει τους 40°C. Η διάρκεια της συνολικής διαδικασίας αφυδάτωσης και κάπνισης μπορεί να χρειαστεί λίγες ώρες έως και εβδομάδες, ανάλογα και το είδος. Στις πιο σύγχρονες εγκαταστάσεις ελέγχονται διαρκώς η θερμοκρασία, η υγρασία, η ταχύτητα κυκλοφορίας και η ανανέωση του αέρα καθώς και η απαιτούμενη ποσότητα του καπνού (Βαρελτζής, 1999).

### *Θερμή κάπνιση*

Σε αυτού του είδους την κάπνιση υπάρχουν διαδικασίες που εξαρτώνται από το είδος και το βαθμό κάπνισης που απαιτεί το τελικό προϊόν. Η θερμή κάπνιση πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες μεταξύ 30-120°C και διακρίνεται σε ήπια (30-50°C) και έντονη (>50°C) (Motohiro, 1988). Στην κλασσική μέθοδο, η αφυδάτωση γίνεται σε θερμοκρασία 30-50°C όπου οι ιχθύες δέχονται ελαφρύ ψήσιμο, ενώ η κύρια κάπνιση γίνεται σε θερμοκρασία από 80-115°C. Ο χρόνος της κύριας κάπνισης ποικίλλει από μερικά λεπτά μέχρι και 1 ώρα και ο συνολικός χρόνος της διαδικασίας αφυδάτωσης και κάπνισης μπορεί να υπερβεί τις 3 ώρες. Στη συγκεκριμένη μέθοδο, δεν χρειάζεται εφύγραση του καπνού και αυτό γιατί κατά την κάπνιση των ιχθύων παρουσιάζονται υδρατμοί που σχηματίζονται από την υψηλή θερμοκρασία και διαθέτουν την ικανότητα διατήρησης της σχετικής υγρασίας του αέρα στα αναγκαία επίπεδα. Με το πέρας της κάπνισης πρέπει το προϊόν στο κέντρο της μάζας να διαθέτει θερμοκρασία 70-80°C.

Το προϊόν πριν συσκευαστεί είναι σημαντικό να ψυχθεί όσο ταχύτερα γίνεται (Davis, 2000). Η μέθοδος της θερμής είναι τουλάχιστον επτά φορές γρηγορότερη από εκείνη της ψυχρής κάπνισης (Βαρελτζής, 1999). Με τη μέθοδο αυτή παρατηρείται μεγαλύτερη απορρόφηση των συστατικών του καπνού και μεγαλύτερη αλληλεπίδραση με τα συστατικά της σάρκας (Maga, 1988). Συνήθως, πριν πραγματοποιηθεί η κάπνιση ή πριν τη συσκευασία, η εξωτερική επιφάνεια των αλιευμάτων επαλείφεται με σπορέλαιο που συμβάλλει ώστε οι καπνιστοί ιχθύες να είναι πιο ελκυστικοί αλλά αποτελεί και ένα είδος λεπτού προστατευτικού επικαλύμματος (Βαρελτζής, 2000).

### *Υγρή κάπνιση*

Αποτελεί νέα μέθοδο με πρωτοπόρο εφαρμογής της τη Γαλλία. Ο υγρός καπνός είναι προϊόν συμπύκνωσης και κλασματικής απόσταξης του καπνού η οποία προέρχεται λόγω της ατελής καύσης των ξύλων. Αναφέρεται λοιπόν σε διάλυμα συμπυκνωμένου καπνού σε νερό ή λάδι ή σε κάποιο εκχύλισμα καπνού σε οργανικούς διαλύτες. Στη διαδικασία αυτής της κάπνισης ψεκάζονται με διαλύματα συγκεκριμένης πυκνότητας υγρού καπνού ή εμβυθίζονται οι ιχθύες αλλά είναι σημαντικό το γεγονός ότι η σύνθεση του υγρού καπνού διαφέρει ανάλογα με τη μέθοδο παρασκευής του. Σημαντικός παράγοντας για την ποιότητα του τελικού προϊόντος θεωρείται η ολική οξύτητα του συμπυκνώματος που προκύπτει. Αν δεν έχουμε αρκετά υψηλή ολική οξύτητα ορισμένες φαινολικές ενώσεις καθιζάνουν καθώς συντηρείται ο υγρός καπνός. Στο εμπόριο κυκλοφορούν συμπυκνώματα καπνού σε στερεή μορφή, όπως σε σκόνη, δεδομένου ότι ο υγρός καπνός μπορεί να προσροφηθεί από καρυκεύματα, σάκχαρα, διάφορους τύπους αμύλου κτλ.

Η χρήση υγρού καπνού πλεονεκτεί σε μερικές παραμέτρους έναντι των προαναφερόμενων μεθόδων κάπνισης, για παράδειγμα:

- Εύκολος και ακριβής προσδιορισμός των αρωματικών ουσιών του καπνού, καθώς και έλεγχος της ποσότητας αυτών.
- Εύκολος διαχωρισμός από τον υγρό καπνό των κλασμάτων των ουσιών που είναι επικίνδυνα για τον καταναλωτή (π.χ. πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες: PAH).
- Λειτουργικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις κλασσικές μεθόδους κάπνισης όπως μείωση προβλημάτων παραγωγής καπνού, μείωση ολικού χρόνου κάπνισης αλλά και μικρότερο κόστος παραγωγής καπνιστών προϊόντων.
- Η επιβάρυνση του περιβάλλοντος είναι μικρότερη σε σχέση με τις κλασσικές μεθόδους κάπνισης. Βέβαια έχει αποδειχθεί μέσω πειραμάτων πως οι ιχθύες που καπνίζονται με τη μέθοδο της υγρής κάπνισης, σε σύγκριση με τις κλασσικές μεθόδους, είναι λιγότερο αρωματικοί και γευστικοί ενώ ταυτοχρόνως συντηρούνται για μικρότερο χρονικό διάστημα (Maga 1988, Βαρελτζής 1999).

### 1.3.2 Συντήρηση υπό ψύξη

Γενικά ως συντήρηση με ψύξη ονομάζουμε την αποθήκευση των τροφίμων σε θερμοκρασίες από -1 έως +15°C. Για τα αλιεύματα η συντήρηση σε ψύξη πραγματοποιείται από τους 0-7°C και αυτό γιατί λογίζονται ως ευαλλοιώτα τρόφιμα (Μποζιάρης, 2012). Παρατηρείται συχνά η χρήση πάγου στην ψύξη των αλιευμάτων κάτι το οποίο έχει δυο πλεονεκτήματα. Αρχικά με το λιώσιμο του πάγου επικρατεί σταθερότητα στη θερμοκρασία στους 0°C με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν διακυμάνσεις στη θερμοκρασία συντήρησης του αλιεύματος. Επίσης, υπάρχει μικρότερος κίνδυνος από τη βραδεία κατάψυξη στις περιπτώσεις μείωσης της θερμοκρασία κάτω από τους 0°C, η οποία υποβαθμίζει σημαντικά την υφή των ιχθύων.

Έπειτα, η επιφάνεια του αλιεύματος διατηρείται συνεχώς υγρή. Με αυτόν τον τρόπο δεν αφυδατώνεται το αλίευμα και διατηρείται ελκυστική η εμφάνιση του αλλά ταυτοχρόνως και η εμπορική του αξία.

Η θερμοκρασία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στα τρόφιμα. Η μικροβιακή ανάπτυξη δεν ενισχύεται από τις χαμηλές θερμοκρασίες και έτσι η διάρκεια ζωής των προϊόντων παρατείνεται για περισσότερο καιρό. Επιπρόσθετα, η σημαντικότητα της θερμοκρασίας διαφαίνεται και στο γεγονός πως οι κυρίαρχοι αλλοιωγόνι μικροοργανισμοί έχουν δικό τους εύρος θερμοκρασίας ανάπτυξης. Όταν τα ψάρια συντηρούνται υπό ψύξη σε αερόβιες συνθήκες και η θερμοκρασία συντήρησης κυμαίνεται από 0-7°C αναπτύσσονται καλύτερα οι ψευδομονάδες, σε σχέση με τους υπόλοιπους μεσόφιλους μικροοργανισμούς, με αποτέλεσμα να είναι οι ειδικοί αλλοιωγόνι μικροοργανισμοί. Σε αναερόβιες συνθήκες ή σε συσκευασία τροποποιημένων ατμοσφαιρών και σε θερμοκρασίες κάτω από 10°C οι μικροοργανισμοί που επικρατούν συνήθως είναι οι ψυχρότροφοι γαλακτοβάκιλλοι. Η διάρκεια ζωής των αλιευμάτων υπό ψύξη εξαρτάται από:

- Τη θερμοκρασία ψύξης
- Το αρχικό μικροβιακό φορτίο
- Τη λιποπεριεκτικότητα των ιχθύων
- Το είδος του αλιεύματος

Ο μικροβιακός πληθυσμός για τους ιχθύες των τροπικών νερών αποτελείται κυρίως από μεσόφιλους μικροοργανισμούς ενώ αυτός των ιχθύων των ψυχρών νερών αποτελείται κυρίως από μεσόφιλους-ψυχρότροφους και ψυχρόφιλους μικροοργανισμούς με αποτέλεσμα να έχουν μικρότερη διάρκεια ζωής σε χαμηλές θερμοκρασίες. Τα περισσότερο λιπαρά ψάρια αλλοιώνονται πιο γρήγορα απ' ό,τι τα μη λιπαρά λόγω και της συνεισφοράς της χημικής οξείδωσης των λιπιδίων.

Επιπλέον, τα ψάρια με μεγαλύτερο αρχικό μικροβιακό φορτίο επειδή ο μικροβιακός πληθυσμός φτάνει πιο γρήγορα στο επίπεδο της αλλοίωσης έχουν μικρότερη διάρκεια. Από τις πιο δημοφιλείς μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση των ιχθύων είναι η ψύξη σε θερμοκρασίες κοντά στους 0°C χωρίς να υποστεί κρυστάλλωση ο μυϊκός τους ιστός (Μποζιάρης, 2012).

#### 1.4 Εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις

Ως εδώδιμη επικάλυψη ορίζεται ένα λεπτό συνεχές στρώμα που χρησιμοποιείται για την επικάλυψη του τρόφιμου ώστε να υπάρξει κυρίως καλύτερη συντήρηση. Όποιο υλικό χρησιμοποιείται για την επικάλυψη διαφόρων ειδών διατροφής με σκοπό να παραταθεί η διάρκεια ζωής ενός προϊόντος και να μπορεί να καταναλωθεί μαζί με το τρόφιμο, είτε αφαιρεθεί είτε όχι, θεωρείται εδώδιμη μεμβράνη ή επικάλυψη. Η διαφορά μεμβράνης και επικάλυψης είναι ότι στην πρώτη υπάρχει ένα προσχηματισμένο λεπτό στρώμα από φυσικά πολυμερή το οποίο τοποθετείται επάνω ή και ανάμεσα στα συστατικά ενός τρόφιμου σε μετέπειτα φάση του προϊόντος ενώ στη δεύτερη το λεπτό στρώμα σχηματίζεται απευθείας στην επιφάνεια με βύθιση ή ψεκάσμο (McHugh, 2000). Οι εδώδιμες μεμβράνες συμβάλλουν στην αποφυγή απώλειας υγρασίας, ενώ προσφέρουν φραγμό και επιτρέπουν επιλεκτικά τη μετανάστευση αερίων όπως το οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα.

Το πάχος της επικάλυψης πρέπει να είναι γενικότερα μικρότερο από 0,3 mm (Embuscado & Huber, 2009). Τα κύρια συστατικά για την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών χωρίζονται σε 3 μεγάλες κατηγορίες, τα υδροκολλοειδή (πρωτεΐνες, παράγωγα κυτταρίνης, αλγινικά, πηκτίνες, άμυλα και άλλους πολυσακχαρίτες), τα λιπίδια (κεριά, ακυλογλυκερολίνες και λιπαρά οξέα) και σύνθετα υλικά, δηλαδή περιέχουν και υδροκολλοειδή και λιπίδια.

Αυτά τα υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα ή μικτά για το σχηματισμό εδώδιμων μεμβρανών με την προϋπόθεση ότι δεν αλλοιώνουν τη γεύση και την εμφάνιση των τροφίμων.

#### **1.4.1 Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων**

Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις παράγονται από εδώδιμα υλικά τα οποία είτε καταναλώνονται μαζί με το προϊόν είτε βιοαποικοδομούνται εύκολα συμβάλλοντας κατά αυτόν τον τρόπο στη μη ρύπανση του περιβάλλοντος. Ο κυριότερος ρόλος των εδώδιμων μεμβρανών είναι η βελτίωση της συντήρησης, καθώς και των μηχανικών, οργανοληπτικών και διατροφικών ιδιοτήτων του τροφίμου. Οι μεμβράνες καθορίζουν το ρυθμό μεταφοράς της υγρασίας ενώ επίσης επιβραδύνουν τη μεταφορά οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα, την απομάκρυνση λιπαρών ουσιών και τη μεταφορά διαλυμένων στο τρόφιμο. Τέλος, συγκρατούν τις αρωματικές ουσίες του προϊόντος και παράλληλα μπορούν να λειτουργήσουν ως φορείς λειτουργικών συστατικών, όπως αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών και άλλων συντηρητικών ελέγχοντας την απελευθέρωσή τους στην επιφάνεια του προϊόντος (Guilbert, Gontard, & Gorris, 1996, Rojas-Grau et al., 2009a).



#### 1.4.2 Πλεονεκτήματα εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

Τα κύρια πλεονεκτήματα τους σε σχέση με άλλες μη εδώδιμες συσκευασίες είναι τα εξής (Varzakas & Tzia, 2016) :

- Καταναλώνονται μαζί με το τρόφιμο κάτι το οποίο την καθιστά μια συσκευασία ιδανική για το περιβάλλον ενώ επίσης παράγονται από εδώδιμες ανανεώσιμες πρώτες ύλες
- Ακόμη και σε περίπτωση μη κατανάλωσης γρήγορα αποσυντίθεται αφού είναι πλήρως βιοδιασπώμενα υλικά
- Ενισχύουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων που επικαλύπτουν, με ουσίες που ενισχύουν το χρώμα , την οσμή και τη γεύση
- Επικάλυψη μεμονωμένων μερίδων τροφίμων που δε μπορούν να συσκευαστούν από πρακτικής άποψης

#### 1.4.3 Άλατα αλγινικού οξέος

Τα αλγινικά είναι υδατοδιαλυτοί πολυσακχαρίτες που σχηματίζουν επικάλυψη μη τοξική, βιοαποδομήσιμη με χαμηλό κόστος που εξάγεται από τα φύκια σχηματίζοντας μεμβράνες με μεγάλη αντοχή λόγω των γραμμικών τους δομών. Χάρη στην ιδιότητα που έχει το άλας να αντιδρά με τα ιόντα ασβεστίου, παρατηρείται ο σχηματισμός τζελ με αποτέλεσμα οι αντοχές και η παρεμποδοστική ικανότητα των επικαλύψεων να είναι άμεσα σε συνάρτηση με τα αλγινικά (Tavassoli- Kafrani et al, 2016).

## 1.5 Παθογόνοι μικροοργανισμοί

Παθογόνος χαρακτηρίζεται ένας μικροοργανισμός ο οποίος χρησιμοποιεί έναν άλλον οργανισμό ως ξενιστή και του προκαλεί διαταραχές στην ομοίωσή του και κατά επέκταση ασθένειες. Η είσοδος παθογόνου μικροοργανισμού στον ξενιστή ονομάζεται μόλυνση, ενώ η προσαρμογή και ο πολλαπλασιασμός του είναι η λοίμωξη. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί μπορεί να είναι ευκαρυωτικοί, προκαρυωτικοί ή ιοί. Οι ιοί αποτελούν ακυτταρικές, μη αυτοτελείς μορφές ζωής. Στους ευκαρυωτικούς ανήκουν τα πρωτόζωα και οι μύκητες, ενώ στους προκαρυωτικούς τα βακτήρια.

### 1.5.1 Παθογόνοι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα

Οι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι παθογόνοι ή οι αλλοιωγόνοι, ενώ στη δεύτερη οι χρήσιμοι μικροοργανισμοί (π.χ κάποιες ζύμες). Η μετάδοση των παθογόνων στα τρόφιμα αποτελεί τον πιο σοβαρό κίνδυνο επιμόλυνσης και μπορεί να οδηγήσει στην αλλοίωση του τροφίμου, σε τροφολοιμώξεις ή ακόμη και στον θάνατο. Οι παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη των παθογόνων σε ένα τρόφιμο μπορεί να είναι ενδογενείς και εξωγενείς. Στους ενδογενείς αναφερόμαστε στα φυσικά χαρακτηριστικά του τροφίμου και περιλαμβάνουν τα θρεπτικά συστατικά, την οξύτητα (pH), την ενεργότητα του νερού (aw) και τους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Οι εξωγενείς παράγοντες αφορούν τις συνθήκες του περιβάλλοντος που με τη σειρά τους περιέχουν τη θερμοκρασία, την υγρασία, την πίεση της ατμόσφαιρας καθώς και τις μερικές πιέσεις οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Παραδείγματα παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα-αλιεύματα είναι το γένος *Salmonella*, η *Listeria monocytogenes*, το *Clostridium botulinum* και τα τοξικά στελέχη της *Escherichia coli*.

### 1.5.2 *Listeria monocytogenes*

Τα βακτήρια του γένους *Listeria* είναι gram-θετικά, μη σπορογόνα και ραβδόμορφα βακτήρια που τα κατατάσσανε με το όνομα *Listerella* μέχρι το 1940 που η ονομασία άλλαξε σε *Listeria*. Υπάρχουν 9 είδη *Listeria spp.* τα οποία είναι: *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, *Listeria ivanovii*, *Listeria grayi*, *Listeria murrayi*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria marthii*, *Listeria rocourtiae* (Milillo et al., 2012). Το παθογόνο είδος για τον άνθρωπο είναι η *L.monocytogenes*. Ο μικροοργανισμός περιγράφηκε πρώτη φορά ως βάκιλος το 1926 (Murray et al., 1926), με το πρώτο κρούσμα λιστερίωσης να αναφέρεται το 1929. Η *L.monocytogenes* είναι λοιπόν ένα Gram+, μικρο-αερόφιλο, μη σπορογόνο ραβδόμορφο βακτήριο του οποίου η διάμετρος κυμαίνεται από 0,4-0,5 μm και το μήκος του από 0,5-2 μm. Συναντάται ευρέως στο περιβάλλον, κυρίως στο έδαφος, την χλωρίδα και το νερό (Weis & Seeliger, 1975), αποτελώντας έναν οργανισμό που δεν ελέγχεται εύκολα στους χώρους επεξεργασίας τροφίμων λόγω της ύπαρξης του παντού στη φύση και της ικανότητας να πολλαπλασιάζεται σε θερμοκρασίες κατάψυξης, μειωμένες συνθήκες οξυγόνου και τιμές pH < 5 (Golden et al., 1988, Bacon & Sofos, 2003). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να διαθέτει έναν ικανό μηχανισμό αντίστασης στις διαδικασίες υγιεινής και συντήρησης (Lou & Yousef, 1999). Το βακτήριο είναι υπεύθυνο για την ασθένεια με ονομασία λιστερίωση και προκαλείται από την κατανάλωση τροφίμων που έχουν μολυνθεί από το παθογόνο. Εμφάνιση της παρατηρείται σε ευαίσθητους πληθυσμούς όπως αυτούς των έγκυων γυναικών, των ηλικιωμένων, των ατόμων με χαμηλό ανοσοποιητικό σύστημα και των νεογνών. Η συχνότητα της νόσου είναι χαμηλή όμως η νόσηση θεωρείται σοβαρή λόγω της υψηλής θνησιμότητας στις ευπαθείς ομάδες. Τα συμπτώματα είναι πυρετός, μυαλγίες και μερικές φορές

εμετός, κοιλιακοί πόνοι και διάρροια μοιάζοντας με μια κοινή γρίπη. Αν η λοίμωξη επεκταθεί στο νευρικό σύστημα μπορεί να οδηγήσει σε μηνιγγίτιδα.

### 1.5.3 Χαρακτηριστικά ανάπτυξης *Listeria monocytogenes*

- Οξύτητα: Βέλτιστο pH 7-7,5 (Petran & Zottola, 1989), αύξηση οργανισμού και σε πιο όξινες τιμές (μέχρι pH=4) με προϋπόθεση η θερμοκρασία επώασης να είναι κοντά στο βέλτιστο για την αύξηση του οργανισμού (Lou & Yousef, 1999).
- Θερμοκρασία: Βέλτιστη 30-37 °C αλλά ικανότητα αύξησης από 1-45 °C (Junttila et al., 1988) (Torad., 2012b)
- Ενεργότητα νερού (aw): Βέλτιστη τιμή 0,97 (Petran-Zottola, 1989), αύξηση οργανισμού και σε τιμές μικρότερες του 0,9 (Lou & Yousef, 1999).

### 1.6 Ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί στους ιχθύες

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). Αυτό οφείλεται στους μεταβολίτες των μικροοργανισμών οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις χαρακτηριστικές δυσάρεστες οσμές στα τρόφιμα και επομένως την οργανοληπτική απόρριψη, οπότε οι αλλαγές αυτές γίνονται αντιληπτές λόγω των μεταβολών που παρατηρούνται στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων που έχουν αλιευθεί, όπως για παράδειγμα η γενική εμφάνιση ή το άρωμα (Parlapani et al., 2014). Οι Ειδικοί Αλλοιωγόνοι Μικροοργανισμοί (EAM) αποτελούν την κυριότερη αιτία της ποιοτικής υποβάθμισης των νωπών αλιευτικών προϊόντων (Gram & Huss, 1996, Gram & Dalgaard, 2002). Οι EAM σε σχέση με τους

υπόλοιπους μικροοργανισμούς αναπτύσσονται με μεγαλύτερο ρυθμό και όταν ο πληθυσμός τους πλησιάσει στο επίπεδο αλλοίωσης των 7-9 log cfu/g τότε οι ουσίες που έχουν παραχθεί έχουν φτάσει σε συγκεντρώσεις που φέρνουν την οργανοληπτική απόρριψη του προϊόντος (Dalgaard et al., 1993, Gram & Huss, 1996, Huis in't Veld, 1996). Το επίπεδο ανάπτυξης των ΕΑΜ είναι ικανό να οριστεί ως το ελάχιστο επίπεδο αλλοίωσης για ένα προϊόν και η συγκέντρωση του μεταβολίτη που αντιπροσωπεύει την αλλοίωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χημικός δείκτης αλλοίωσης (Dalgaard, 1993). Η επικράτηση των ΕΑΜ δεν είναι σίγουρη και σε κάθε περίπτωση επηρεάζεται από παράγοντες όπως η επεξεργασία, η μεταφορά και η συντήρηση (Nychas et al., 2008). Οι μικροοργανισμοί που τελικά επικρατούν είναι αυτοί που προσαρμόζονται καλύτερα στο μικροπεριβάλλον του τροφίμου.

### 1.7 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης εδώδιμων επικαλυμμάτων αλγινικών αλάτων (coatings) μόνα τους και σε συνδυασμό με υγρό καπνό, ο οποίος χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία αλιευτικών προϊόντων-τροφίμων για τη συντήρηση των ιχθυηρών με κάπνιση, στο μικροβιακό προφίλ και στον εμπορικό χρόνο ζωής φιλέτων τσιπούρας. Πιο συγκεκριμένα με τον παραπάνω συνδυασμό εξετάστηκε η ικανότητα ανάπτυξης των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και του παθογόνου *Listeria monocytogenes* στα φιλέτα αλλά και η πορεία αλλοίωσης των φιλέτων αποθηκευμένα υπό ψύξη (4°C).

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Προέλευση φιλέτων

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

### 2.2 Γενικός πειραματικός σχεδιασμός

Οι ιχθύες αρχικά φιλετοποιήθηκαν και στη συνέχεια τεμάχια βάρους 10 g το καθένα εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1.5% (w/v) και γλυκερόλη 10% (v/v) (μεταχείριση Α), σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1.5% (w/v), γλυκερόλη 10% (v/v) και 0.4% υγρό καπνό G6 (μεταχείριση Β), καθώς και σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1.5% (w/v), γλυκερόλη 10% (v/v) και 0.2% υγρό καπνό L9 (μεταχείριση Γ). Επιπλέον, φιλέτα των 10 g χωρίς καμία επιπλέον μεταχείριση χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες (control). Στη συνέχεια, τα φιλέτα και από τις τρεις μεταχειρίσεις αποθηκεύθηκαν στους 4°C για 10 ημέρες. Οι δειγματοληψίες για μικροβιολογική ανάλυση πραγματοποιούνταν κάθε δύο μέρες.

### 2.3 Εκτίμηση εμπορικού χρόνου ζωής με οργανοληπτική αξιολόγηση

Η οργανοληπτική αξιολόγηση πραγματοποιούνταν σε κάθε δειγματοληψία πριν την έναρξη των αναλύσεων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε πενταβάθμια κλίμακα, και η αξιολόγηση των οργανοληπτικών παραμέτρων (εμφάνιση, οσμή, κτλ) έγινε σύμφωνα με τον Οδηγό της Ευρωπαϊκής Ένωσης Multilingual Guide to EU Freshness Grades for Fishery Products (Howgate et al., 1992). Έτσι, με 5 βαθμολογήθηκε το άριστο (E), με 4, 3 και 2 το φρέσκο (A), το αποδεκτό (B) και μη αποδεκτό (C), αντίστοιχα, ενώ με 1 το αλλοιωμένο.

Βάσει της γενικής βαθμολογίας, ως χρόνος απόρριψης ορίστηκε ο χρόνος όπου το προϊόν βαθμολογήθηκε με 2 έστω από έναν εκ των 5 κριτών.

## 2.4 Μικροβιολογική ανάλυση

### Μικροβιολογικά υλικά και edώδιμα χημικά αντιδραστήρια

Τα μικροβιολογικά υλικά προέρχονταν από την LAB M (Lancashire, UK) εκτός από το Iron agar (IA) το οποίο προετοιμάστηκε σύμφωνα με τους Gram et al. (1987) και περιείχε τα παρακάτω: peptone 20 g l<sup>-1</sup>, meat extract 3.0 g, yeast extract 3.0 g l<sup>-1</sup>, ferric citrate 3.0 g l<sup>-1</sup>, sodium thiosulphate 0.3 g l<sup>-1</sup>, NaCl 5 g, L-cysteine 0.6 g l<sup>-1</sup>, agar 14 g l<sup>-1</sup>. Το pH ρυθμίσθηκε στο 7.4. Τα χημικά αντιδραστήρια προέρχονταν από την Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Η γλυκερόλη (φυτική) και το αλγινικό νάτριο προέρχονταν από την εταιρεία Manis Chemicals (Ελλάδα).

### Διαδικασία ενοφθαλισμού φιλέτων με *Listeria monocytogenes* :

Η διαδικασία του ενοφθαλισμού αφορούσε την αναζωογόνηση του στελέχους *Listeria monocytogenes* σε TSB στους 37 °C για 24 ώρες. Εμβολιάσαμε αρχικά τα φιλέτα με 100 μl πληθυσμού 10<sup>3</sup> Cfu/g.

### Διαδικασία παρασκευής θρεπτικών υποστρωμάτων:

#### *Palcam Agar (Polymyxin Acriflavine Lithium chloride Ceftazidime Mannitol)*

Σε μία φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 71 g σε 1000 ml απιονισμένου νερού. Ύστερα το διάλυμα αποστειρώθηκε στους 121 °C για 15 min και αφού ολοκληρώθηκε η διαδικασία, τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο μέχρι η θερμοκρασία του να φτάσει στους 47 °C.

Κατόπιν, προστέθηκε το αντιβιοτικό X144, αναμείχθηκε με το θρεπτικό υπόστρωμα επαρκώς και μοιράστηκε σε τρυβλία Petri.

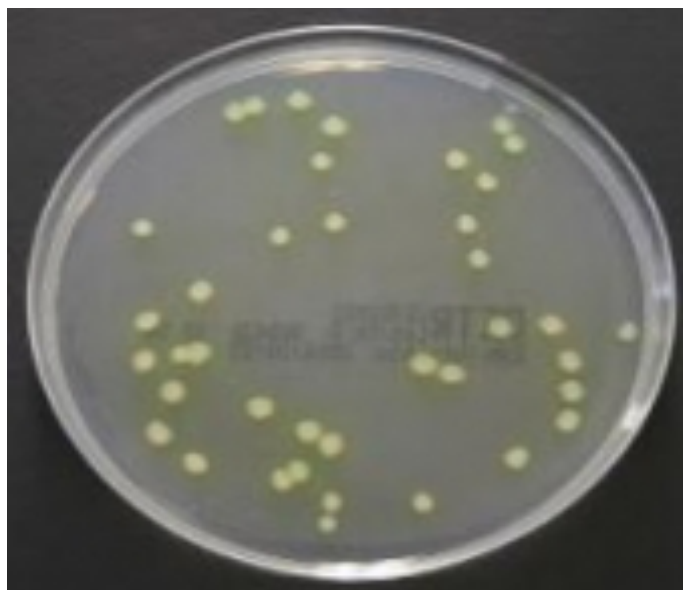


**Εικόνα 2.1** Ανάπτυξη βακτηρίων του γένους *Listeria monocytogenes* σε θρεπτικό υλικό Palcam

#### *Cetrimide–Fucidin–Cephaloridine agar (CFC)*

Σε μια φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 25.2 g θρεπτικού υλικού και συμπληρώθηκαν 500 ml απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια συμπληρώθηκαν 5 ml γλυκερόλης και πραγματοποιήθηκε ανάδευση σε επαγωγική εστία μέχρι να ομογενοποιηθεί το θρεπτικό. Το θρεπτικό αποστειρώθηκε σε αυτόκαυστο στους 121 °C για 15 min. Το τελικό pH ήταν  $7.1 \pm 0.2$  στους 25 °C. Στη συνέχεια το θρεπτικό αφέθηκε να κρυώσει σε υδατόλουτρο μέχρι τους 45 έως 50 °C και προστέθηκε ένα φιαλίδιο με εκλεκτικό υλικό CFC, αφού πρώτα διαλύθηκε σε 5 ml αποστειρωμένο νερό με 50 % αιθανόλη. Στη συνέχεια ακολούθησε η διαδικασία ενσωμάτωσης, όπου μικρή ποσότητα θρεπτικού μοιράστηκε εξίσου σε τρυβλία Petri. Αφέθηκε σε κατάσταση ηρεμίας ώστε να στερεοποιηθεί πλήρως στα τρυβλία και στη συνέχεια αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία 5-10°C για μελλοντική χρήση.





**Εικόνα 2.2** Ανάπτυξη βακτηρίων του γένους *Pseudomonas* spp., σε θρεπτικό υλικό CFC

#### *Iron agar (IA) κατά Lyngby*

Iron agar (IA) κατά Lyngby το οποίο προετοιμάστηκε σύμφωνα με τους Gram et al. (1987) και περιείχε τα παρακάτω: peptone 20 g l<sup>-1</sup> , meat extract 3.0 g, yeast extract 3.0 g l<sup>-1</sup> , ferric citrate 3.0 g l<sup>-1</sup> , sodium thiosulphate 0.3 g l<sup>-1</sup> , NaCl 5 g, L-cysteine 0.6 g l<sup>-1</sup> , agar 14 g l<sup>-1</sup> . Το pH ρυθμίστηκε στο 7.4. Τα χημικά αντιδραστήρια προέρχονταν από την Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

#### *De Man, Rogosa, Sharpe agar (MRS)*

Σε μια φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 70.0 g θρεπτικού υλικού σε 1000 ml απιονισμένου νερού. Το θρεπτικό θερμάνθηκε μέχρις ότου ομογενοποιηθεί και έπειτα αποστειρώθηκε στους 121 °C για 15 min. Αφού το θρεπτικό κρύωσε μέχρι τους 45 έως 50 °C, ρυθμίστηκε το pH στα 6.4 ± 0.2 και στη συνέχεια μοιράστηκε σε τρυβλία Petri.



**Εικόνα 2.3** Ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων σε θρεπτικό υλικό MRS

### Μικροβιολογική ανάλυση

Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν διπλά δείγματα σάρκας των 10g (για τον μάρτυρα και για τις δύο μεταχειρίσεις) μεταφέρονταν ασηπτικά σε αποστειρωμένες σακούλες, προστίθονταν 90 ml Maximum Recovery Diluent (MRD-NACL 0,85% και 0,1% Peptone) και ακολουθούσε ομογενοποίηση για 2 λεπτά σε συσκευή τύπου Stomacher (Bug Mixer, Interscience, London, UK). Στη συνέχεια ακολούθησαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις των δειγμάτων με μεταφορά 1 ml από κάθε αραιώση στον επόμενο δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε εννεαπλάσια ποσότητα αραιωτικού μέσου.

Οι μικροοργανισμοί που απαριθμήθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική της επίστρωσης ήταν α) Ολικός Μικροβιακός Πληθυσμός σε TSA (Tryptone Soy Agar) μετά από επώαση των τρυβλίων στους 25°C για 48-72 ώρες, β) *Pseudomonas* spp. σε CFC *Pseudomonas* Agar (Cetrimide-Fucidin-Cephaloridine agar) με καταμέτρηση των αποικιών, μετά από επώαση στους 25°C για 48 ώρες γ) βακτήρια που παράγουν H<sub>2</sub>S σε IA (Iron Agar), με καταμέτρηση μόνο των μαύρων αποικιών, μετά από επώαση των τρυβλίων στους 25°C για 48 ώρες, δ) Οξυγαλακτικά

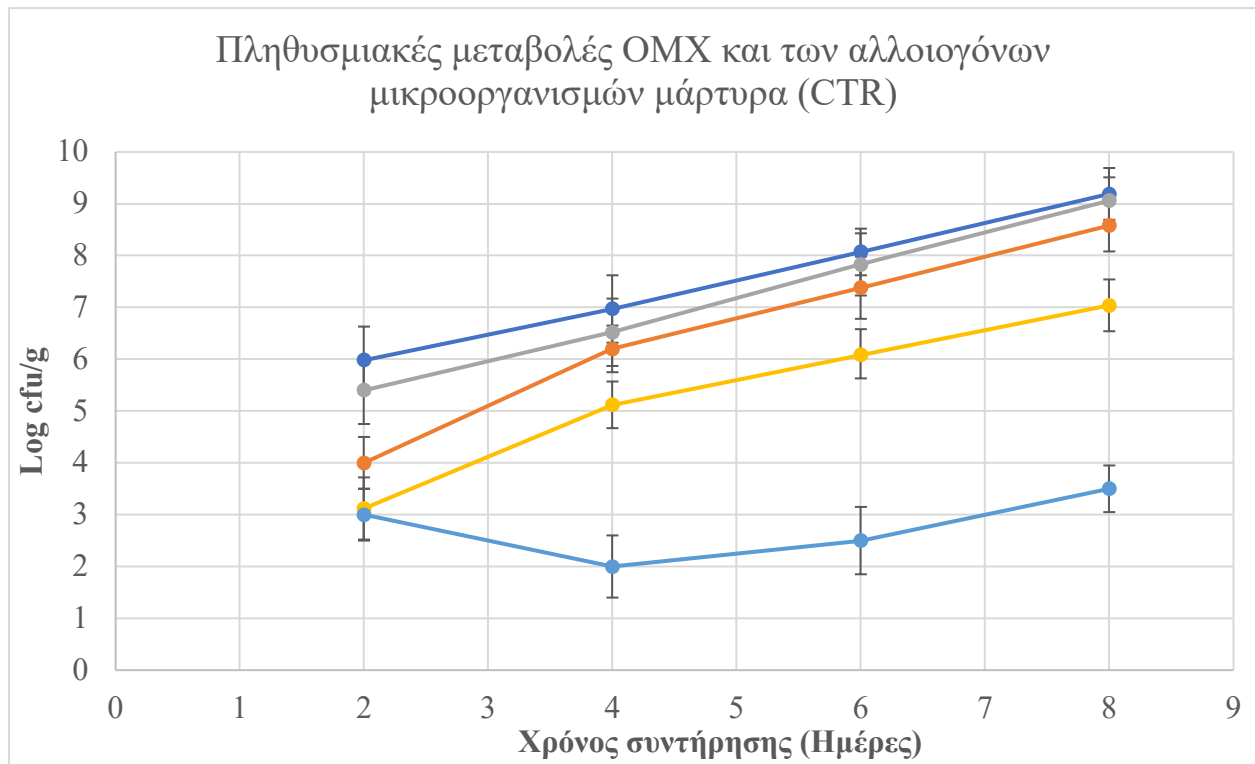
βακτήρια σε MRS Agar (Mann, Rogosa, Sharpe agar), με καταμέτρηση των αποικιών, μετά από επώαση στους 25°C για 48-72 ώρες και ε) βακτήρια του γένους *Listeria monocytogenes* σε Palcam Agar ((Polymyxin Acriflavine Lithium chloride Ceftazidime Mannitol) με καταμέτρηση μαύρων αποικιών.



### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι πληθυσμιακές μεταβολές της OMX, των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών των ιχθύων (συγκεκριμένα των *Pseudomonas* spp., υδροθειοπαραγωγών (H<sub>2</sub>S) βακτηρίων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων) καθώς και βακτηρίων του είδους *Listeria monocytogenes*, στα τεμάχια τσιπούρας κάθε μεταχείρισης, αποθηκευμένων στους 4°C, φαίνονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 3.1-3.4).

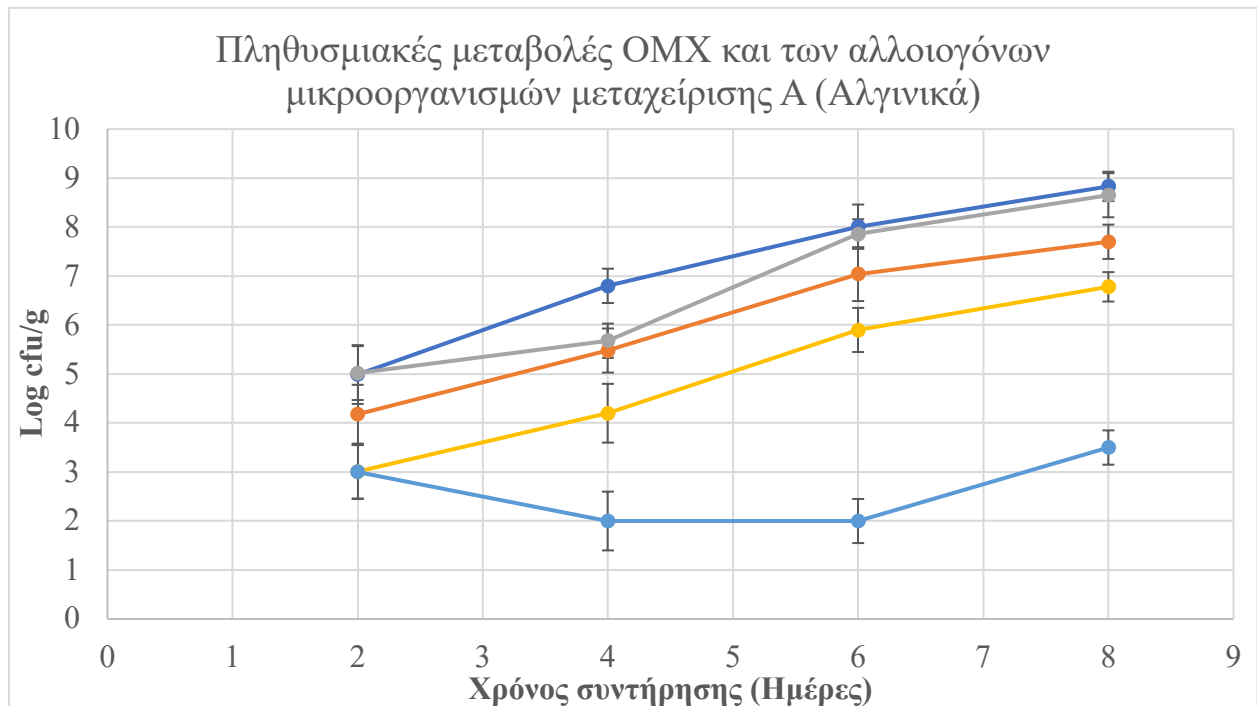
ΜΑΡΤΥΡΑΣ: ΦΙΛΕΤΑ ΧΩΡΙΣ ΚΑΜΙΑ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΩΣ CONTROL



**Εικόνα 3.1** Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX, των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών καθώς και του *Listeria monocytogenes* σε φιλέτα τσιπούρας (μάρτυρας), κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών. Ολικός μικροβιακός πληθυσμός

(μπλε γραμμή), *Pseudomonas* spp. (γκρι γραμμή), βακτήρια που παράγουν H<sub>2</sub>S (πορτοκαλί γραμμή), και οξυγαλακτικά βακτήρια (κίτρινη γραμμή) και βακτήρια *Listeria monocytogenes* (γαλάζια γραμμή).

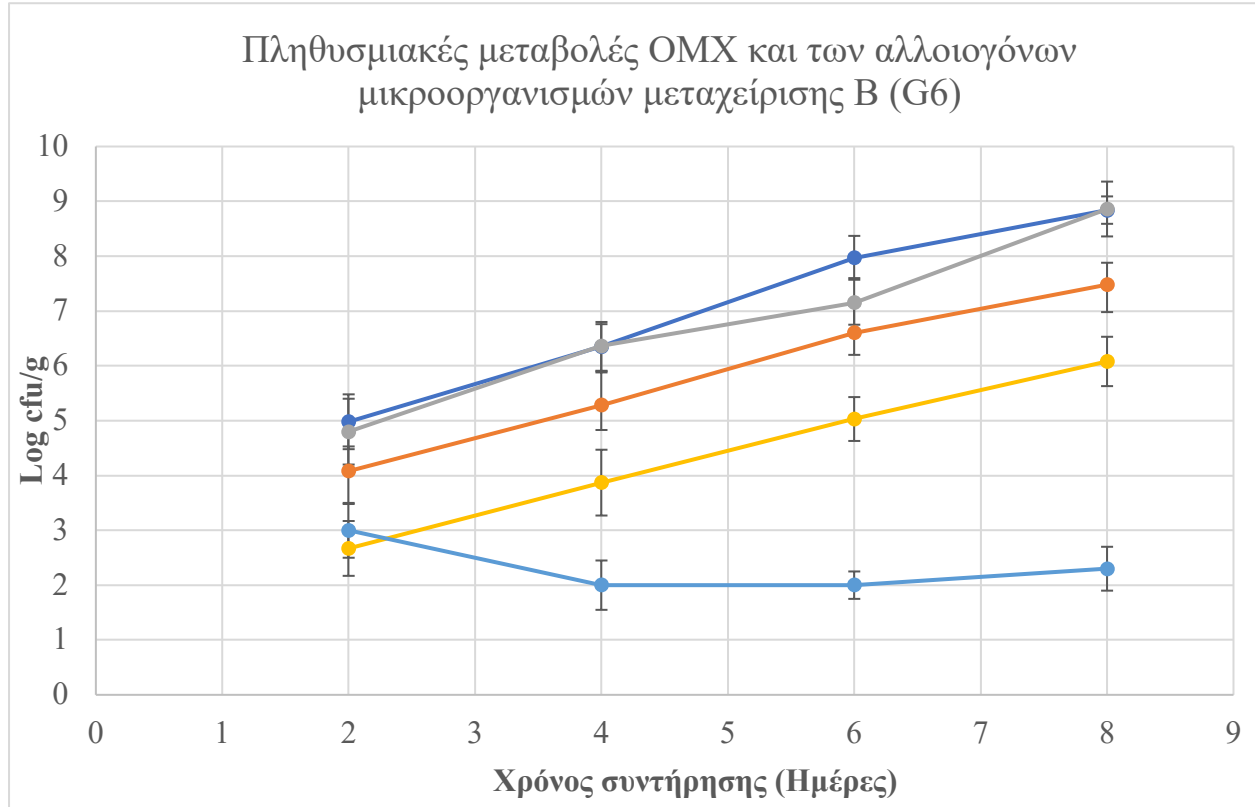
**ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ Α: ΦΙΛΕΤΑ ΕΜΒΑΠΤΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΜΕ ΑΛΓΙΝΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ ΚΑΙ ΓΛΥΚΕΡΟΛΗ**



**Εικόνα 3.2** Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX, των αλλοιογόνων μικροοργανισμών καθώς και του *Listeria monocytogenes* σε φιλέτα τσιπούρας που εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1.5% (w/v) και γλυκερόλη 10% (v/v) (μεταχείριση Α), κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών. Ολικός μικροβιακός πληθυσμός (μπλε γραμμή), *Pseudomonas* spp. (γκρι γραμμή), βακτήρια που παράγουν H<sub>2</sub>S

(πορτοκαλί γραμμή), οξυγαλακτικά βακτήρια (κίτρινη γραμμή) και βακτήρια *Listeria monocytogenes* (γαλάζια γραμμή).

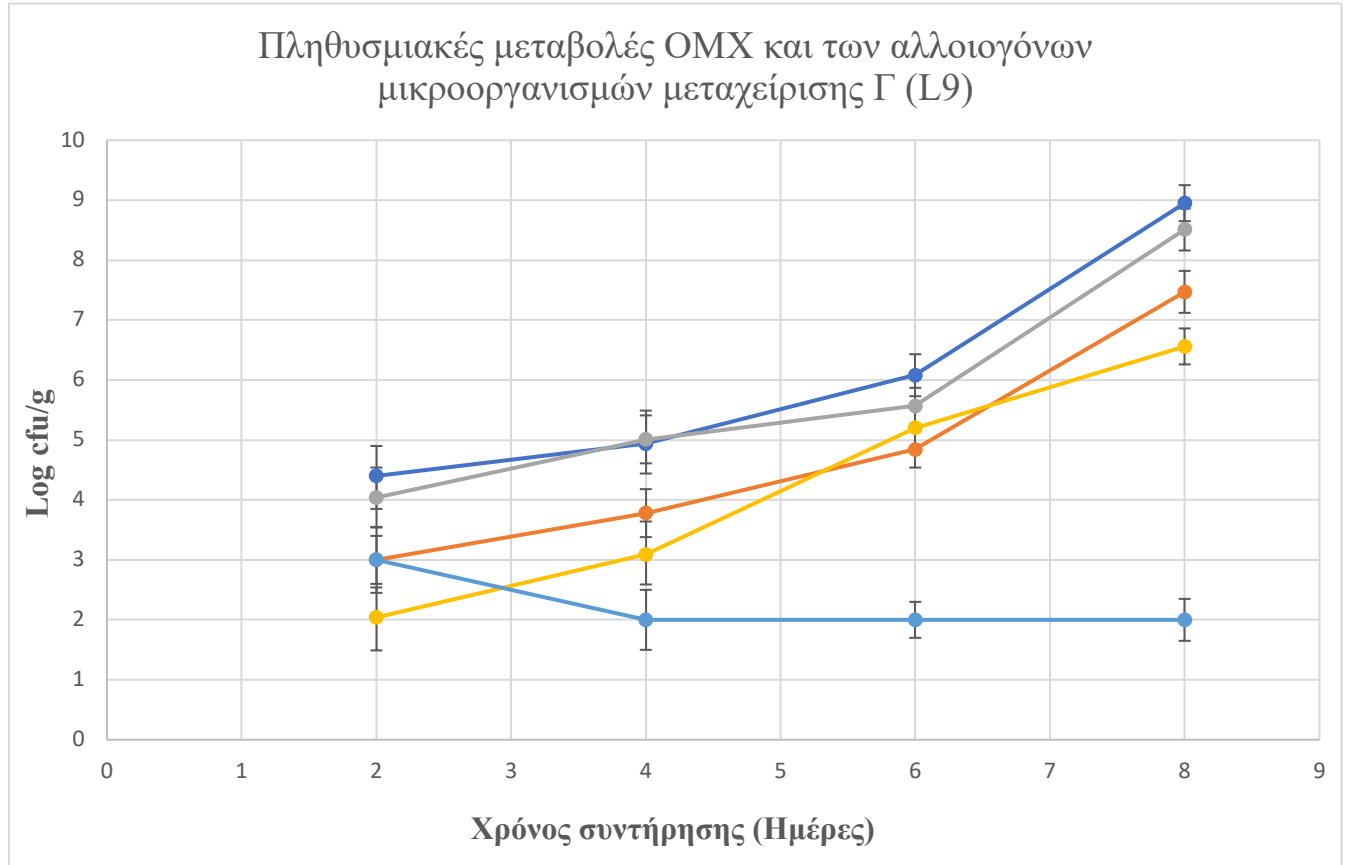
ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ Β: ΦΙΛΕΤΑ ΕΜΒΑΠΤΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΜΕ ΑΛΓΙΝΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ, ΓΛΥΚΕΡΟΛΗ ΚΑΙ ΚΑΠΝΟ G6



**Εικόνα 3.3** Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX, των αλλοιογόνων μικροοργανισμών καθώς και του *Listeria monocytogenes* σε φιλέτα τσιπούρας που εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1.5% (w/v), γλυκερόλη 10% (v/v) και 0.4% υγρό καπνό G6 (μεταχείριση Β), κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών. Ολικός μικροβιακός πληθυσμός (μπλε γραμμή), *Pseudomonas* spp. (γκρι γραμμή), βακτήρια που

παράγουν  $H_2S$  (πορτοκαλί γραμμή), οξυγαλακτικά βακτήρια (κίτρινη γραμμή) και βακτήρια *Listeria monocytogenes* (γαλάζια γραμμή).

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ Γ: ΦΙΛΕΤΑ ΕΜΒΑΠΤΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΜΕ ΑΛΓΙΝΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ, ΓΛΥΚΕΡΟΛΗ ΚΑΙ ΚΑΠΝΟ L9



**Εικόνα 3.4** Πληθυσμιακές μεταβολές της OMX, των αλλοιογόνων μικροοργανισμών καθώς και του *Listeria monocytogenes* σε φιλέτα τσιπούρας που εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα που περιείχε αλγινικό νάτριο 1.5% (w/v), γλυκερόλη 10% (v/v) και 0.2% υγρό καπνό L9 (μεταχείριση Γ), κατά τη διάρκεια της συντήρησης σε αερόβιες συνθήκες στους 4°C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων που προέκυψαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών. Ολικός μικροβιακός πληθυσμός (μπλε γραμμή), *Pseudomonas* spp. (γκρι γραμμή), βακτήρια που

παράγουν H<sub>2</sub>S (πορτοκαλί γραμμή), οξυγαλακτικά βακτήρια (κίτρινη γραμμή) και βακτήρια *Listeria monocytogenes* (γαλάζια γραμμή).

Τη δεύτερη ημέρα της συντήρησης, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 5,98 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα (CTR) , στα επίπεδα των 4,99 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α (Αλγινικά), στα επίπεδα των 4,98 στα φιλέτα της μεταχείρισης Β (G6) , ενώ στα επίπεδα των 4,4 στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ(L9) . Τα υδροθειοπαράγωγα (H<sub>2</sub>S) βρέθηκαν σε πληθυσμό 4 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα , σε πληθυσμό των 4,18 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 4,08 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και σε πληθυσμό 3 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Έπειτα, τα *Pseudomonas* βρέθηκαν στα επίπεδα των 5,4 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, βρέθηκαν στα επίπεδα των 5,02 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, στα επίπεδα των 4,8 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β, ενώ στα επίπεδα των 4,04 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Επίσης, τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρέθηκαν σε πληθυσμό των 3,12 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, σε πληθυσμό 3,01 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 2,67 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και 2,04 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Τέλος σε ότι αφορά τα επίπεδα *Listeria* είχαμε σε όλες τις μεταχειρίσεις πληθυσμό 3 log cfu/g.

Την τέταρτη ημέρα της συντήρησης, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 6,97 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα (CTR) , στα επίπεδα των 6,8 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α (Αλγινικά), στα επίπεδα των 6,35 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β (G6) , ενώ στα επίπεδα των 4,94 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ(L9). Τα υδροθειοπαράγωγα (H<sub>2</sub>S) βρέθηκαν σε πληθυσμό 6,2 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα , σε πληθυσμό των 5,48 log cfu/g στα φιλέτα της



μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 5,28 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και σε πληθυσμό 3,78 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Έπειτα, τα *Pseudomonas* βρέθηκαν στα επίπεδα των 6,52 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, βρέθηκαν στα επίπεδα των 5,68 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, στα επίπεδα των 6,36 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β, ενώ στα επίπεδα των 5,01 στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Επίσης, τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρέθηκαν σε πληθυσμό των 5,12 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, σε πληθυσμό 4,2 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 3,87 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και 3,09 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Τέλος σε ότι αφορά τα επίπεδα *Listeria* είχαμε σε όλες τις μεταχειρίσεις πληθυσμό 2 log cfu/g.

Την έκτη ημέρα της συντήρησης, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 8,07 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα (CTR) , στα επίπεδα των 8,01 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α (Αλγινικά), στα επίπεδα των 7,97 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β (G6) , ενώ στα επίπεδα των 6,08 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ(L9) . Τα υδροθειοπαράγωγα (H<sub>2</sub>S) βρέθηκαν σε πληθυσμό 7,38 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα , σε πληθυσμό των 7,04 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 6,6 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και σε πληθυσμό 4,84 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Έπειτα, τα *Pseudomonas* βρέθηκαν στα επίπεδα των 7,83 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, βρέθηκαν στα επίπεδα των 7,86 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, στα επίπεδα των 7,15 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β, ενώ στα επίπεδα των 5,57 στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Επίσης, τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρέθηκαν σε πληθυσμό των 6,08 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, σε πληθυσμό 5,9 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 5,03 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και 5,2 log cfu/g στα

φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Τέλος σε ότι αφορά τα επίπεδα *Listeria* είχαμε σε όλες τις μεταχειρίσεις πληθυσμό 2 log cfu/g εκτός από τον μάρτυρα όπου είχαμε 2,5 log cfu/g.

Την όγδοη ημέρα της συντήρησης, η OMX βρέθηκε στα επίπεδα των 9,19 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα (CTR) , στα επίπεδα των 8,83 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α (Αλγινικά), στα επίπεδα των 8,84 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β (G6) , ενώ στα επίπεδα των 8,95 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ(L9) . Τα υδροθειοπαράγωγα (H<sub>2</sub>S) βρέθηκαν σε πληθυσμό 8,58 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα , σε πληθυσμό των 7,7 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 7,48 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και σε πληθυσμό 7,47 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Έπειτα, τα *Pseudomonas* βρέθηκαν στα επίπεδα των 9,06 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, βρέθηκαν στα επίπεδα των 8,65 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, στα επίπεδα των 8,86 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β, ενώ στα επίπεδα των 8,51 στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Επίσης, τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρέθηκαν σε πληθυσμό των 7,04 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, σε πληθυσμό 6,78 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, σε πληθυσμό 6,08 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Β και 6,56 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ. Τέλος σε ότι αφορά τα επίπεδα *Listeria* ο πληθυσμός ήταν 3,5 log cfu/g στα φιλέτα του μάρτυρα, 3,5 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Α, 2,3 log cfu/g σε αυτά της μεταχείρισης Β και 2 log cfu/g στα φιλέτα της μεταχείρισης Γ.

Σε ότι αφορά την οργανοληπτική αξιολόγηση για την κάθε μεταχείριση υπήρξαν διαφορετικές παρατηρήσεις. Με το πέρας των δύο πρώτων ημέρων και πριν την έναρξη των αναλύσεων σε όλες μας τις μεταχειρίσεις στα φιλέτα δεν παρατηρήθηκε αλλοίωση στη γενική εμφάνιση παρά μονάχα μικρή αλλοίωση στο άρωμα. Εξάιρεση αποτέλεσε μονάχα ο μάρτυρας ο

οποίος από τις πρώτες κιόλας μέρες παρουσίασε αλλαγές και στην εμφάνιση και στην οσμή. Αυτό διότι δεν είχε υπάρξει ακόμη μεγάλη ανάπτυξη των μικροοργανισμών στις μεταχειρίσεις και συνεπώς βαθμολογήσαμε τα φιλέτα μας σύμφωνα με την κλίμακα που ορίσαμε με 4 (A) το οποίο θεωρείται ως φρέσκο προϊόν και του μάρτυρα με 3 (B) δηλαδή αποδεκτό. Την τέταρτη μέρα παρουσιάστηκαν τα πρώτα σημάδια αλλαγών στην εμφάνιση αλλά και στην οσμή σε όλες τις μεταχειρίσεις που ήταν σαφώς πιο έντονη και πλησίασαν τα επίπεδα του μάρτυρα με αποτέλεσμα να τα αξιολογήσουμε όλα με 2 (B) και να μη θεωρούνται αποδεκτά. Αυτό συνέβη σε όλες τις μεταχειρίσεις εκτός από την Γ, όπου υπάρχει η παρουσία καπνού L9, τα φιλέτα της οποίας είχαν μονάχα λίγο πιο έντονο άρωμα από αυτό που είχαν πριν δυο μέρες και η εμφάνιση δεν είχε αλλάξει τόσο και για αυτό βαθμολογήθηκαν με 3 (C). Κατά την έκτη μέρα υπήρξε ακόμη πιο εμφανής αλλοίωση στην εμφάνιση και στην οσμή σε όλες μας τις μεταχειρίσεις και στον μάρτυρα κάτι το οποίο σήμαινε ότι πλέον οι μικροοργανισμοί αρχίζουν και επικρατούν με αποτέλεσμα τα φιλέτα όλων των μεταχειρίσεων να αξιολογηθούν με 2 (B) και του μάρτυρα με 1 (A), με τη μεταχείριση Γ όμως να συνεχίζει να έχει τις μικρότερες αλλαγές με το πέρας των ημέρων σε σχέση με τις υπόλοιπες. Την όγδοη μέρα πλέον όλα τα φιλέτα μας θεωρήθηκαν αλλοιωμένα αξιολογώντας με 1 (A) ακόμη και τα φιλέτα της Γ μεταχείρισης που έφτασε το επίπεδο των άλλων μεταχειρίσεων και δεν ήταν σε καλύτερη κατάσταση από τις προηγούμενες μέρες.

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη συγκεκριμένη προπτυχιακή εργασία έγινε διερεύνηση της επίδρασης εδώδιμων επικαλυμμάτων αλγινικών αλάτων και υγρών καπνών, που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων παραγωγής και συντήρησης καπνιστών αλιευτικών προϊόντων, έναντι της ανάπτυξης αλλοιωγόνων μικροοργανισμών οι οποίοι αποτελούν την κυριότερη αιτία της ποιοτικής υποβάθμισης των νωπών αλιευτικών προϊόντων (Gram & Huss, 1996, Gram & Dalgaard, 2002), καθώς και του βακτηρίου *L. monocytogenes* που είναι ψυχότροφος παθογόνος μικροοργανισμός. Σε περίπτωση ανάπτυξης του προκαλείται λιστερίωση, μια σοβαρή ζωνόσος λοίμωξη η οποία προκαλεί μεγάλα προβλήματα σε νεογνά, σε ενήλικες με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα καθώς και σε έμβρυα με τις έγκυες γυναίκες να εκδηλώνουν μονάχα ήπια νόσο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος αποδείχθηκε ότι πράγματι η χρήση αλγινικών σε συνδυασμό με τον καπνό επιδρούν στην ανάπτυξη των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και του παθογόνου που μελετήσαμε εντοπίζοντας όμως διαφορές ανάμεσα στις τρεις μεταχειρίσεις. Σαφώς οι δυο μεταχειρίσεις με την παρουσία υγρού καπνού είχαν καλύτερα αποτελέσματα, με τον L9 να κρίνεται τελικώς καλύτερος από τον G6 στο διάστημα των ημερών του πειράματος.

Οι Dien H.A. et al. (2019) αναφέρουν τον τρόπο με τον οποίο ο καπνός επιδρά στα βακτήρια, λέγοντας ότι οι φαινολικές ενώσεις οι οποίες συνιστούν τον καπνό καταστρέφουν τη δομή των βακτηριακών κυττάρων και αναστέλλουν την διαδικασία σχηματισμού του βακτηριακού τοιχώματος προκαλώντας λύση του βακτηριακού κυτταρικού. Ο μηχανισμός δράσης των αντιβακτηριακών φαινολικών ενώσεων είναι ποικίλος και πολύπλοκος διότι εκτός από βλάβες στο βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα, οι φαινολικές ενώσεις του καπνού προκαλούν μετουσίωση των πρωτεϊνών της κυτταροπλασματικής μεμβράνης γεγονός που επιφέρει θανάτωση του

βακτηριακού στελέχους. Οι Sikorski et al. (1995) αναφέρουν ότι οι καρβονυλικές ενώσεις ή καρβονύλια δρουν βακτηριοκτόνα με την φορμαλδεΰδη πιο συγκεκριμένα να έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της βακτηριοκτόνου ιδιότητας της με γνώμονα πάντα την διασφάλιση της υγιεινής μέσω της χρήσης της με τη συγκέντρωσή της να εξαρτάται από τη θερμοκρασία καύσης και το είδος του ξύλου. Έτσι, καταλαβαίνουμε ότι η διαφορά αναμέσα στους δύο καπνούς πιθανόν προκύπτουν λόγω της διαφορετικής συγκέντρωσης σε καρβονύλια και φαινολικές ουσίες που έχουν ο καθένας.

Πιο συγκεκριμένα η ελεγχόμενη χρήση υγρού καπνού μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη των αλλοιωγόνων και παθογόνων μικροοργανισμών σύμφωνα με τους Lingbeck et al (2014). Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές έρευνες για τους παθογόνους και την αντιμικροβιακή επίδραση των υγρών καπνών σε αυτούς όπως για την *Escherichia coli* (Van Loo et al., 2012) και τη *L. monocytogenes* (Pittman et al., 2012). Η χρήση και σημαντικότητα του υγρού καπνού μελετήθηκε και από τους Nithin et al. (2020) οι οποίοι παραδέχονται τη βολικότητα χρήσης υγρών καπνών τόσο στα μειωμένα επίπεδα των κυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) όσο και στην διατήρηση της καλής ποιότητας γεύσης και οσμής καπνιστών προϊόντων. Οι γεύσεις των καπνών χαρακτηρίζονται ως GRAS (Generally Recognized as Safe) και μερικά από τα εκχυλίσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως επιπλέον εμπόδια για τον έλεγχο της μικροβιακής ανάπτυξης (Sunen E. et al., 2001).

Σε ότι αφορά την ψύξη (4 °C) που χρησιμοποιήσαμε κατά τη διαδικασία του πειράματος μας γνωρίζουμε ότι αναστέλλει την ανάπτυξη αλλά δεν εξουθενώνει τον παθογόνο *Listeria monocytogenes* με αποτέλεσμα να συνεχίζεται ο πολλαπλασιασμός του. Αρχικά αναφερόταν ότι ο παθογόνος είναι ικανός να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες 3-45 °C (Gray & Killinger, 1966). Πιο πρόσφατες έρευνες έδειξαν την αντοχή του μικροοργανισμού και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες

μέχρι και τον 1 °C, σε υπόστρωμα TSA (Junttila et al., 1988). Σύμφωνα με την παραπάνω έρευνα όλα τα στελέχη *Listeria spp* αυξήθηκαν καλύτερα στους 37 °C αλλά επίσης όλα τα κατάφεραν και στους 4 °C με την ανάπτυξη να είναι πολύ πιο αργή. Την γρηγορότερη ανάπτυξη την είχε το στέλεχος *Listeria monocytogenes* σε όλες τις θερμοκρασίες επώασης. Το ποσοστό αύξησης του συγκεκριμένου στελέχους σε χαμηλές θερμοκρασίες επηρεάζεται τόσο από προετοιμασία του οργανισμού, για παράδειγμα ενοφθαλμισμός ή προεπώαση (Gay et al., 1996), όσο και από τον τύπο του υποστρώματος και το ύψος της θερμοκρασίας (Lou & Yousef, 1999). Για την εξήγηση του τι βοηθάει το συγκεκριμένο παθογόνο να επιβιώνει σε τόσο χαμηλές θερμοκρασίες έγιναν πειράματα για τον μηχανισμό λειτουργίας της μεμβράνης του κυτταρικού τοιχώματος αλλά και των ενώσεων του που δρουν κρύο-προστατευτικά, όπως είναι η βεταΐνη και η καρνιτίνη (Angelidis & Smith, 2003). Οι μεμβράνες των φωσφολιπιδίων βρίσκονται σε υγρο-κρυσταλλική κατάσταση για να παραμείνει η ρευστότητα τους αλλά και να μπορέσει να αναπτυχθεί σε χαμηλή θερμοκρασία και όταν το ψύχος γίνεται αντιληπτό από τα ριβοσώματα ενεργοποιείται ένα δίκτυο πρωτεϊνών το οποίο συμμετέχει στην αντοχή της *L.monocytogenes* στο ψύχος (Labo, 2003).

Αναλυτικότερα στο πείραμα που πραγματοποιήσαμε και έπειτα από τη σύγκριση των μεταχειρίσεων μεταξύ τους, η χρήση καπνού G6 έδειξε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τη μεταχείριση με αλγινικά δίχως τη παρουσία καπνού σε όλους τους πληθυσμούς, εκτός από αυτόν των βακτηρίων του γένους *Pseudomonas spp.* όπου μετά την δεύτερη μέρα των μετρήσεων ο πληθυσμός είναι μεγαλύτερος κατά την παρουσία καπνού G6. Κάτι τέτοιο όμως δε παρατηρήθηκε με τον L9, συγκρίνοντας τον με τη μεταχείριση αλγινικών δίχως καπνό, όπου όλες οι μετρήσεις κατά την διάρκεια των ημερών για όλους τους πληθυσμούς είναι πάντα μικρότερες. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η πιο δραστική μεταχείριση ήταν αυτή με την παρουσία καπνού L9 με τη μόνη εξαίρεση που υπήρξε να είναι κατά την όγδοη μέρα όπου στον L9 καπνό είδαμε ο ολικός

μικροβιακός πληθυσμός αλλά και ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων να είναι μεγαλύτερος από τους αντίστοιχους του G6, κάτι το οποίο υποδηλώνει πως από την όγδοη ημέρα και έπειτα πιθανόν οι δύο καπνοί να έχουν παρόμοια επιδραστικότητα ή ο L9 να μην είναι πλέον ο καλύτερος καπνός.

Όλα τα παραπάνω ισχύουν για τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς και αυτό διότι σε όλη την διάρκεια του πειράματος σε όλα τα φιλέτα, ανεξαρτήτως ποιας μεταχείρισης ήταν, είχαμε παρόμοια συμπεριφορά στην ανάπτυξη μέχρι και την όγδοη μέρα, κάτι που δείχνει ότι έχουμε επίδραση των αλγινικών με καπνό και στα παθογόνα αλλά δε μπορούμε να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα για το ποια μεταχείριση ήταν επιδραστικότερη. Αρχικά, παρατηρήθηκε πως σε όλες τις μεταχειρίσεις ο πληθυσμός με τον οποίο έγινε ο εμβολιασμός μειώθηκε με το πέρασμα των δύο ημερών. Έπειτα, έμεινε σταθερός σε όλες τις μεταχειρίσεις μέχρι και την έκτη μέρα, πλην του μάρτυρα που είδαμε διαφορά και ο πληθυσμός άρχισε να αυξάνεται. Με το πέρας της έκτης μέρας και στις μετρήσεις της όγδοης πλέον μέρας εμφανίστηκε αύξηση σε όλες τις μεταχειρίσεις, εκτός από την Γ, με τον μάρτυρα και την μεταχείριση Α να έχουν τον μεγαλύτερο πληθυσμό, περισσότερο και από τον αρχικό. Στη μεταχείριση Β παρουσιάστηκε μικρή αύξηση ενώ στην Γ είχαμε σταθερά ίδιο πληθυσμό. Αυτή η μείωση και έπειτα αύξηση του παθογόνου συνέβη πιθανόν διότι ο παθογόνος στρεσαρίστηκε από τη χαμηλή θερμοκρασία που ξαφνικά ήρθε αντιμέτωπος και δε πρόλαβε μέχρι και την τέταρτη μέρα να προσαρμοστεί. Με το πέρας της τέταρτης μέρας παρατηρείται η σταθεροποίηση του πληθυσμού σε όλες τις μεταχειρίσεις καθώς δεν έχουμε άλλη πτώση. Κατά την έκτη μέρα ο μικροοργανισμός πλέον έχει προσαρμοστεί και ήδη ανιχνεύεται μικρή αύξηση πληθυσμού στο μάρτυρα. Με το πέρας και της έκτης μέρας, παρατηρείται αύξηση πλέον του πληθυσμού στις μεταχειρίσεις εκτός από την μεταχείριση Γ όπου ο παθογόνος παραμένει σταθερός σε αριθμό. Σίγουρα με το πέρασμα των ημερών θα βλέπαμε περισσότερη

αύξηση ακόμη και στη μεταχείριση με την παρουσία L9 καπνού, ο οποίος με τη συνολική μας παρατήρηση καταλήγουμε ότι και για τον παθογόνο, όπως και για τους αλλοιωγόνους, ήταν μέχρι και την όγδοη μέρα η καλύτερη μεταχείριση.

Επίσης, οι αλλοιωγόνοι αναπτύσσονται γρηγορότερα από οποιονδήποτε άλλο μικροοργανισμό συνεπώς μπορούμε να βεβαιωθούμε στο ότι η μεταχείριση που περιείχε τον L9 καπνό ήταν η πιο επιδραστική σε ότι αφορά την ανάπτυξη των αλλοιωγόνων μέχρι και την όγδοη μέρα, ενώ για τον παθογόνο δε γνωρίζουμε με σιγουριά ποια μεταχείριση θα ήταν η καλύτερη για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, καθώς η διαφορά της μεταχείρισης Γ με την Β όπου υπάρχει παρουσία καπνού G6 είναι μικρή. Βέβαια, σύμφωνα με τις μετρήσεις της όγδοης μέρας συμπεραίνουμε ότι η μεταχείριση Γ και σε αυτόν τον τομέα είχε έστω και λίγο καλύτερα αποτελέσματα. Επιπρόσθετα, πρέπει να αναφερθεί ότι τελικά η συντήρηση υπό ψύξη στους 4°C κρίθηκε ιδιαίτερα σημαντική ειδικά για τον παθογόνο καθώς παρόλο που μπορεί και αναπτύσσεται ακόμη και σε χαμηλές θερμοκρασίες, η θερμοκρασία που επιλέξαμε απείχε κατά πολύ από την βέλτιστη για τον οργανισμό. Επιπλέον, οι επιδράσεις των μεταχειρίσεων μελετήθηκαν μέσω μεθόδων που βασίζονται στις μετρήσεις και εκτιμήσεις της μικροβιακής ανάπτυξης του κάθε αλλοιωγόνου και του παθογόνου μετά από επώαση στο κάθε υπόστρωμα και μετέπειτα τη χρήση γραφημάτων διασποράς με ευθείες γραμμές που επέτρεψαν την ασφαλή εξαγωγή των αποτελεσμάτων και συμπερασμάτων.

Τέλος, οι παρατηρήσεις από τις αναλύσεις που έγιναν έρχονται σε συμφωνία και με την οργανοληπτική αξιολόγηση που πραγματοποιούσαμε ενισχύοντας με αυτόν τον τρόπο την επικράτηση της μεταχείρισης Γ με παρουσία του L9 καπνού όπου η μικροβιακή αλλοίωση και τελικώς η οργανοληπτική απόρριψη άργησε σε σχέση με τις άλλες μεταχειρίσεις και έφτασε στα επίπεδα τους μόνο κατά την όγδοη μέρα. Με βάση τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω



καταλαβαίνουμε ότι τα τρόφιμα είναι ιδιαίτερα ευάλωτα σε αλλοιωγόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς οι οποίοι αναπτύσσονται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Για την αποφυγή της μόλυνσης των τροφίμων από παθογόνους μικροοργανισμούς θα πρέπει να τηρούνται οι κανόνες υγιεινή όπως για παράδειγμα το πλύσιμο και η απολύμανση των χεριών και η χρήση καθαρών αντικειμένων. Επιπρόσθετα, θα πρέπει οι πρώτες ύλες να παραλαμβάνονται από αξιόπιστους προμηθευτές και να διαχωρίζονται τα ωμά από τα έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα κατά την παραλαβή, τη μεταφορά και την αποθήκευση. Τα τρόφιμα πρέπει να αποθηκεύονται σε χώρους όπου θα προστατεύονται από τυχόν επιμολύνσεις, ενώ τόσο οι χώροι αποθήκευσης και επεξεργασίας των τροφίμων όσο και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται κρίνεται απαραίτητο να απολυμαίνονται τακτικά. Φυσικά θα πρέπει το νερό που χρησιμοποιείται, όπως για τον καθαρισμό των χεριών και των σκευών που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα, να είναι καθαρό και πόσιμο ώστε να μην υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης των τροφίμων από μικρόβια.

Δύο λοιπόν είναι οι κύριοι στόχοι, ο πρώτος αφορά την εύρεση νέων τεχνικών αλλά και εξέλιξη των ήδη υπαρχόντων ώστε το προϊόν να παραμένει για όσο το δυνατό περισσότερο καιρό κατάλληλο για τον άνθρωπο και ο δεύτερος στο να λαμβάνονται όλα τα απαραίτητα μέτρα που έχουν να κάνουν με την υγιεινή, τις συνθήκες αποθήκευσης και τις συνθήκες προετοιμασίας και επεξεργασίας των τροφίμων ώστε να μπορούμε να τα καταναλώνουμε με ασφάλεια, χωρίς να εγκυμονούν κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης και αποτελεσματικότητας των αλγινικών είτε με χρήση καπνών ( G6 και L9 ) είτε όχι έναντι αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και του παθογόνου *L. monocytogenes*. Οι μετρήσεις έγιναν για τον ολικό μικροβιακό πληθυσμό, τα υδροθειοπαράγωγα βακτήρια, τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* spp., τα οξυγαλακτικά βακτήρια και τα βακτήρια του είδους *L. monocytogenes* για κάθε μεταχείριση. Τα αποτελέσματα μας βοήθησαν να καταλήξουμε σε ορισμένα συμπεράσματα.

Όλες οι μεταχειρίσεις με χρήση αλγινικών και καπνών έδρασαν με μεγαλύτερη επιτυχία και απέτρεψαν την πιο έντονη ή παρόμοια αύξηση που παρατηρήθηκε σε όλους τους πληθυσμούς στο μάρτυρα. Οι τεχνικές αυτές κρίνονται επιτυχείς σε σχέση με την συντήρηση του προϊόντος δίχως να δεχθεί κάποια επεξεργασία.

Οι μεταχειρίσεις αλγινικών με καπνό ( G6 και L9 ), είχαν καλύτερα αποτελέσματα από τη μεταχείριση δίχως παρουσία καπνού. Ο συνδυασμός αυτός στο μέλλον θα επιτρέψει στα προϊόντα που παράγονται να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους, να διατηρήσουν την γεύση τους, να διευκολύνουν τη συντήρησή τους και να μειώσουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, η χρήση υγρού καπνού προσφέρει επίσης μικρότερο ολικό χρόνο κάπνισης αλλά και μικρότερο κόστος παραγωγής καπνιστών προϊόντων.

Οι αλλοιωγόνοι επιβεβαιώθηκε ότι εμφανίζονται και αναπτύσσονται πιο γρήγορα από όλους τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς στα αλιευτικά προϊόντα και είναι αυτοί που οφείλονται για την ποιοτική υποβάθμιση τους. Η προσαρμογή τους και η μετέπειτα ανάπτυξη τους σε σχέση με τον παθογόνο ήταν ταχύτερη σε όλες τις μεταχειρίσεις. Η ανάγκη καταπολέμησης τους ή καταστολής τους κρίνεται επιτακτική προκειμένου να μην υπάρξει γρήγορη οργανοληπτική απόρριψη των προϊόντων καθώς λόγω των μεταβολών παρατηρούμε την αλλαγή σε εμφάνιση και οσμή.

Η ψύξη στους 4 °C επέφερε δύο σημαντικά πλεονεκτήματα. Πρώτον, διατήρησε την επιφάνεια των φιλέτων υγρή με αποτέλεσμα το προϊόν να διατηρήσει την υφή του και να είναι ελκυστικό για αρκετές μέρες. Δεύτερον, η χαμηλή θερμοκρασία δυσκόλεψε και καθυστέρησε τη μικροβιακή ανάπτυξη και ειδικότερα αυτήν του παθογόνου *Listeria monocytogenes*, στον οποίο επέφερε στρεσάρισμα και απέτρεψε να προσαρμοστεί μέχρι και την έκτη μέρα.

Βάση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, ο καπνός L9 μπορεί να θεωρηθεί ένα υποσχόμενο «όπλο» έναντι των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και η επίδραση του να χαρακτηριστεί σημαντική έναντι στη μικροβιακή αλλοίωση. Σε ότι αφορά τον παθογόνο, σε όλες τις μεταχειρίσεις παρατηρήθηκε καθυστέρηση στην ανάπτυξη του, με τις επιδραστικότερες στο τέλος του πειράματος να είναι αυτές με την παρουσία καπνών όπου και εκεί φαίνεται ότι με το πέρασμα περισσότερων ημερών ο L9 θα είναι πιο αποτελεσματικός έναντι του G6.

## 6. Βιβλιογραφία

### Ξένη Βιβλιογραφία

Angelidis, A.S & Smith, G.M. (2003a).Role of the Glycine Betaine and Carnitine Transporters in Adaptation of *Listeria monocytogenes* to Chill Stress in Defined Medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (12), 7492- 7498

Angelidis, A.S & Smith, G.M. (2003b).Three transporters mediate uptake of glycine betaine and carnitine by *Listeria monocytogenes* in response to hyperosmotic stress. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (2), 1013- 1022

Bacon R.T. , and J.N. Sofos (2003) Characteristics of biological hazards in foods.

Davis (2000) Ch.8: Vacuum and Modified Atmosphere packaged fish and fishery products, <http://www-seafood.ucdavis.edu/haccp/compendium/chapter08.htm>, update: 9/21/2000.

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.

Dalgaard P., Jørgensen L.V. (2003) Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 40: 105-115.

Dien H.A., Montolalu R.I., Berhimpon S. (2019) Liquid smoke inhibits growth of pathogenic and histamine forming bacteria on skipjack fillets, IOP Publishing Conference Series: Earth and Environmental Science, Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University Manado, Manado, Indonesia.

Embuscado M.E., Huber K.C. (2009) Edible films and coatings for food applications.

Gay, M., O. Cerf, and K.R Davey (1996). Significance of pre-inacubation temperature and inoculum concentration on subsequent growth of *Listeria monocytogenes* at 14 °C.

Golden, D.A., L.R. Beuchat, and R.E Bracket. (1988) Inactivation of *Listeria monocytogenes* as effected by heating and freezing.

Guilbert S., Gontard N., Gorris L.G.M. (1996) Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. LWT-Food Science and Technology, 29, 10-17.

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

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

Gram L., Trolle G., Huss H.H. (1987) Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 oC) and high (20 oC) temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 4: 65-72.

Gray, M.L., and A.H Killinger (1966). *Listeria Monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriological Reviews*, 30:309-382.

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

Howgate P., Johnston A., Whittle K.J. (1992) Multilingual guide to EC freshness grades for fishery products (32 pages). Torry Research Station, Aberdeen, Scotland: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.

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

Junttila, R.J., S.I Niemela, and J. Hirn. (1988) Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and nonhaemolytic listeria.

Labo B.H, (2003) 'Characteristics of listeria monocytogenes important for pulsed electric field process optimization', PhD thesis, Ohio State University, Ohio

Lingbeck J.M., Cordero P., O'Bryan C.A., Johnson M.G., Ricke S.C., Crandall P.G. (2014)

Functionality of liquid smoke as an all-natural antimicrobial in food preservation *Meat Science*, pp. 197-206.

Lou Y., and A.E Yousef. (1999) Characteristics of *Listeria Monocytogenes* important to food processors.

Maga J.A. (1988) Smoke in food processing.

McHugh T.H. (2000) Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung*, 44, 148-151.

Milillo, S.R., Friedly, E.C., Saldivar, J.C., Muthaiyan, A., O'Bryan, C., Crandall, P.G., Johnson, M.G& Ricke, S.C.(2012)A Review of the Ecology, Genomics, and Stress Response of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*.*Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52 (8),712-725

Murray, E.G.D., Webb, R.A& Swann, H.B.R.,(1926). A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis caused by ahitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). *Journal Pathology Bacteriology*. 29, 407–439

Motohiro O. (1988) Effect of smoking and drying on the nutritive value of fish: A review of Japanese studies. p.91-120. In J.R. Burt. (ed.), Fish Smoking and Drying. Elsevier Science Publishers Ltd. England.

Nithin C.T., Joshy C.G., Chatterjee Niladri Sekhar, Panda Satyen Kumar, Yathavamoorthi R., Ananthanarayanan T.R., Mathew Suseela, Bindu J., Gopal T.K.S. (2020) Liquid smoking-A safe and convenient alternative for traditional fish smoked products. Food Control, Elsevier Ltd.

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

Parlapani F.F., Malouchos A., Haroutounian S.A., Boziaris I.S. (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.

Petran, R.L., and E.A Zottola (1989) A study of factors affecting growth and recovery of *Listeria monocytogenes*.

Pittman J.R., Schmidt T.B., Corzo A., Callaway T.R., Carroll J.A., Donaldson J.R. (2012) Effect of stressors on the viability of *Listeria* during an in vitro cold-smoking process Agriculture, Food & Analytical Bacteriology, pp. 195-208.



Rojas-Grau M.A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. (2009a) Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 20, 438-447.

Sikorski Z.E., Gilberg A., Ruiters A. (1995) Fish Products. In A. Ruiters (Ed.), *Fish and fishery products, Composition, nutritive properties and stability*. CAB International, Wallingford, UK.

Suñen E., Fernandez-Galian B., Aristimuño C. (2001) Antibacterial activity of smoke wood condensates against *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* at low temperature. *Food Microbiology*, pp. 387-393.

Tavassoli\_Kafrani E., Shekarchizadeh H., Masoudpour-Behabadi M. (2016) «Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans», *Journal of Carbohydrate Polymers*, 137, 360-374.

Todar.K (2012,a). *Listeria monocytogenes*, *Todar's on line textbook of microbiology*, viewed 29 May 2012. <http://textbookofbacteriology.net/Listeria.html>

Todar.K. (2012,b). *Nutrition and Growth of Bacteria*, *Todar's on line textbook of microbiology*, viewed 29 May 2012. [http://www.textbookofbacteriology.net/nut\\_gro\\_5.html](http://www.textbookofbacteriology.net/nut_gro_5.html)

Van Loo E.J., Babu D., Crandall P.G., Ricke S.C. (2012) Screening of commercial and pecan shell-extracted liquid smoke agents as natural antimicrobials against foodborne pathogens  
Journal of Food Protection, pp. 1148-1152.

Varzakas T., Tzia C. (2016) «Handbook of Food Processing», pages 541-548

Weis, J., and H.P.R. Seeliger (1975). Incidence of *L. monocytogenes* in nature.

### **Ελληνική Βιβλιογραφία**

Βαρελτζής, Κ. (1999) Ποιοτικός έλεγχος και τεχνολογία αλιευμάτων. Εκδόσεις ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΠΑΙΔΕΙΑ, Θεσσαλονίκη.

Βαρελτζής, Κ. (2000) Τεχνολογία αλιευμάτων. Τεχνολογία Τροφίμων Ζωϊκής Προέλευσης (Εκτός του γάλακτος και των προϊόντων του).

Κοντοτόλης Σ. (2016) Αλλοιωγόνοι και Παθογόνοι μικροοργανισμοί στα δίθυρα μαλάκια. Προπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 25-30, 33-35.

Καρρά Φ. (2019) Μικροοργανισμοί που προκαλούν αλλοιώσεις- βιογενείς αμίνες κατά τη συντήρηση του μαριναρισμένου γαύρου. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σελ. 31-32.

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

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

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

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

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

## ABSTRACT

The aim of this study is to investigate and elaborate the impact and effectiveness of edible coatings and liquid smokes against fish spoilage microorganisms and *Listeria monocytogenes*. Three different treatments were used on fish fillets of *Sparus aurata*. The first treatment did not contain smoke while in the other two, the two liquid smokes named G6 and L9 were used. The fillets of all three treatments were stored at 4 °C for 10 days with samplings taking place every two days. By using the technique of coating on nutrients, we counted the total microbial population and the bacterial populations of *Pseudomonas* spp., *Listeria monocytogenes*, lactic acid bacteria and hydrogen-sulfide producing bacteria. The purpose was to perform microbiological analysis and to observe changes in their microbial profile. After comparing the three treatments, we concluded that all of them were effective, with the liquid smoke L9 treatment being the most efficient. On the eighth day, we observed that the G6 smoke reaches the levels of effectiveness of the L9. In conclusion, the use of liquid smokes provided very promising results and the L9 smoke could be considered as a potential tool against spoilage and pathogenic microorganisms.

**Keywords:** *Sparus aurata*, edible coatings, alginates, liquid smoking, refrigeration, spoilage microorganisms, *Listeria monocytogenes*