

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ

ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Μικροβιολογική ποιότητα και εμπορικός χρόνος ζωής
προμαγειρεμένων και μαριναρισμένων φιλέτων λαβρακιού»

Προδρομίδης Γεώργιος

ΒΟΛΟΣ 2018

«Μικροβιολογική ποιότητα και εμπορικός χρόνος ζωής
προμαγειρεμένων και μαριναρισμένων φιλέτων λαβρακιού»

Διμελής Εξεταστική Επιτροπή:

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

Στην οικογένεια και στους φίλους μου.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, Δρ Μποζιάρη Ιωάννη για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω το έτερο μέλος Δρ. Κωνσταντίνο Κορμά για την συνεισφορά του σε σχόλια, για τις χρήσιμες συμβουλές του και την καθοδήγησή του.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Δρ Παρλαπάνη Φωτεινή για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά της, καθώς επίσης τις θερμές μου ευχαριστίες εκφράζω στον Σωτήρη Οικονόμου υποψήφιο διδάκτορα του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος για την πολύτιμη βοήθεια του κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και στον φίλο-συμφοιτητή Χαράλαμπο-Θεοχαρη Σεραφείμ για την αμέριστη συμπαράστασή του κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τόσο τα νωπά όσο και τα ψημένα ιχθυηρά είναι από τα τρόφιμα με τη μικρότερη διάρκεια ζωής και ο έλεγχος της ποιότητας τους και της επέκτασης του εμπορικού χρόνου ζωής τους αποτελεί έναν από τους βασικότερους στόχους στη βιομηχανία τροφίμων. Κατά τη συντήρησή τους υφίστανται ποιοτική υποβάθμιση και αλλοίωση, δηλαδή μεταβολές οι οποίες καθιστούν το προϊόν ακατάλληλο για κατανάλωση. Η μικροβιακή αλλοίωση των τροφίμων ορίζεται σαν το κάθε σύμπτωμα ή ομάδα συμπτωμάτων που εκδηλώνεται με αλλαγές στην οσμή, στο άρωμα ή γενικά στην εμφάνιση του τροφίμου λόγω μικροβιακής δραστηριότητας. Γενικά η αλλοίωση των τροφίμων και κατ' επέκταση των αλιευμάτων οφείλεται στη δραστηριότητα ενός μικτού μικροβιακού πληθυσμού, μικρού όμως κλάσματος της αρχικής μικροβιακής χλωρίδας.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής ήταν η παρακολούθηση της αύξησης του μικροβιακού πληθυσμού, των μεταβολών του pH και των οργανοληπτικών αλλαγών κατά τη συντήρηση μαριναρισμένου σε κιτρικό οξύ (χυμός λεμονιού) προμαγειρεμένου φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) συσκευασμένου υπό κενό και αποθηκευμένου στους 4 °C. Έτσι μελετήθηκαν οι πληθυσμιακές μεταβολές της ολικής μεσόφυλης χλωρίδας (OMX) καθώς και των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών με την μέτρηση αποικιών σε τρυβλία χρησιμοποιώντας διαφορετικά θρεπτικά υλικά. Το pH της σάρκας του φιλέτου ψαριού πριν από το μαρινάρισμα

κυμονόταν στο 6.3 ενώ μετά το μαρινάρισμα με κιτρικό οξύ τα επίπεδα του pH έφτασαν στο 4.6 το οποίο μέχρι το τέλος της μελέτης (40 ημέρες) διακυμάνθηκε στο 3.8. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λαβρακίου που μελετήθηκαν (οσμή, υφή, γεύση) παρέμειναν σε όλη την διάρκεια του πειράματος (40 ημέρες) σε σχετικά καλή ποιότητα. Με το πέρας του χρόνου υπήρχαν διακυμάνσεις που ωστόσο δεν έφεραν ποτέ το ψάρι σε αλλοίωση. Διαπιστώνεται ότι κατά τη διάρκεια συντήρησής φιλέτου λαβρακίου στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ για 40μέρες σε συσκευασία κενού ανέστειλε τη δράση των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και επιμήκυνε τον εμπορικό χρόνο ζωής του λαβρακίου (πάνω από 40 ημέρες).

Λέξεις κλειδιά: *Dicentrarchus labrax*, μικροβιακή αλλοίωση, μαρινάρισμα, κιτρικό οξύ, συσκευασία κενού, εμπορικός χρόνος ζωής

ABSTRACT

Fresh and cooked fish are the least shelf-life foods. Controlling their quality and extending their commercial shelf-life is one of the main goals-targets in the food industry. During their maintenance they go through a quality degradation and alteration changes that make the product unsuitable for consumption. Microbial spoilage of food is defined as any symptoms manifested by changes in odor, aroma or general appearance of the food due to microbial activity. In general the alteration of food and, by extension of the catch, is due to the activity of a mixed microbial population yet a small fraction of the original microbial counts. The aim of this work was to monitor the growth of the microbial population, pH changes and organoleptic changes during the preservation of precooked and marinated with citric acid seabass fillet (*Dicentrarchus labrax*), stored under vacuum and stored at 4°C. The population changes of total mesophilic counts as well as the main spoilage microorganisms were studied by measuring colonies in plates using different media. The pH of the fish fillet flesh before marination was 6.3, while after marinating with citric acid pH levels reached the value of 4.6 which at the end of the study (40 days) reduced down to 3.8. The organoleptic characteristics of the product (odor, texture, taste) remained throughout the experiment (40 days) in relatively good quality. As time passed by there were some changes but never made the product to be characterized as spoiled. During the preservation of pre-cooked marinated in citric acid sea bass fillet under vacuum at 4°C for 40 days the activity of the major spoilage microorganisms was inhibited and the shelf-life life of the product (over 40 days) was prolonged.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	10
1.2 ΟΙ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	10
1.3 ΛΑΒΡΑΚΙ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	11
1.4 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (<i>Dicentrarchus labrax</i>).....	12
1.5 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΙΧΘΥΩΝ.....	14
1.6 ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΙΧΘΥΩΝ.....	15
1.6.1 ΓΕΝΙΚΑ	15
1.6.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ-ΣΤΑΔΙΑ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ.....	16
1.6.3 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΛΛΟΙΩΣΗ.....	17
1.7 ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΜΕ ΨΥΞΗ ΝΩΠΩΝ ΑΛΙΕΥΜΑΤΩΝ	19
1.8 ΜΑΡΙΝΑΡΙΣΜΑ.....	21
1.9 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ ΩΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ	21
1.9.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ-ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΟ ΚΙΤΡΙΚΟ ΟΞΥ	21
1.10 ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	22
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	23
2.1 ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ	23
2.2 ΔΙΑΛΥΜΑ ΕΝΑΙΩΡΗΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ MRD	29
2.3 ΕΚΤΕΛΕΣΗ-ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	30
2.3.1 ΤΕΜΑΧΙΣΜΟΣ ΨΑΡΙΟΥ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ	30
2.3.2 ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΛΙΕΥΜΑΤΟΣ	30
2.3.3 ΜΑΡΙΝΑΡΙΣΜΑ.....	30
2.3.4 ΣΥΣΚΕΑΥΣΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ.....	31
2.3.5 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	31
2.3.6 ΑΡΑΙΩΣΕΙΣ	31
2.3.7 ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΤΡΥΒΑΙΩΝ.....	32

2.3.8 ΕΠΩΑΣΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ.....	33
2.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ pH.....	34
2.5 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ.....	34
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	35
3.1 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ ΣΕ ΨΥΞΗ ΣΤΟΥ 4°C ΚΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	35
3.2 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ ΣΕ ΨΥΞΗ ΣΤΟΥ 4°C ΚΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	39
3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ pH.....	41
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	42
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	45
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	46

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Με τον όρο υδατοκαλλιέργεια, εννοούμε την καλλιέργεια ζωικών ή φυτικών οργανισμών σε αλμυρά ή υφάλμυρα ή γλυκά νερά, οι οποίοι αναπτύσσονται και αυξάνονται κάτω από καθορισμένες, από τον άνθρωπο, συνθήκες, ώστε να επιτυγχάνεται μια οικονομικά συμφέρουσα παραγωγή. Γενικά η υδατοκαλλιέργεια παράγει ζωικές πρωτεΐνες υψηλής ποιότητας, οι οποίες είτε διατίθενται απ' ευθείας στην αγορά είτε προορίζονται για την κάλυψη των αναγκών της διατροφής του ανθρώπου, όταν οι παραγωγικές μονάδες είναι οικογενειακής μορφής. Η υδατοκαλλιέργεια για να φτάσει στη σημερινή της μορφή [ελεγχόμενη εκτροφή - πριν ήταν στην συλλεκτική παραγωγή (αλιεία)], πέρασε από πολλά στάδια ενώ χρειάστηκαν πολλά χρόνια. Πρωτογενείς μέθοδοι αντικαταστάθηκαν από σύγχρονες καλλιεργητικές μεθόδους, πολλές από τις οποίες στηρίζονται στον πολλαπλασιασμό των υπό εκμετάλλευση υδρόβιων ζώων με τεχνητή αναπαραγωγή. Παρ' όλα αυτά όμως το 90% της παγκόσμιας παραγωγής των αλιευμάτων που προορίζονται για τη διατροφή του ανθρώπου, εξακολουθούν να προέρχονται από την Αλιεία (συλλεκτική παραγωγή).

1.2 ΟΙ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Η ιχθυοκαλλιέργεια αποτελεί έναν από τους πιο δυναμικά αναπτυσσόμενους κλάδους της ελληνικής οικονομίας τα τελευταία είκοσι χρόνια, αναδεικνύοντας την Ελλάδα ως τη μμεγαλύτερη παραγωγό χώρα, όσον αφορά την παραγωγή μΜεσογειακών ευρύαλων ψαριών. Σε αυτήν την ανάπτυξη του κλάδου συνέλαβαν σημαντικά οι κλιματολογικές και γεωμορφολογικές συνθήκες της χώρας (17.000 km ακτογραμμής, πολυάριθμοι νήσοι και μικροί κόλποι) που ευνοούν την καλλιέργεια ευρύαλων ψαριών, οι επιδοτήσεις που δόθηκαν από το κράτος και τα προγράμματα στήριξης της Ευρωπαϊκής

Ένωσης, η μείωση των αλιευτικών αποθεμάτων και οι περιορισμοί που έχουν επιβληθεί τα τελευταία χρόνια στην αλιεία.

1.3 ΛΑΒΡΑΚΙ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Το λαβράκι ιχθυοκαλλιέργειας μεγαλώνει στο φυσικό του περιβάλλον σε θαλάσσιους κλωβούς, για 18 τουλάχιστον μήνες προτού διατεθεί στις αγορές. Τρέφεται με πιστοποιημένες ιχθυοτροφές, υψηλών προδιαγραφών, που είναι ειδικά σχεδιασμένες να προσομοιάζουν τη φυσική του τροφή και να καλύπτει τις διατροφικές του ανάγκες σε κάθε στάδιο της ανάπτυξής του. Το λαβράκι ιχθυοκαλλιέργειας είναι από τα πιο φρέσκα ψάρια που μπορείτε να αγοράσετε, ακριβώς επειδή αλιεύεται μόνο κατά παραγγελία. Από την αλίευσή του μέχρι το σημείο πώλησης (1 ημέρα για τις εγχώριες αγορές) διατηρείται η «αλυσίδα θερμοκρασίας», στους 0 – 2°C με αποτέλεσμα τα ψάρια να παραμένουν ολόφρεσκα. Το λαβράκι ιχθυοκαλλιέργειας είναι ό,τι πιο ασφαλές από πλευράς προέλευσης. Αυτό γιατί εκτρέφεται σε καθαρά νερά, που ανανεώνονται από φυσικά ρεύματα, υπό την επίβλεψη ειδικευμένων επιστημόνων. Οι σύγχρονες μονάδες μεσογειακής ιχθυοκαλλιέργειας φέρουν πιστοποιήσεις και τηρούν Συστήματα Διαχείρισης Ποιότητας (ISO 9001), Συστήματα Διαχείρισης της Ασφάλειας των Τροφίμων (HACCP), Συστήματα Περιβαλλοντικής Διαχείρισης (ISO 14001), καθώς και άλλα πιο εξειδικευμένα συστήματα διαχείρισης.

1.4 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dicentrarchus labrax*)



Εικόνα 1.4.1 Ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758).

<http://alphasouthsarl.com/fish/dicentrarchus-labrax/index.htm>

ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Συνομοταξία:	Χορδωτά
Υποσυνομοταξία:	Σπονδυλωτά
Υπερομοταξία:	Γναθοστόματα
Ομάδα:	Ιχθύες
Ομοταξία:	Οστεϊχθύες
Υφομοταξία:	Κρασοπτερύγια
Τάξη:	<i>Perciformes</i>
Υπόταξη:	<i>Percoidei</i>
Οικογένεια:	<i>Serranidae</i>
Γένος:	<i>Dicentrarchus</i>
Είδος:	<i>Dicentrarchus labrax</i>

Α.ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το είδος αυτό διαθέτει ισχυρό, κομψό και σχετικά αποστρογγυλομένο σώμα. Η γλώσσα του φέρει οδοντικές σειρές και τα ινιακά δόντια βρίσκονται τοποθετημένα σε ημισεληνοειδές σχηματισμό, χωρίς να προεκτείνονται προς το μέσο του ουρανίσκου. Στο πίσω μέρος του βραγχιοκαλύμματος φέρει δυο ευδιάκριτα αγκάθια, καθώς και ένα στην κάτω παρυφή του προεπικαλυμματικού. Μεταξύ των δύο ραχιαίων πτερυγίων, τα οποία βρίσκονται στο ίδιο ύψος, μεσολαβεί μικρό κενό (Εικόνα 1.4.1). Το μέγιστο μήκος και βάρος του φτάνουν αντίστοιχα στα 90cm και στα 12Kg.

Β. ΒΙΟΤΟΠΟΣ

Αποτελεί βενθικό είδος της υποτροπικής ζώνης και ζει στην περιοχή της υφαλοκρηπίδας μέχρι βάθος 200m. Πολλές φορές, ανάλογα με την εποχή του χρόνου, συναντάται και σε ρηχότερα νερά. Το καλοκαίρι μεταναστεύει σε παράκτιες περιοχές, καθώς και σε εκβολές ποταμών, ενώ το χειμώνα εισέρχεται σε μεγαλύτερα βάθη και πιο κρύα νερά. Επιβιώνει σε πυθμένες διάφορων συνθέσεων, καθώς και σε εκβολές ποταμών, λιμνοθάλασσες και περιστασιακά σε ποτάμια. Τα νεαρά άτομα σχηματίζουν κοπάδια ενώ τα ενήλικα είναι μοναχικά.

Γ. ΤΡΟΦΗ

Το είδος αυτό είναι έντονα αρπακτικό και λαίμαργο και το διαιτολόγιό του περιλαμβάνει μεγάλη ποικιλία ψαριών. Κυρίως αποτελείται από είδη οικογενείας *Clupeidae*, καθώς και από άλλα είδη μικρών κοπαδιάρικων ψαριών. Επιπλέον, τρέφεται με καλαμάρια, σουπιές, διάφορα είδη οστρακοειδών και άλλα μαλάκια.

Δ. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ

Αποτελεί κοινό είδος στην Μεσόγειο και στη Μαύρη θάλασσα. Επίσης συναντάται στη Νορβηγία, στη θαλάσσια περιοχή της Μεγάλης Βρετανίας και στην Ιρλανδία.

1.5 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΙΧΘΥΩΝ

Είναι ευρέως διαδεδομένο ότι το ιχθυέλαιο είναι η πλουσιότερη και η αμεσότερη πηγή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) ιδιαίτερα του εικοσιπενταενοϊκού (EPA) και του δεκαεξαενοϊκού οξέος (DHA). Τα παραπάνω λιπαρά οξέα είναι πολύ σημαντικά για την πρόληψη καρδιοπαθειών, των φλεγμονωδών και των αυτοάνοσων δυσλειτουργιών του ανθρώπινου οργανισμού (Simopoulos 2005). Ο μυϊκός ιστός των ιχθύων χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας, εξαιρετικά ποικίλλουσα περιεκτικότητα σε λίπη και πολύ μικρή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες. Η κύρια ιδιαιτερότητα των ιχθύων συνίσταται στην ποιότητα του λιπιδικού περιεχομένου τους, καθώς αποτελούν πολύτιμη πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ έχουν μικρές ποσότητες κορεσμένων λιπιδίων και χοληστερόλης. Επίσης, αποτελούν πλούσια πηγή βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (Λτίπο et al. 2005). Τα λίπη των ιχθύων αποτελούνται κυρίως από τριγλυκερίδια (90%) και μικρότερες ποσότητες φωσφολιπιδίων, ελεύθερων λιπαρών οξέων, στερολών κ.ά. Τα λιπαρά οξέα απαντούν σε ποσοστό 79-83% ως ακόρεστα λιπαρά οξέα. Μέρος των ακόρεστων λιπαρών οξέων αποτελούν τα ω-3 και ω-6 (Παπαναστασίου 1990). Τέλος Οι ιχθύες είναι πλούσιες πηγές σε υδατοδιαλυτές βιταμίνες του συμπλέγματος Β, νιασίνη, παντοθενικό οξύ, αλλά και λιποδιαλυτές των ομάδων Α και D (Lall & Parazzo 1995). Επίσης, περιέχουν σημαντική ποσότητα ανόργανων στοιχείων, όπως ασβέστιο, φώσφορο, μαγνήσιο, σίδηρο, ψευδάργυρο, σελήνιο, φθόριο και ιώδιο (στα θαλάσσια

είδη) (Argino et al. 2005). Οι μικροί ιχθύες, όπως π.χ. οι μαρίδες, όταν τρώγονται ολόκληροι αποτελούν καλή πηγή ασβεστίου (Ελευθεριάδου 2004).

Θερμίδες	123kcal
Πρωτεΐνη	21g
Σελήνιο	8μg
Βιταμίνη-D	2,3μg
ERA	438mg
DHA	579mg

Πίνακας θρεπτικής αξίας *Dicentrarchus labrax* στα 100g

https://ec.europa.eu/fisheries/sites/fisheries/files/docs/body/seabass_en.pdf

1.6 ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΙΧΘΥΩΝ

1.6.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η αλλοίωση των ιχθύων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, είναι αποτέλεσμα πολύπλοκων φυσικοχημικών μεταβολών, που εκδηλώνονται ως έλλειψη φρεσκότητας και ανάπτυξη αλλοίωσης. Σύμφωνα με τον Damoglou (1980), ο όρος φρεσκότητα χρησιμοποιείται, καλύτερα από αυτόν της αλλοίωσης, διότι' μία μέτρηση της φρεσκότητας υπονοεί ότι το προϊόν μπορεί να είναι ακόμη βρώσιμο, ακόμη κι όταν έχει χάσει φρεσκότητα. Αντιθέτως η αλλοίωση υπονοεί ότι το προϊόν δεν είναι πλέον κατάλληλο για βρώση. Αλλοίωση ενός τροφίμου γενικότερα εννοούμε την μείωση της ποιότητας του όσον αφορά κυρίως τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Ένα τρόφιμο θεωρείται αλλοιωμένο όταν έχουν πραγματοποιηθεί αλλαγές σε αυτό οι οποίες το καθιστούν μη αποδεκτό για ανθρώπινη κατανάλωση. Η αλλοίωση μπορεί να προέλθει από μικροβιακή δράση, χημικές αντιδράσεις, δράση ενδογενών ενζύμων του τροφίμου, προσβολή από έντομα ή/ και τρωκτικά κτλ. (Huis in't Veld 1996). Η καταμέτρηση των ΕΑΜ (Ειδικοί Αλλοιογόνοι Μικροοργανισμοί), που εμπλέκονται

στην αλλοίωση των ιχθύων, θα μπορούσε να είναι ένα χρήσιμο εργαλείο στην πρόβλεψη της υπολειπόμενης διάρκειας ζωής τους (Jørgensen et al., 1988). Έτσι, η ανίχνευση των ΕΑΜ, όπως *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas spp.*, *Photobacterium phosphoreum*, κτλ, θεωρείται η πιο αξιόπιστη μέθοδος εκτός της OMX, για να αξιολογήσει με ακρίβεια τη νωπότητα ή το επίπεδο αλλοίωσης των αλιευμάτων (Ólafsdóttir et al., 2006). Παρεμπιπτόντως, το *Photobacterium phosphoreum* δεν έχει βρεθεί να αποτελεί αλλοιωγόνο μικροοργανισμό στους ιχθύες από τα μεσογειακά ύδατα (Bozianis et al., 2011; Parlapani et al., 2013).

1.6.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ-ΣΤΑΔΙΑ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Η αλλοίωση των φρέσκων ιχθύων γίνεται πολύ γρήγορα σχεδόν αμέσως μετά την σύλληψη τους. Η διαδικασία αλλοίωσης θα ξεκινήσει εντός 12ωρων από την αλίευση και ακόμα γρηγορότερα στις υψηλές θερμοκρασίες των τροπικών περιοχών (Berckel et al. 2004). Η αλλοίωση των ιχθύων είναι η διαδικασία μέσω της οποίας τα ψάρια χάνουν την ευκαμψία τους λόγω του φαινομένου της νεκρικής ακαμψίας μετά από λίγες ώρες από τον θάνατο τους (Adebwale et al., 2008). Τα περισσότερα είδη ψαριών υποβαθμίζονται- αλλοιώνονται εξαιτίας της οξειδωσης των ενζύμων και των λιπιδίων τους από επιφανειακά βακτήρια (AMEC, 2003). Κατά την αλλοίωση των ψαριών γίνεται διάσπαση διάφορων συστατικών και σχηματισμός νέων ενώσεων. Αυτές οι νέες ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις μεταβολές της οσμής της γεύσης και της υφής του κρέατος του ψαριού. Η αλλοίωση των ιχθύων προέρχεται από δράση μικροοργανισμών, χημικές αντιδράσεις και από δράση των ενδογενών ενζύμων του ιχθύος (αυτόλυση). Για τα νωπά αλιεύματα η μικροβιακή δράση είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας υποβάθμισης της ποιότητας τους και στις περισσότερες περιπτώσεις και ο

περιοριστικός παράγοντας της διάρκειας ζωής τους (Gram and Haus 1996). Τα σημάδια αλλοίωσης ενός ιχθύος και γενικότερα ενός τροφίμου είναι:

- Η ανίχνευση ανεπιθύμητων οσμών
- Ο σχηματισμός ‘‘γλίτσας’’
- Η παραγωγή αερίων
- Οι αλλαγές στο χρώμα και την εμφάνιση
- Οι αλλαγές στην υφή (μαλάκωμα)

1.6.3 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΛΛΟΙΩΣΗ

Τα ζωντανά ψάρια θεωρούνται συνήθως αποστειρωμένα, αλλά οι μικροοργανισμοί βρίσκονται σε όλες τις εξωτερικές επιφάνειες (δέρμα και βράγχια). Ένας φυσιολογικός αριθμός μικροοργανισμών στο δέρμα των ιχθύων είναι $10^2 - 10^7$ cfu (μονάδα σχηματισμού αποικιών)/ cm^2 όσο για τα βράγχια και τα έντερα κυμαίνεται μεταξύ $10^3 - 10^9$ cfu/g (Liston 1980). Όταν τα ψάρια πεθαίνουν, ολόκληροι οι μηχανισμοί αντοχής του σώματος τους καταστρέφονται, δίνουν τη θέση τους στους μικροοργανισμούς ή τα ένζυμα που εκκρίνουν για να εισβάλουν ή να διαχέονται στη σάρκα όπου αντιδρούν με το σύνθετο μίγμα των φυσικών ουσιών που υπάρχουν. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης αναπτύσσεται μια χαρακτηριστική χλωρίδα, αλλά μόνο ένα μέρος αυτής της χλωρίδας, γνωστό ως συγκεκριμένοι οργανισμοί αλλοίωσης (SSO), συμβάλλει στην αλλοίωση. Οι μετρήσεις SSO φθάνουν σε ένα ελάχιστο επίπεδο αλλοίωσης όπου τα ψάρια αναγκαστικά απορρίπτονται. Στα εύκρατα ψάρια εμφανίζονται ψυχότροφα βακτήρια των γενών *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Photobacterium* και *Aeromonas* ως μέρος της φυσικής χλωρίδας τους, ενώ τα τροπικά ψάρια συνήθως έχουν μη ψυχροτροφικά (μεσοφιλικά) βακτήρια. Τα οποία αλλοιώνουν τα τροπικά ψάρια πολύ πιο γρήγορα από ότι τα ψάρια

των εύκρατων υδάτινων περιοχών όταν υπάρχει και απουσία πάγου. Οι *Pseudomonas* και *Altermonas putrefaciens* είναι πιθανώς τα κύρια βακτηριακά είδη που προκαλούν θεμελιώδη αλλοίωση των παγωμένων ψαριών. Αυτά μπορούν να χρησιμοποιήσουν τις μη πρωτεϊνικές ενώσεις αζώτου που υπάρχουν στα ψάρια όπως το τριμεθυλαμινοξείδιο (TMAO) που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή πτητικών ευαίσθητων ενώσεων όπως τριμεθυλαμινοξείδιο, TMA (Regenstein και Regenstein 1991). Αυτές οι πτητικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις οσμές και τα αρώματα που χαρακτηρίζουν τα ψάρια. Σε αρκετές μελέτες, το *Photobacterium phosphoreum* και το *Shewanella putrefaciens* έχουν βρεθεί σε συσκευασμένο γάδο (Dalgaard 1995). Τα βακτήρια είναι ικανά να αποσυνθέσουν πρωτεΐνες, άλλες ενώσεις που περιέχουν άζωτο σε αμμωνία, υδρόθειο, που παράγουν μια δυσάρεστη απεχθή γεύση (Herbert and Shewan 1975). Το τριμεθυλαμινοξείδιο (TMAO), που απαντάται κυρίως σε θαλάσσια ψάρια, διασπάται σε τριμεθυλαμίνη (TMA), διμεθυλαμίνη (DMA) και αμμωνία (NH₃), τα οποία ευθύνονται για τις οσμές στα ψάρια που υποβάλλονται σε αλλοίωση. Η μικροβιολογική αξιολόγηση της ποιότητας των ψαριών στοχεύει στην ποσοτικοποίηση της υγιεινής ποιότητας των ψαριών, συμπεριλαμβανομένης της της θερμοκρασίας και της πιθανής παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών στα ψάρια. Συνολικά αερόβια βακτήρια, που ονομάζονται επίσης ολικός αριθμός μικροοργανισμών (TPC), ειδικοί οργανισμοί αλλοίωσης (SSO) και διάφορα παθογόνα βακτήρια εξετάζονται χρησιμοποιώντας κατάλληλα μέσα άγαρ. Τα επίπεδα ποιότητας βασίζονται στις μετρήσεις μικροοργανισμών σε τρυβλία για αποδοχής ή απόρριψης αλιευτικών προϊόντων για ανθρώπινη κατανάλωση.

1.7 ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΜΕ ΨΥΞΗ ΝΩΠΙΩΝ ΑΛΙΕΥΜΑΤΩΝ

Από τα μέσα του 19ου αιώνα, η μέθοδος αποθήκευσης σε χαμηλή θερμοκρασία έχει χρησιμοποιηθεί για τη διατήρηση ευρέων ποικιλιών θαλασσινών που καθυστερούν την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Αυτή η μέθοδος συντήρησης δεν θανατώνει τους μικροοργανισμούς αλλά μειώνει τον μικροβιακό μεταβολισμό ο οποίος είναι υπεύθυνος για την αλλοίωση (Ashie et al., 1996). Υπό συνθήκες ψύξης, ο βακτηριακός πληθυσμός των ιχθύων που αλιεύονται σε εύκρατα, υποτροπικά και τροπικά ύδατα αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από βακτήρια *Pseudomonas* spp. και υδροθειούχα (H₂S) βακτήρια, ενώ αποτελούν τους επικρατέστερους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς σε αλιεύματα που προέρχονται από ελληνικά ύδατα και συντηρούνται υπό αερόβιες συνθήκες σε χαμηλές θερμοκρασίες (Tryfinopoulou et al., 2007; Boziaris et al., 2011). Οι Johnston et al. (1994) ανέφεραν ότι η κατάψυξη και η αποθήκευση εν ψυχρώ είναι μια αποτελεσματική μέθοδος διατήρησης των ψαριών αλλά δεν βελτιώνουν την ποιότητα του προϊόντος. Είναι απαραίτητο να διατηρηθεί το ψάρι στους 0 °C μετά την αλίευση καθώς η αλλοίωση του είναι πολύ γρήγορη (FAO, 1973). Berkel et al. (2004) ανέφεραν δύο δυνατότητες αποθήκευσης νωπού ψαριού σε χαμηλές θερμοκρασίες: α) ψύξη στους -1 °C έως + 4 °C, η οποία αναστέλλει την ανάπτυξη μικροοργανισμών και β) διατηρώντας τους -18°C έως -30°C, που εμποδίζει τελικά την ανάπτυξη των βακτηριδίων. Ωστόσο, τόσο οι ενζυματικές όσο και οι μη ενζυματικές αλλαγές συνεχίζονται αλλά με πολύ βραδύτερο ρυθμό. Η χρήση πάγου ή άλλων μεθόδων ψύξης συνιστά να διατηρούνται όλα τα ψάρια σε ψυχρή κατάσταση πριν από την κατάψυξη (Johnston et al., 1994). Οι λειτουργίες του πάγου περιλαμβάνουν: α) τη διατήρηση ομοιόμορφης χαμηλής θερμοκρασίας, β) τη μείωση της αυτολύσεως και βακτηριακής αποικοδόμησης και γ) την παροχή ενός ήπιου πλυσίματος / καθαρισμού κατά την τήξη (Rand and Pivarnik, 1992). Για να επιτευχθεί η θερμοκρασία κάτω από το σημείο πήξης

καθαρού νερού, ο πάγος παρασκευάζεται από αλμυρό νερό για να επιτευχθεί θερμοκρασία ψύξης κοντά στους $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ωστόσο, μια πιθανή μείωση της γεύσης λόγω απώλειας ελεύθερων αμινοξέων μπορεί να είναι ένα πρόβλημα (Borgstrom, 1968). Η λειτουργία κατάψυξης για συντήρηση δεν μπορεί να εξασφαλίσει την πρόληψη των απωλειών αμινοξέων. Ωστόσο, σίγουρα εμποδίζει τις φυσικές και βιοχημικές αντιδράσεις που είναι υπεύθυνες για την αλλοίωση των τροφίμων (George, 1993). Η επιβίωση των μικροοργανισμών αλλοίωσης κατά την αποθήκευση εξαρτάται από τους τύπους μικροοργανισμών και ειδών ψαριών, το ιστορικό των ψαριών, τις μεθόδους αλίευσης και τις διαδικασίες χειρισμού και αποθήκευσης στο αλιευτικό σκάφος (Ashie et al., 1996). Τα ψάρια περιέχουν περίπου 60-80% κατά βάρος νερό ανάλογα με το είδος. Η διαδικασία κατάψυξης μετατρέπει το μεγαλύτερο μέρος του ύδατος σε πάγο (Johnston et al., 1994). Ο πιο κρίσιμος παράγοντας που επηρεάζει την ποιότητα των κατεψυγμένων ψαριών είναι ο ρυθμός ψύξης (αργός και γρήγορος). Η γρήγορη κατάψυξη παράγει κατεψυγμένα ψάρια καλύτερης ποιότητας από ό, τι η αργή κατάψυξη, καθώς η βραδεία κατάψυξη έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μεγάλων κρυστάλλων πάγου, σε σύγκριση με την ταχεία κατάψυξη, που βλάπτουν τους τοίχους των κυττάρων και προκαλούν μετουσίωση της πρωτεΐνης. Από την άλλη πλευρά, η μετουσίωση εξαρτάται επίσης από τη συγκέντρωση των ενζύμων και άλλων ενώσεων που υπάρχουν (Rahman, 1999, Garthwaite, 1997, Johnston et al., 1994). Η μεταβολή των πρωτεϊνών έχει ως αποτέλεσμα την θαμπή και αδιαφανή υφή και ο ιστός γίνεται μαλακός και σπογγώδης που επηρεάζει σοβαρά την ποιότητα του προϊόντος ψαριού (Graham, 1982).

1.8 ΜΑΡΙΝΑΡΙΣΜΑ

Η συντήρηση με οξύνιση ή οξέωση ή μαρινάρισμα είναι ένας τρόπος συντήρησης που βασίζεται στις αντιμικροβιακές ιδιότητες των οργανικών οξέων. Η οξύνιση πραγματοποιείται συνήθως με ξύδι, τα οποίο περιέχει 5-6% οξικό οξύ. Το ψάρι υπόκειται σε προετοιμασία όπως αποκεφαλισμός, εκσπλαχνισμός, πλύσιμο κτλ και κατόπιν εμβαπτίζεται στο ξύδι. Συνήθως προηγείται ελφριά αλάτιση. Η οξέωση πραγματοποιείται εν ψυχρώ ή εν θερμώ, ενώ σε μερικές ‘συνταγές’ πραγματοποιείται μετά από θερμική επεξεργασία. Τέλος τα προϊόντα αποθηκεύονται σε δροσερό μέρος ή σε θερμοκρασία ψύξης (Μποζιάρης, 2010).

1.9 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ ΩΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ

Τα ασθενή οργανικά οξέα μικρού μοριακού βάρους όπως το οξικό (ξύδι), το κιτρικό (λεμόνι), το προπονικό, το γαλακτικό κτλ., περιλαμβάνονται μεταξύ των κυριότερων οξέων που χρησιμοποιούνται ευρήματα στη συντήρηση των τροφίμων με όξυνση. Από παλιά είχε παρατηρηθεί ότι τα ασθενή οργανικά οξέα είναι πολύ πιο αποτελεσματικά σε όξινο, παρά σε ουδέτερο περιβάλλον. Αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα οξέα αυτά είναι δραστικά έναντι των μικροοργανισμών κυρίως στην αδιάστατη μορφή τους καθώς έχουν τη δυνατότητα να διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών και να εισέρχονται στο εσωτερικό των κυττάρων. Όταν το pH εξισωθεί με τη σταθερά pK_a , τότε το μισό οξύ βρίσκεται σε αδιάστατη μορφή. Επίσης είναι φανερό ότι όσο αυξάνει το pH (δηλαδή όταν $pH > pK_a$) μειώνεται το ποσοστό του αδιάστατου οξέος, ενώ όσο μειώνεται το pH αυξάνεται το ποσοστό του αδιάστατου οξέος.

1.9.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ-ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΟ ΚΙΤΡΙΚΟ ΟΞΥ

Το κιτρικό οξύ είναι ένα ασθενές οργανικό οξύ που βρίσκεται στο εσπεριδοειδή. Είναι ένα φυσικό συντηρητικό και χρησιμοποιείται για να προσθέσει όξινη (ξινή) γεύση στα τρόφιμα και τα μη αλκοολούχα ποτά. Ενεργεί ως αντιοξειδωτικό. Το κιτρικό οξύ

υπάρχει σε ποικίλα φρούτα και λαχανικά, αλλά συγκεντρώνεται κατά κόρον στα λεμόνια και στα lime, όπου μπορεί να περιλάβει τουλάχιστον 8% του ξηρού βάρους των φρούτων. Σε θερμοκρασία δωματίου, το κιτρικό οξύ είναι μια άσπρη κρυστάλλινη σκόνη. Χημικά παρουσιάζει τις ιδιότητες άλλων καρβοξυλικών οξέων. Όταν θερμαίνεται επάνω από 175°C, αποσυντίθεται και παράγεται διοξείδιο του άνθρακα και νερού, Σαν πρόσθετο τροφίμων, το κιτρικό οξύ χρησιμοποιείται ως συντηρητικό αλλά και αρωματική ουσία στο τρόφιμα και τα ποτά, ειδικά στα μη αλκοολούχα. Αναγράφεται ως E330.

1.10 ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής ήταν η παρακολούθηση της αύξησης του μικροβιακού πληθυσμού, των μεταβολών του pH και των οργανοληπτικών αλλαγών κατά τη συντήρησης προμαγειρεμένου και μαριναρισμένου σε κιτρικό οξύ (χυμός λεμονιού) φιλέτου λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) συσκευασμένου υπό κενό και αποθηκευμένου στους 4 °C.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

Οι μικροοργανισμοί για να αναπτυχθούν και να πολλαπλασιαστούν έχουν ανάγκη από θρεπτικές ουσίες και κατάλληλη θερμοκρασία και ατμόσφαιρα. Τα θρεπτικά υλικά είναι μίγματα διαφόρων ουσιών, τα οποία προσφέρουν τις ευνοϊκές συνθήκες για τη διατροφή και πολλαπλασιασμό των μικροβίων *in vitro*. Μερικές από τις ουσίες αυτές είναι θρεπτικές για τα μικρόβια, ενώ άλλες είναι παράγοντες αύξησης ή προστατευτικές για την ανάπτυξή τους. Από τη μεταβολική τους δραστηριότητα τα μικρόβια αλλοιώνουν το θρεπτικό υπόστρωμα και μεταβάλλουν την αρχική του όψη (θόλωση, παραγωγή αερίου, διάσπαση σακχάρων, μεταβολή pH). Έτσι παίρνουμε πολύτιμα στοιχεία για τις ιδιότητες γενικά των μικροβίων.

1. Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX)

Το Tryptone Soy Agar (TSA,LAB011) είναι ένα θρεπτικό υλικό γενικής χρήσης το οποίο επιτρέπει την αύξηση σχεδόν όλων των μικροοργανισμών που μπορούν να αναπτυχθούν σε εργαστηριακά υλικά. Είναι κατάλληλο για την καλλιέργεια τόσο αερόβιων όσο και αναερόβιων βακτηρίων. Οι πεπτόνες καζεΐνης και σόγιας παρέχουν άζωτο (N), βιταμίνες και μέταλλα. Τα φυσικά σάκχαρα της πεπτόνης σόγιας προάγουν την ανάπτυξη. Το χλωριούχο νάτριο (NaCl) χρησιμεύει ως ρυθμιστής της ωσμωτικής πίεσης. Η σύνθεση του θρεπτικού φαίνεται παρακάτω:

Συστατικά: g/1000 ml

Tryptone	15.0
Soy Peptone	5.0
Sodium Chloride	5.0
Agar	12.0

Διαδικασία παρασκευής:

Σε μια φιάλη των 1000 ml ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 37 g θρεπτικού υλικού και στη συνέχεια συμπληρώθηκαν 1000 ml απιονισμένου νερού. Ακολούθησε αποστείρωση στους 121 °C για 15 min και στη συνέχεια η διαδικασία της ενσωμάτωσης του θρεπτικού, όπου μικρή ποσότητα μοιράστηκε εξίσου σε τρυβλία Petri. Το τελικό pH του θρεπτικού ήταν 7.3 ± 0.2 .

2. Βακτήρια του γένους *Pseudomonas* spp.

Το θρεπτικό μέσο (LAB108) *Pseudomonas* Agar Base παρέχει όλα εκείνα τα συστατικά (π.χ. αμινοξέα, βιταμίνες, κτλ) που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των βακτηρίων του συγκεκριμένου είδους, ενώ η προσθήκη αντιβιοτικού κάνει το θρεπτικό εκλεκτικό για *Pseudomonas* spp. Η πεπτόνη ζελατίνης και η καζεΐνη από ενζυματική πέψη παρέχουν το άζωτο (N), το θείο (S) και τις βιταμίνες που χρειάζονται οι μικροοργανισμοί. Το χλωριούχο μαγνήσιο ($MgCl_2$) και το θειικό κάλιο (K_2SO_4) παράγουν χρωστική. Η γλυκερόλη συμπληρώνεται ως πηγή άνθρακα (C). Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες Sodium Nalidixate, Fucidin και Cephaloridine είναι εκλεκτικά υλικά και χρησιμοποιούνται για να αναστείλουν Gram⁺ και ορισμένα Gram⁻ βακτήρια.

Συστατικά: g/1000 ml

Gelatin Peptone	16.0
Potassium Sulphate	10.0
Enzymatic Digest of Casein	10.0
Magnesium Chloride	1.4
Bacteriological Agar	13.0

Συστατικά εκλεκτικού μέσου CFC

(κάθε φιαλίδιο περιέχει ποσότητα mg/500 ml θρεπτικού)

Cetrimide	5.0
Fucidin	5.0
Cephaloridine	25.0

Διαδικασία παρασκευής:

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 ± 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. Αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία 8 έως 15 °C για μελλοντική χρήση.

3. Βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae

Ο προσδιορισμός των Enterobacteriaceae γίνεται σε θρεπτικό υπόστρωμα Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA, LAB088). Χρησιμοποιείται για την καταμέτρηση εντεροβακτηριδίων σε τρόφιμα. Είναι εκλεκτικό υλικό χάρη στη δράση των χολικών αλάτων (biles) και του κρυσταλλικού ιώδους (crystal violet) και έτσι αναπτύσσονται

μόνο τα βακτηρίδια της οικογένειας Enterobacteriaceae. Η ζελατίνη από ενζυματική πέψη παρέχει άζωτο (N), αμινοξέα και άνθρακα (C). Το εκχύλισμα ζύμης προσφέρει τις απαραίτητες βιταμίνες για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Η δεξτρόζη παρέχει υδατάνθρακες (H/C). Η αντίδραση των βακτηρίων με τη δεξτρόζη χρωματίζει τις αποικίες κόκκινες με ένα κόκκινο-μωβ φωτοστέφανο παρουσία δείκτη pH (Ουδέτερο κόκκινο, Neutral red).

Συστατικά: g/1000 ml

Yeast Extract	3.0
Peptone	7.0
Sodium Chloride	5.0
Bile Salts	1.50
Glucose	10.0
Neutral Red	0.03
Crystal Violet	0.002
Agar	12.0

Διαδικασία παρασκευής:

Σε μια φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 38.5 g θρεπτικού υλικού σε 1000 ml απιονισμένου νερού. Το θρεπτικό υλικό θερμάνθηκε μέχρι να ομογενοποιηθεί το μίγμα (δεν χρειάζεται περαιτέρω αποστείρωση). Αφού το θρεπτικό κρύωσε μέχρι τους 45 έως 50 °C, στη συνέχεια μοιράστηκε σε τρυβλία Petri. Το τελικό pH ήταν 7.4 ± 0.2 .

4. Οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic Acid Bacteria, LAB)

Ο προσδιορισμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων έγινε σε θρεπτικό υπόστρωμα de Man - Rogosa - Sharpe agar (MRS, LAB093). Το οξικό νάτριο ($C_2H_3NaO_2$) καθώς και το βασικό pH καταστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών. Η ενζυματική πέψη ζωικού ιστού καθώς και το εκχύλισμα βοδινού και ζύμης είναι οι πηγές άνθρακα (C), αζώτου (N) και βιταμινών. Η δεξτρώση είναι ο ζυμούμενος υδατάνθρακας (H/C). Το οξικό νάτριο ($C_2H_3NaO_2$) είναι ανασταλτικός παράγοντας, ενώ μαζί με το κιτρικό αμμώνιο ($C_6H_{17}N_3O_7$) δρουν ως εκλεκτικοί παράγοντες. Το φωσφορικό κάλιο (K_3PO_4) δρα ως ρυθμιστικός παράγοντας, ενώ το θεικό μαγνήσιο ($MgSO_4$) και το θεικό μαγγάνιο ($MnSO_4$) παρέχουν θετικά ιόντα για τον μεταβολισμό. Το πολυσορβικό (Polysorbate, Tween ® 80) είναι επιφανειοδραστικό, διευκολύνοντας την πρόσληψη των θρεπτικών από τους μικροοργανισμούς. Το άγαρ χρησιμοποιείται ως σταθεροποιητής.

Συστατικά: g/1000 ml

Mixed Peptones	10.0
Yeast Extract	5.0
Beef Extract	10.0
Glucose	20.0
Dipotassium Phosphate	2.0
Sodium Acetate	5.0
Triammonium Citrate	2.0
Magnesium Sulphate	0.2
Manganese sulphate	0.05
Tween ® 80	1.08

Agar	15.0
------	------

Διαδικασία παρασκευής:

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.

5. Βακτήρια που παράγουν υδρόθειο (H_2S) (συμπεριλαμβανομένου και του *Shewanella putrefaciens*)

Το Iron Agar (LAB53) χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση μικροοργανισμών που παράγουν υδρόθειο (H_2S). Η καζεΐνη και οι ιστοί ζώων από ενζυματική πέψη, καθώς και η εμπλουτισμένη με μαγιά πεπτόνη, παρέχουν άζωτο (N), άνθρακα (C) και βιταμίνες που απαιτούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Επίσης παρέχει τρεις υδατάνθρακες (H/C), τη δεξτρόζη, τη λακτόζη και την σακχαρόζη. Όταν οι υδατάνθρακες αυτοί υποστούν ζύμωση, παράγεται οξύ το οποίο ανιχνεύεται από τον δείκτη ερυθρό της φαινόλης. Το θειοθειικό νάτριο ($Na_2S_2O_2$) ανάγεται προς υδρόθειο (H_2S), αντιδρά με τα άλατα του σιδήρου (Fe) και αποδίδει ένα τυπικό μαύρο χρώμα (σουλφίδιο του σιδήρου Fe) στις αποικίες.

Συστατικά: g/1000 ml

Beef Extract	3.0
Yeast Extract	3.0
Balanced Peptone N ^o 1	20.0
Sodium Chloride	5.0
Lactose	10.0
Ferric citrate	0.3
Sucrose	10.0
Glucose	1.0
Sodium Thiosulphate	0.3
Phenol Red	0.025
Agar N ^o 2	12.0

Διαδικασία παρασκευής:

Σε μια φιάλη ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 65.0 g θρεπτικού υλικού σε 1000 ml απιονισμένου νερού. Το θρεπτικό αποστειρώθηκε στους 121 °C για 15 min. Αφού το θρεπτικό κρύωσε μέχρι τους 45 έως 50 °C, μοιράστηκε σε τρυβλία Petri.

2.2 ΔΙΑΛΥΜΑ ΕΝΑΙΩΡΗΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ MRD

Στην συγκεκριμένη διαδικασία πειραμάτων χρησιμοποιήσαμε το MRD (Maximum Recovery Diluent). Buffered Peptone Water.

Component	Amount (per litre)
Peptone	1 g
Sodium chloride	8.5 g
Deionised water	1L

2.3 ΕΚΤΕΛΕΣΗ-ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

2.3.1 ΤΕΜΑΧΙΣΜΟΣ ΨΑΡΙΟΥ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Ολόκληροι ιχθύες λαβρακίου βάρους 450g περίπου της εταιρίας «ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΕΙΑ ΚΕΦΑΛΛΟΝΙΑΣ ΑΒΕΕ» μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Εμπορίας και Τεχνολογίας Αλιευτικών Προϊόντων και Τροφίμων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Οι ιχθύες πλύθηκαν, απολεπίστηκαν αποκεφαλίστηκαν, ευσπλαχνίστηκαν και έγινε εκ νέου πλύση αυτών με σκοπό να ελαττωθούν τα επίπεδα ακαθαρσιών και του εξωγενούς υλικού που μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη δύναμη το χρώμα του τελικού προϊόντος και να μειωθεί η πιθανότητα λάθους επιμόλυνσης με μικροοργανισμούς.

2.3.2 ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΛΙΕΥΜΑΤΟΣ

Τα φιλέτα πριν μαριναριστούν επεξεργαστηκαν θερμικά. Ποιο συγκεκριμένα, τυλίχθηκαν σε αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκαν σε προθερμασμένο στους 180°C φούρνο για 20 λεπτά. Κατόπιν αφέθηκαν να κρυώσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 1 ώρα πριν μαριναριστούν.

2.3.3 ΜΑΡΙΝΑΡΙΣΜΑ

Τα φιλέτα μαριναρίστηκαν με κιτρικό οξύ. Φυσικός χυμός λεμονιού (μετά από στύψιμο λεμονιών) αραιωμένος 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.

2.3.4 ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

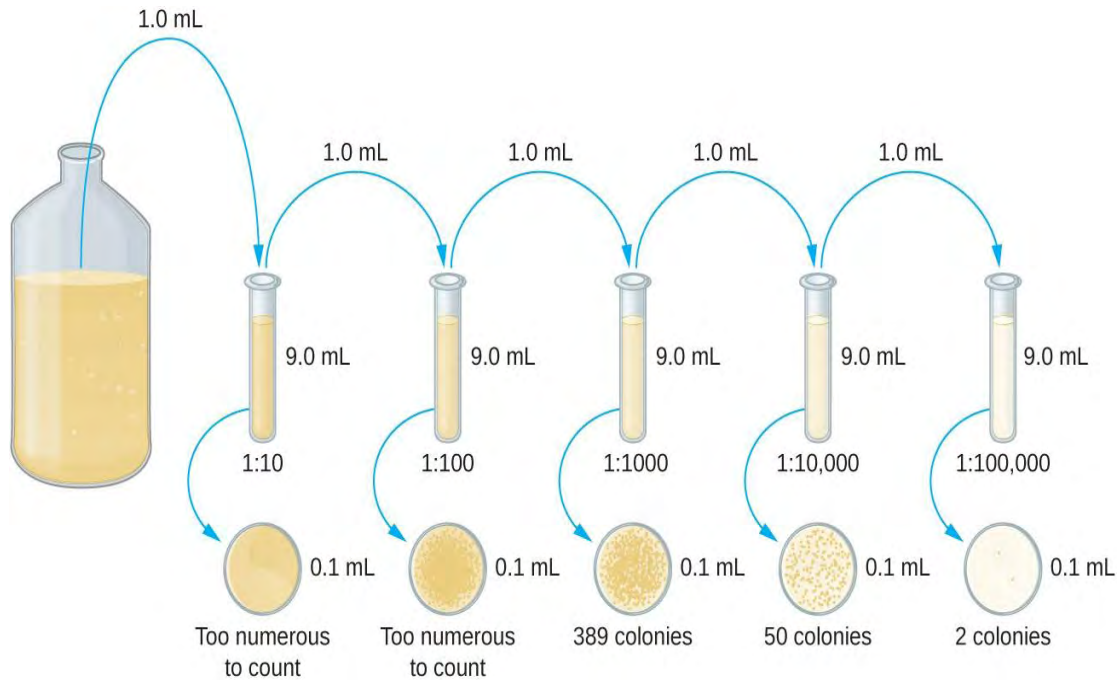
Κατόπιν συσκευάστηκαν σε πλαστική συσκευασία σε ατμόσφαιρα κενού με σκοπό την ελάττωση της μικροβιακής ανάπτυξης και της επιβράδυνσης της ενζυμικής αλλοίωσης με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ζωής του προϊόντος ενώ. Τέλος όλα τα φλιταρισμένα τεμάχια αποθηκεύτηκαν στην συντήρηση σε θερμοκρασίες των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

2.3.5 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

(10g) σάρκας λαβρακίου μεταφέρθηκαν ασηπτικά σε αποστειρωμένη σακούλα Stomacher. Προσθέσαμε 90ml Maximum Recovery Diluent (MRD-NaCl 0,85% και 0,1% Peptone) και ομογενοποιήσαμε σε συσκευή τύπου Stomacher για 1λεπτο. Στην συνέχεια πραγματοποιήσαμε τις απαραίτητες διαδοχικές αραιώσεις. Μεταφέραμε 1 ή 0,1ml σε άδεια τρυβλία όπου θα προστεθεί το θρεπτικό υλικό (ενσωμάτωση) ή σε τρυβλίο με ήδη στρωμένο υλικό (επίστρωση) αντίστοιχα. Λίγα λεπτά μετά και εφόσον έχει σταθεροποιηθεί το υλικό (για την διαδικασία της ενσωμάτωσης) προσθέσαμε ένα επιπλέον στρώμα με θρεπτικό υλικό και περιμέναμε να σταθεροποιηθεί η νέα στρώση. Τέλος αποθηκεύσαμε τα τρυβλία σε επωαστικούς θαλάμους. Για κάθε θρεπτικό υλικό παρασκευάζαμε δύο δείγματα Ψ2Δ1 και Ψ2Δ2 (Ψ2: λαβράκι μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ).

2.3.6 ΑΡΑΙΩΣΕΙΣ

Μετά την ομογενοποίηση του δείγματος και την παρασκευή της αρχικής αραιώσης παρασκευάστηκαν διαδοχικές αραιώσεις με την μεταφορά ενός όγκου δείγματος και 9-πλασια ποσότητα αραιωτικού υγρού. (10 g σάρκα ιχθύος + 90 ml MRD (85 % NaCl), διαδοχική αραιώση 9 ml MRD (85 % NaCl)). **(Εικόνα 1)**



Εικόνα 1: Διαδικασία μέτρησης του δείκτη βιωσιμότητας των βακτηρίων, με την εφαρμογή σειράς διαδοχικών αραιώσεων του δείγματος (Προσαρμοσμένο από Madigan *et al.*, 2007).

2.3.7 ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΤΡΥΒΛΙΩΝ

Για την επίστρωση των τρυβλίων χρησιμοποιήσαμε δυο τεχνικές την μέθοδο της επιφανειακής επίστρωσης για τα θρεπτικά υλικά TSA, IA , CFC και την μέθοδο της ενσωμάτωσης για τα θρεπτικά υλικά MRS και VRBGA.

Α. ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗ ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ

Έγινε απόχυση ποσότητας θρεπτικού υλικού 12-15 ml σε κάθε τρυβλίο. Παραμονή των τρυβλίων, για στερεοποίηση, σε απόλυτα οριζόντια θέση. Εξάπλωση με τον κρίκο ενοφθαλμισμού 0.1 ml δείγματος σε όλη την επιφάνεια του στερεού υποστρώματος κάνοντας κυκλικές κινήσεις και επώαση των τρυβλίων σε συγκεκριμένες συνθήκες ανάλογα με το κάθε θρεπτικό υλικό.

B. ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗΣ

Ρευστοποιήσαμε το θρεπτικό υλικό σε υδατόλουτρο που βράζει.. Κάναμε διανομή ανά 1,0 ml από το προϊόν-δείγμα, όπως είναι ή από τις αραιώσεις του, σε τρυβλία, με την τεχνική του ενοφθαλμισμού των τρυβλίων. Προσθέσαμε 12-15 ml θρεπτικού υλικού. Έγινε προσεκτική ανακίνηση των τρυβλίων, με περιστροφικές κινήσεις και προς τις δύο κατευθύνσεις (προς τη φορά των δεικτών του ωρολογίου και αντίθετα), καθώς επίσης και με σταυροειδείς. Τα τρυβλία παρέμειναν για στερεοποίηση, σε απόλυτα οριζόντια θέση. Αναστροφή και επώαση των τρυβλίων σε συγκεκριμένες συνθήκες ανάλογα με το θρεπτικό υλικό.

2.3.8 ΕΠΩΑΣΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ

Κάθε θρεπτικό υλικό επώαστηκε σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας και για διαφορετικά χρονικά διαστήματα με σκοπό την σωστή καταμέτρηση των αποικιών. Οι συνθήκες παρουσιάζονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 1.)

Θ.Υ	ΧΡΟΝΟΣ (h)	°C.
TSA	48-72	25
CFC	48	25
IA	48-72	25
MRS	48	25
VRBGA	24	37

Πίνακας 1: Χρόνοι επώασης των μικροοργανισμών σε κάθε θρεπτικό υλικό.

2.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ pH

Στις 40 μέρες διήρκησε το πείραμα μέτρησης του Ολικού Μικροβιακού Πληθυσμού σε λαβράκι που έχει μαριναριστεί με κιτρικό οξύ πάθησαν διάσπαρτες μετρήσεις pH με την βοήθεια ηλεκτροδίου μέσα σε αυτό το διάστημα των. Η διαδικασία έλαβε χώρα ως εξής: Αρχικά ρυθμίσαμε το pHμέτρο και μεταφέραμε 10g σάρκας ψαριού σε σακούλα Stomacher. Στην συνέχεια προσθέσαμε 90ml Maximum Recovery Diluent (MRD-NaCl 0,85% και 0,1% Peptone). Ομογενοποιήσαμε για 1 λεπτό και βυθίσαμε το ηλεκτρόδιο για σωστή λήψη των αποτελεσμάτων της μέτρησης. Τέλος ξεπλύναμε το ηλεκτρόδιο με απιονισμένο νερό. Οι μετρήσεις πάθησαν τις ημέρες DAY 0, DAY 16, DAY 32 και DAY 40.

Μετρήθηκε το pH και η οξύτητα της μαρινάδας. Το pH μετρήθηκε βυθίζοντας το ηλεκτρόδιο εντός δείγματος μαρινάδας. Η οξύτητα προσδιορίστηκε με ογκομέτρηση χρησιμοποιώντας NaOH 0.01 N, με δείκτη φαινολαφθαλείνη και η οξύτητα εκφράστηκε ως mg NaOH που απαιτήθηκαν για την εξουδετέρωση 1 ml μαρινάδας

2.5 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Στις 40 μέρες διάρκειας του πειράματος κάθε φορά που πραγματοποιούνταν μια δειγματοληψία και πριν την έναρξη των αναλύσεων γινόταν οργανοληπτική ανάλυση του φιλέτου λαβρακίου που χρησιμοποιούνταν παίρνοντας ως αρχή την πενταβάθμια κλίμακα αρεσκείας (hedonic scale). Το ψάρι δοκιμαζόταν και παρατηρώντας την οσμή, την γεύση, το χρώμα την τρυφερότητα, και το άρωμα γινόταν ποιοτική ταξινόμηση από το 1 που ορίστηκε ως αλλοιωμένο μέχρι το 5 που ορίστηκε ως άριστο.

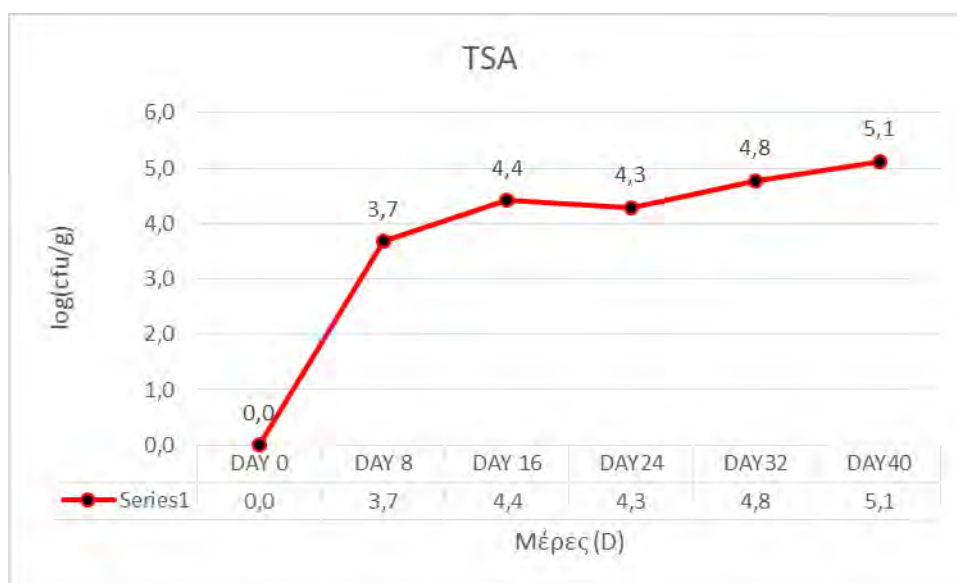
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ ΣΕ ΨΥΞΗ ΣΤΟΥΣ 4°C ΚΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών εξετάσεων του πειράματος συντήρησης του λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) σε ψύξη στους 4°C με την παρουσία κιτρικού οξέος. Πιο συγκεκριμένα παραθέτονται τα αποτελέσματα του ολικού μικροβιακού πληθυσμού για τα υποστρώματα Tryptone Soy Agar (TSA) , Iron Agar (IA) , Pseudomonas Agar Base (CFC) , Violet red Bile Glucose Agar (VRBGA) και Man-Rogose-Sharpe agar (MRS).

Tryptone Soy Agar (TSA)

Καταμετρήθηκαν οι πληθυσμιακές μεταβολές της OMX σε υπόστρωμα TSA. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **Σχήμα 1**.

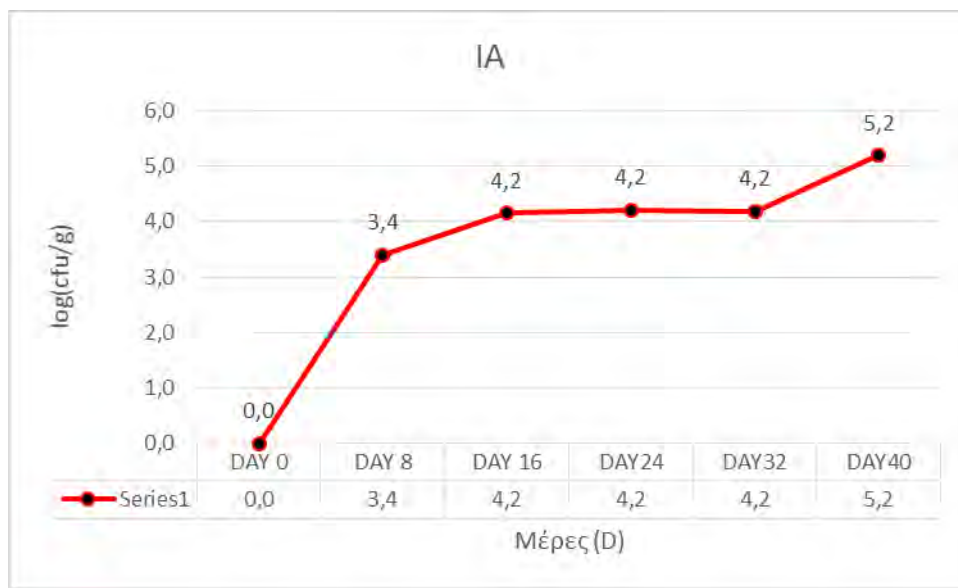


ΣΧΗΜΑ 1.: Μεταβολή της OMX του φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) κατά τη διάρκεια συντήρησής του στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ για 40μέρες(days) σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας-κενό. Οι μετρήσεις αποτελούν τον μέσο όρο των δύο δειγμάτων. Το σημείο 0 log cfu/g υπονοεί ότι ο πληθυσμός ήταν κάτω των 2 log cfu/g που είναι το όριο της ανίχνευσης.

Η Ολική μικροβιακή χλωρίδα (OMX) στην αρχή του πειράματος (DAY0) βρέθηκε στα επίπεδα των 0 $\log_{10}\text{cfu/g}$, ενώ έφτασε στους 3,7 $\log_{10}\text{cfu/g}$ (DAY 8) και στους 5,1 $\log_{10}\text{cfu/g}$ στο τέλος της πειραματικής πορείας (DAY40).

Iron Agar

Καταμετρήθηκαν τα βακτήρια που παράγουν υδρόθειο σε υπόστρωμα Iron Agar. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **ΣΧΗΜΑ 2**.



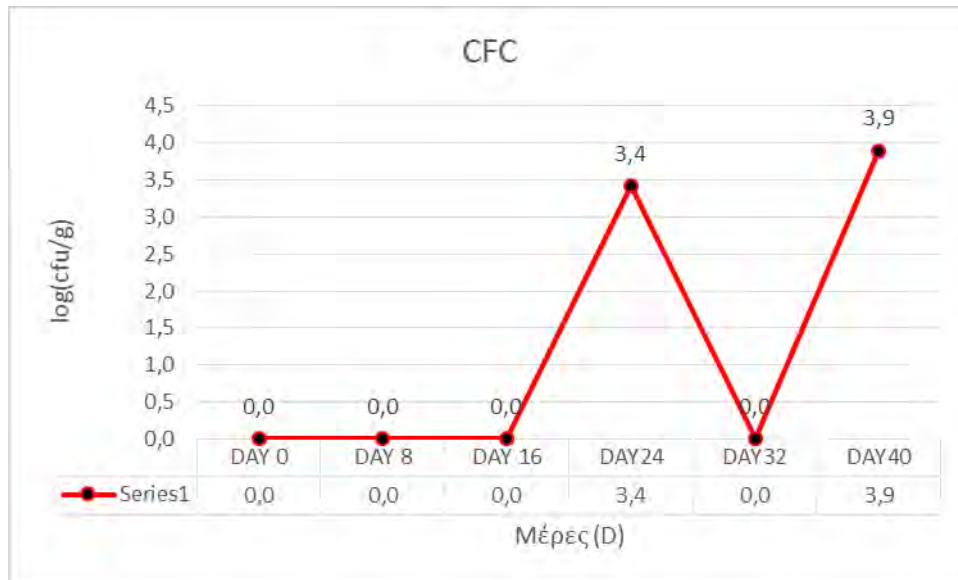
ΣΧΗΜΑ 2.: Μεταβολή των βακτηρίων που παράγουν υδρόθειο (H_2S) φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) κατά τη διάρκεια συντήρησής του στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας-κενό για 40μέρες(days). Οι μετρήσεις αποτελούν τον μέσο όρο των δύο δειγμάτων. Το σημείο 0 $\log \text{cfu/g}$ υπονοεί ότι ο πληθυσμός ήταν κάτω των 1 $\log \text{cfu/g}$ που είναι το όριο της ανίχνευσης.

Ο ολικός μικροβιακός πληθυσμός βακτηρίων που παράγουν υδρόθειο στην αρχή του πειράματος (DAY0) βρέθηκε στα επίπεδα των 0,0 $\log_{10}\text{cfu/g}$ (Day8) 3,4 $\log_{10}\text{cfu/g}$ και στους 5,2 $\log_{10}\text{cfu/g}$ στο τέλος της πειραματικής πορείας (DAY40).

Pseudomonas Agar Base (CFC)

Καταμετρήθηκε η μεταβολή των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών (*Pseudomonas spp.*) σε υπόστρωμα CFC . Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο

ΣΧΗΜΑ 3.



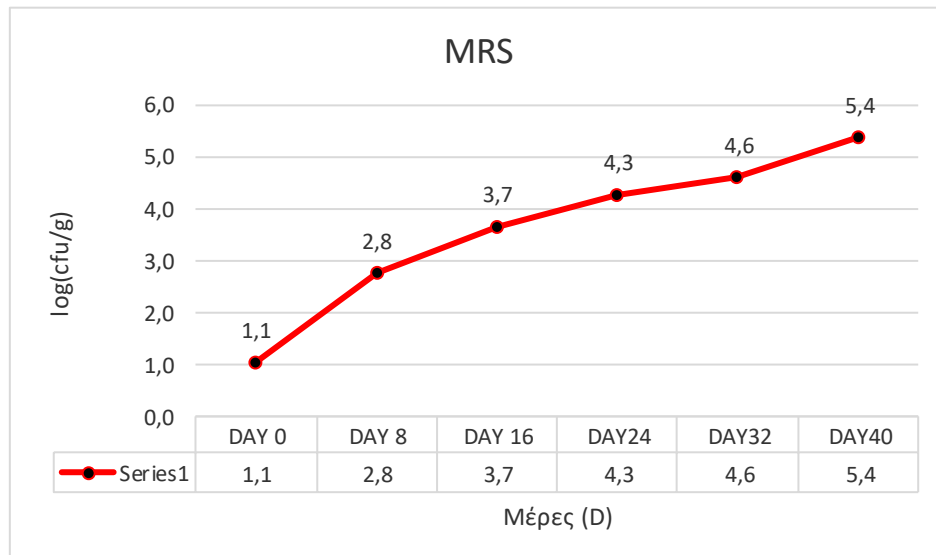
ΣΧΗΜΑ 3.: Μεταβολή των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών (*Pseudomonas spp.*) φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) κατά τη διάρκεια συντήρησής του στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας-κενό για 40μέρες(days). Οι μετρήσεις αποτελούν τον μέσο όρο των δύο δειγμάτων. Τα σημεία 0 log cfu/g υπονοεί ότι ο πληθυσμός ήταν κάτω των 2 log cfu/g που είναι το όριο της ανίχνευσης.

Η μεταβολή των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών (*Pseudomonas spp.*) στην αρχή του πειράματος (DAY0) βρέθηκε στα επίπεδα των 0 log₁₀cfu/g (Day8) 0,0log₁₀cfu/g και στους 3,9 log₁₀cfu/g στο τέλος της πειραματικής πορείας (DAY40).

Man-Rogose-Sharpe agar (MRS)

Καταμετρήθηκε η μεταβολή του ολικού μικροβιακού πληθυσμού σε υπόστρωμα MRS.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο ΣΧΗΜΑ 4.



ΣΧΗΜΑ 4.: Μεταβολή των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) κατά τη διάρκεια συντήρησής του στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας-κενό για 40μέρες(days). Οι μετρήσεις αποτελούν τον μέσο όρο των δύο δειγμάτων.

Η μεταβολή των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) στην αρχή του πειράματος (DAY0) βρέθηκε στα επίπεδα των 1,1 log₁₀cfu/g (Day8) 2,8log₁₀cfu/g και στους 5,4 log₁₀cfu/g στο τέλος της πειραματικής πορείας (DAY40).

Violet red Bile Glucose Agar (VRBG-A)

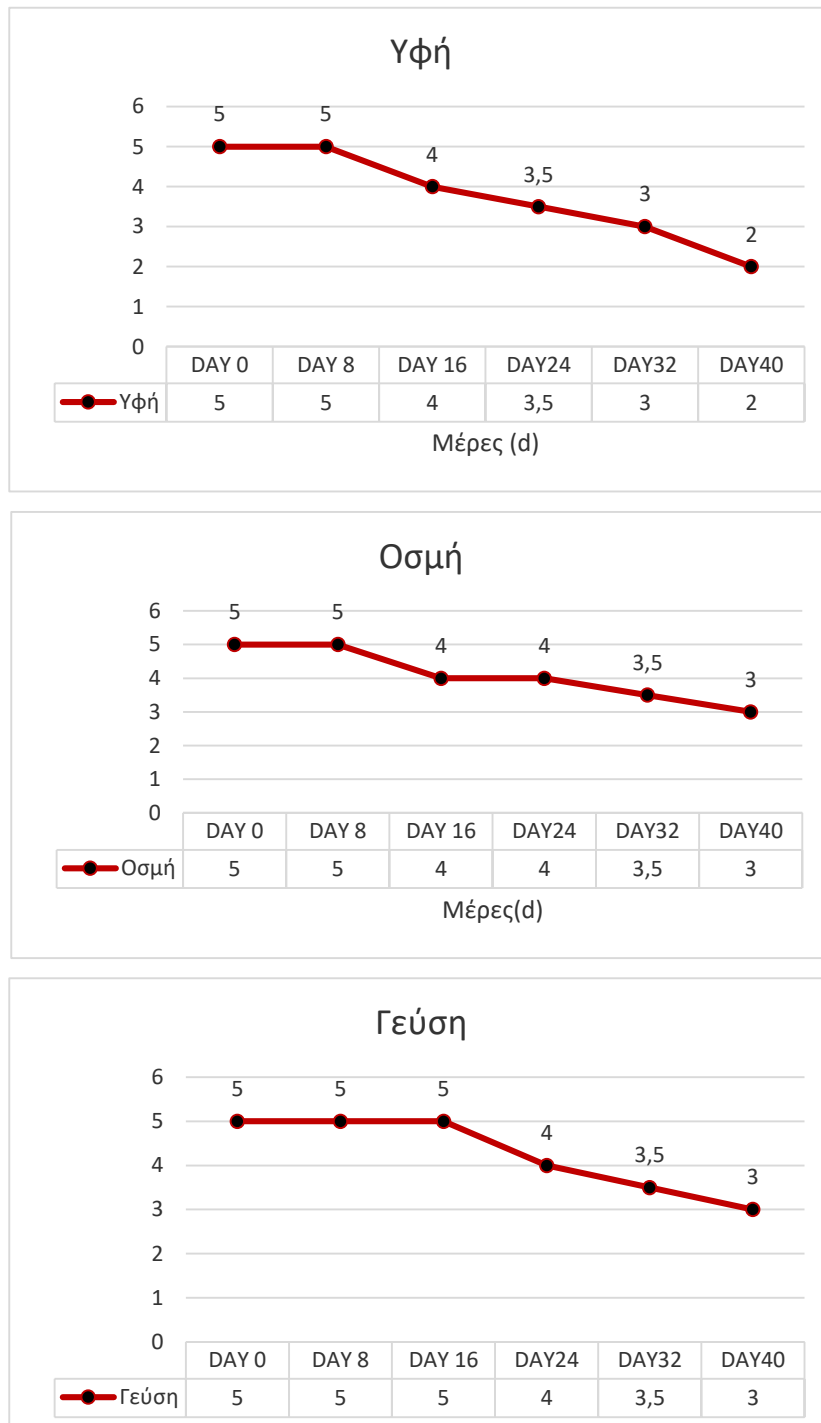
Καταμετρήθηκε η μεταβολή των εντεροβακτηρίδια (*Enterobacteriaceae*) σε υπόστρωμα VRBG. Μέσα στις 40 μέρες δεν παρατηρήθηκε για το συγκεκριμένο θρεπτικό υλικό εμφάνιση-αύξηση κάποιου μικροβιακού πληθυσμού και τις 40 μέρες

διεξαγωγής του τα αποτελέσματα ήταν κάτω του 1 log cfu/g που είναι το όριο της ανίχνευσης.

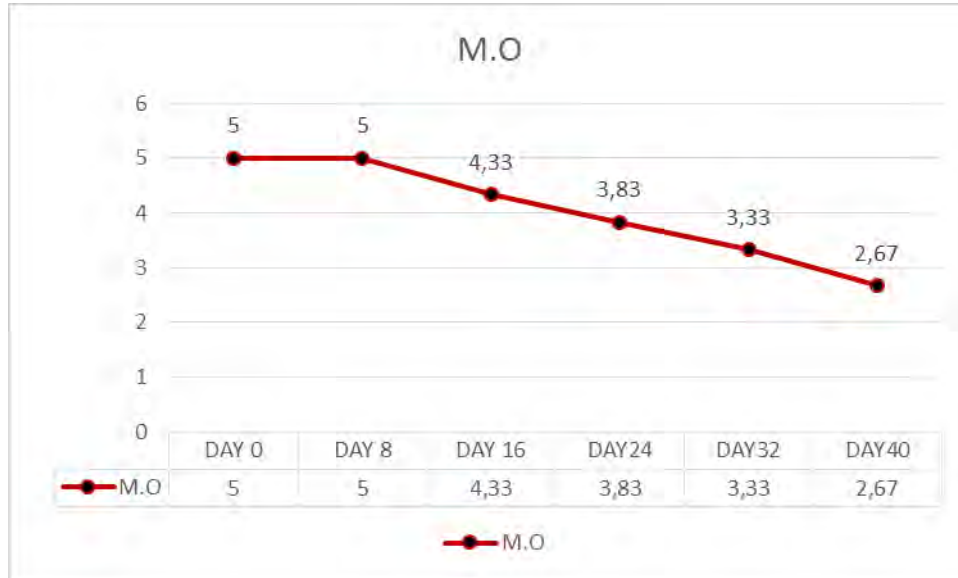
3.2 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ ΣΕ ΨΥΞΗ ΣΤΟΥ 4°C ΚΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.

Κατά τη διάρκεια συντήρησης των φιλέτων λαβρακίου σε ψύξη στους 4°C για 40 μέρες. Κάθε φορά που λάβαινε χώρα η διαδικασία του πειράματος στην διάρκεια των 40 ημερών γινόταν και οργανοληπτική εκτίμηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των νωπών φιλέτων. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά που παρατηρήθηκαν ήταν η υφή, η οσμή η γεύση καθώς και η ολική ποιοτική εκτίμηση. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται παρακάτω: (ΣΧΗΜΑ: 5, ΣΧΗΜΑ: 6). Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα υπολογίστηκε ο εμπορικός χρόνος ζωής για τα φιλέτα λαβρακίου που συντηρήθηκαν στο 4°C υπό την παρουσία κιτρικού οξέος λαμβάνοντας υπόψη 3 χαρακτηριστικά τα οποία ήταν (υφή, γεύση, οσμή). Παρατηρείται ότι για όλα τα χαρακτηριστικά το προϊόν θεωρείται μη αποδεκτό θεωρητικά τις τελευταίες 8 μέρες (DAY 32-DAY40) αν και ακόμα και τότε το προϊόν δεν θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και ως ποιοτικά εντελώς υποβαθμισμένο αλλά στα πρώτα στάδια της ποιοτικής του αλλοίωσης.

Εν τέλει το φιλέτο ήταν κατάλληλο για βρώση σχεδόν και τις 40 ημέρες διεξαγωγής του πειράματος.



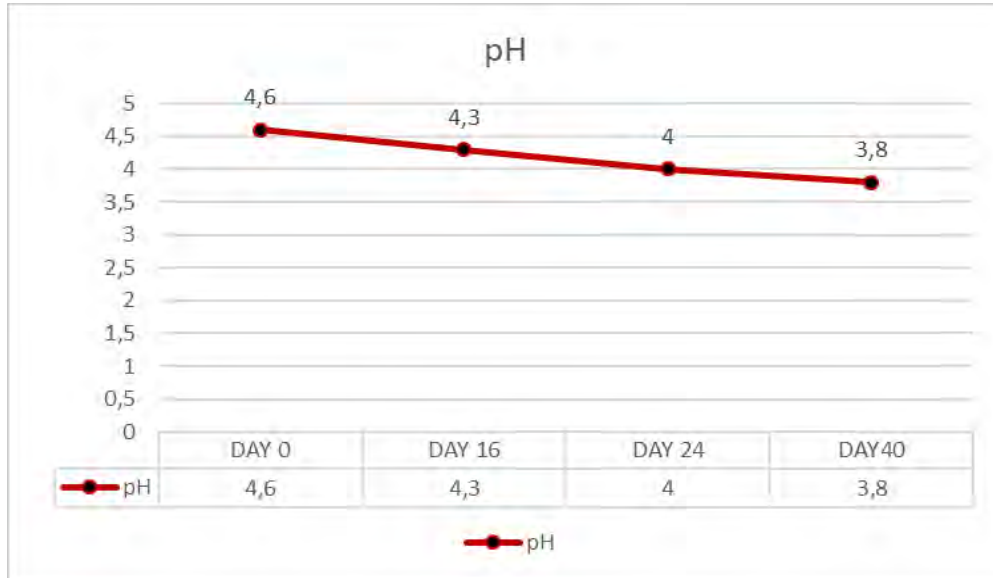
ΣΧΗΜΑ 5: Μεταβολή των ποιοτικών χαρακτηριστικών (υφή ,γεύση ,οσμή) φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) κατά τη διάρκεια συντήρησής του στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας-κενό για 40μέρες(days). Τα σημεία αποτελούν τη μέση τιμή της βαθμολογίας.



ΣΧΗΜΑ 6: Μεταβολή της ολικής εκτίμησης των ποιοτικών χαρακτηριστικών φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) κατά τη διάρκεια συντήρησής του στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας-κενό για 40μέρες(days). Τα σημεία αποτελούν τη μέση τιμή της βαθμολογίας.

3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ pH

Τα φιλέτα λαβρακίου εμβαπτίστηκαν σε φυσικό χυμό λεμονιού από στύψιμο λεμονιών αραιωμένος με νερό 1 προς 1, μετρήθηκε οξύτητα και βρέθηκαν 20 mg NaOH ανά ml μαρινάδας. Στο **ΣΧΗΜΑ 7** αναφέρεται η διακύμανση του pH κατά την διάρκεια των 40ημερών που διήρκεσε το πείραμα. Οι δειγματοληψίες για την μέτρηση με σκοπό τον προσδιορισμό του pH έγινε τις μέρες DAY 0, DAY 16, DAY 24 και DAY40. Το pH της μαρινάδας που χρησιμοποιήθηκε ήταν 2.5 ενώ το αρχικό pH| της σάρκας ήταν 6.3. Μετά το μαρινάρισμά το pH της σάρκας μειώθηκε στην τιμή 4.6.



ΣΧΗΜΑ 7: Μεταβολή του pH φιλέτου λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) κατά τη διάρκεια συντήρησής του στους 4°C μαριναρισμένο σε κιτρικό οξύ σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας-κενό για 40μέρες(days).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι νωποί και οι προμαγειρεμένοι ιχθύες είναι ευαλλοίωτα προϊόντα τα οποία κατά τη συντήρησή τους υπό συγκεκριμένες συνθήκες αποθήκευσης (π.χ. θερμοκρασίας) υφίστανται ποιοτική υποβάθμιση και τελικά αλλοίωση. Στα ποιοτικά υποβαθμισμένα αλιευτικά προϊόντα επέρχονται μεταβολές στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά όπως εμφάνιση, οσμή, υφή και γεύση που μειώνουν την αποδοχή του από τον καταναλωτή (Ashie et al., 1996). Η μικροβιακή δραστηριότητα-EAM είναι η κύρια αιτία αλλοίωσης των νωπών ιχθύων (Gram & Dalgaard 2002). Έτσι, για την παρεμπόδιση της αύξησης των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και την επέκταση του εμπορικού χρόνου ζωής στους ιχθύες, εφαρμόζονται διάφοροι τρόποι συντήρησης όπως η προσθήκη του κιτρικού. Η χρήση του κιτρικού παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της αντιμικροβιακής (Zhuang et al. 1996, Sallam 2007) και αντιοξειδωτικής του δράσης (Lee et al. 2005). Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση των

οργανοληπτικών, μικροβιολογικών και χημικών (μέτρηση PH) μεταβολών, για τον προσδιορισμό της ποιότητας και την πρόβλεψη του εμπορικού χρόνου ζωής του λαβρακιού υπό αερόβιες συνθήκες ψύξης στους 4°C.

Η αποθήκευση σε χαμηλές θερμοκρασίες αποτελεί έναν από τους πιο κοινούς τρόπους συντήρησης των ιχθύων. Η προσθήκη κιτρικού βρέθηκε να επιμηκύνει τον εμπορικό χρόνο ζωής των φιλέτων λαβρακιού στην παρούσα μελέτη. Συγκεκριμένα, η προσθήκη κιτρικού αύξησε τον χρόνο ζωής των φιλέτων σε πάνω από 40 ημέρες. Επιπρόσθετα, οι Papadopoulos *et al.*, (2003), μετά από οργανοληπτική αξιολόγηση ολόκληρων αλλά και απεντερωμένων ιχθύων λαβρακιού, αποθηκευμένων υπό συνθήκες πάγου (0 °C), αναφέρουν πως η διάρκεια ζωής ήταν 13 και 8 ημέρες, αντίστοιχα, ενώ οι Paleologos *et al.*, (2004) προσδιόρισαν το χρόνο ζωής για ολόκληρους ιχθύες λαβρακιού, απεντερωμένους αλλά και φιλέτα αυτών, αποθηκευμένα στους 0 °C, στις 8 έως 9 ημέρες για τους απεντερωμένους και τα φιλέτα, ενώ για τους ολόκληρους, 15 έως 16 ημέρες.

Ακόμη, οι Cakli *et al.*, (2006), μετά από μελέτη που πραγματοποίησαν σε απεντερωμένους ιχθύες τσιπούρας και λαβρακιού, αποθηκευμένους στους 0 °C, αναφέρουν πως οι ιχθύες χαρακτηρίστηκαν ως απαράδεκτοι την ημέρα 12, ενώ την ημέρα 9 χαρακτηρίστηκαν με σχετική φρεσκάδα, ενώ οι Cakli *et al.*, (2007), αναφέρουν πως ο χρόνος ζωής των ίδιων ιχθύων, κάτω από τις ίδιες συνθήκες αποθήκευσης και επεξεργασίας ήταν 15 ημέρες.

Γενικά, η προσθήκη κιτρικού και αλάτων κιτρικού οξέος έχει βρεθεί να επιμηκύνει τον εμπορικό χρόνο ζωής των αλιευτικών προϊόντων λόγω της δράσης τους έναντι της αύξησης των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών (Boskou & Debevere 2000, Zhuang *et al.* 1996, Sallam 2007).

Κατά τη συντήρηση των αλιευμάτων, μόνο ένα μικρό κλάσμα του αρχικού μικροβιακού πληθυσμού φθάνει σε υψηλά πληθυσμιακά επίπεδα των 7-9 log cfu/g που προκαλούν την αλλοίωση (Dalgaard *et al.* 1993, Gram & Huss 1996). Στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι η προσθήκη του κιτρικού οξέος δρα έναντι της αύξησης των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών με αποτέλεσμα οι πληθυσμοί τους να βρεθούν σε χαμηλά επίπεδα (5 λογαρίθμων) έως το τέλος του πειράματος (40 ημέρες). Επιπλέον, τα οξυγαλακτικά βακτήρια βρέθηκαν σε υψηλότερους πληθυσμούς στο μαριναρισμένο λαβράκι της παρούσας μελέτης. Γενικότερα, τα οξυγαλακτικά βακτήρια επικρατούν σε μαριναρισμένα αλιευτικά προϊόντα. Σε παρόμοια έρευνα οι Kilinc and Cakli (2004) δημιούργησαν ένα παστεριωμένο κι ένα μη παστεριωμένο δείγμα μαριναρισμένης σαρδέλας με χυμό ντομάτας. Σε κανένα δείγμα δεν βρέθηκαν ζύμες/μύκητες κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης τους, ενώ στο μη παστεριωμένο δείγμα ο ολικός μικροβιακός πληθυσμός και τα οξυγαλακτικά βακτήρια αυξήθηκαν από 1,83 και 1,30 σε 6,36 και 5,66 log cfu/g αντίστοιχα, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Αντιθέτως στο παστεριωμένο δείγμα τόσο ο ολικός μικροβιακός πληθυσμός όσο και τα οξυγαλακτικά βακτήρια παρέμειναν κάτω από τα όρια ανίχνευσης. Διαπιστώθηκε ότι τα βακτήρια δεν θανατώθηκαν πλήρως στο μαρινάρισμα και ότι στο μη παστεριωμένο δείγμα ήταν ακόμη σε θέση να συνεχίσουν τη δραστηριότητα τους, είτε με ταχύτερους είτε με αργότερους ρυθμούς, ανάλογα με την ικανότητα τους να προσαρμοστούν στο περιβάλλον κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Fuselli *et al.* 1994). Η συντήρηση των φιλέτων υπό κιτρικό οξύ και με την αποθήκευση στην συντήρηση του ψυγείου, μας έδειξε ότι οι επικρατέστεροι αλλοιωμένοι μικροοργανισμοί ήταν τα οξυγαλακτικά βακτήρια (MRS). Αυτό οφείλεται προφανώς στο γεγονός ότι οι συνθήκες χαμηλού pH

της σάρκας λόγω του μαριναρίσματος ευνοεί την αύξηση μικροοργανισμών που ανθίστανται σε αυτό όπως είναι τα οξυγαλακτικά (Boziaris et al., 2013).

Συμπερασματικά, διαπιστώνεται ότι η χρήση του κιτρικού οξέος σε συγκέντρωση αναστέλλει τη δράση των κυριότερων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών και επιμηκύνει τον εμπορικό χρόνο ζωής του λαβρακιού. (πάνω από 40 ημέρες στους 4 °C).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αύξηση της Ολικής Μεσόφιλης χλωρίδας και των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών σε προμεγειρεμένα φιλέτα λαβρακιού κατά την διάρκεια αποθήκευσης τους σε ψύξη στο 4°C μαριναρισμένα σε κιτρικό οξύ (χυμός λεμονιού) που ήταν αποθηκευμένα σε ειδικές σακούλες τύπου Vacuum. Παρατηρήθηκε σχετική αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού ενώ η τιμή του pH παρέμεινε σταθερή. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λαβρακιού που μελετήθηκαν παρέμειναν σε όλη την διάρκεια του πειράματος (40 ημέρες) σε σχετικά καλή ποιότητα. Με το πέρας του χρόνου υπήρχαν διακυμάνσεις που ωστόσο δεν έφεραν ποτέ το ψάρι σε ολική αλλοίωση.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Amos B, Sector F, Einarsson H, Eythorsdottir A. (2007). Analysis of quality deterioration at critical steps/points in fish handling in Uganda and Iceland and suggestions for improvement. United Nations University, Uganda.

Ashie, I. N. A., Smith, J. P., Simpson, B. K. (1996). Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36 (1 & 2): 87-121.

Ashie, I.N.A., J.P. Smith, B.K. Simpson and N.F. Haard, (1996). Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 36: 87-121. DOI: 10.1080/10408399609527720

Berna Kilinc, Sukran Cakli, (2004). Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination.

Boziaris I.S. , A. Stamatiou, K. and G.-J. E. Nychas (2013). Microbiological aspects and shelf life of processed seafood products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1184-1193

Boziaris, I. S. and Parlapani, F. F. (2014). Microbiological examination of seafood. In: *Seafood Processing. Technology, Quality & Safety*. Edited by Boziaris I. S. IFST Advances in Food Science Series Wiley-Blackwell. 387-418

Boziaris, I., Kordila, A., Neofitou, C. (2011). Microbial spoilage analysis and its effect on chemical changes and shelf-life of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in air at various temperatures. *International Journal of Food Science and Technology* 46. 887-895.

Cakli, S., Kilinc, B., Cadum, A., Tolasa, S. (2007). Quality differences of whole ungutted sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) while stored in ice. Food Control 18. 391-397.

Cakli, S., Kilinc, B., Dincer, T., Tolasa, S. (2006). Effect of uncutting on microbiological, chemical and sensory properties of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. Eur. Food Res. Technol. 222: 719-726.

Dalgaard, P., (1995). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packaged fish. International Journal of Food Microbiology.

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. 283-294

Damoglou, A.P. (1980). Comparison of different methods of freshness assessment of herring.

Debevere, J. and Boskou, G. (1996). Effect of modified atmosphere packaging on the TVB/TMA-producing microflora of cod fillets. International Journal of Food Microbiology 31. 221-229.

Ghaly AE, Dave D, Budge S, Brooks M. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques. American Journal of Applied Sciences. ;7:859.

Graham, J., (1982). Cold Storage. In: Fish Handling and Processing, Aitken, A., I.M. Mackie, J.H. Merritt and M.L. Windsor (Eds.), 2nd Edn., Tony Research Station, Edinburgh, UK., ISBN: 10: 0114917418.

Gram L, Trolle G, Huss HH. (1987). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 C) and high (20 C) temperatures. *International journal of food microbiology.* 65-72

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

Gram, L. and Melchiorsen, J. (1996). Interaction between fish spoilage bacteria *Pseudomonas* sp. and *S. putrefaciens* in fish extracts and on fish tissue. *Journal of Applied Bacteriology.*

Gram, L. and P. Dalgaard, (2002). Fish spoilage bacteriaproblems and solutions. *Current Opinion Biotechnol.,* DOI: 10.1016/S0958- 1669(02)00309-9 13. 262-266.

Hall GM. (2012). Fish processing technology: Springer Science & Business Media,.

Herbert, R.A. and Shewan, J.M. (1975). Precursors of volatile sulphides in spoiling North Sea cod (*Gadus morhua*). *Journal Science of Food Agriculture.*

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

Huss, H.H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. *FAO Fisheries Technical Paper.* No 348. FAO. Rome.

Johnsen SO, Skipnes D, Skåra T, Hendrickx ME. (2007). Thermal Inactivation kinetics of acid phosphatase (ACP) in cod (*Gadus morhua*). *European Food Research and Technology.*;224:315-20.

Johnston, W.A., Nicholson, F. J. and A. Roger, (1994). Freezing and refrigerated storage in fisheries. *FAO Fisheries Technical Paper-T340,* Rome, Italy.

Jorgensen, B.R., Gibson, D.M. and Huss, H.H.(1988). Microbiological quality and shelf-life prediction of chilled fish. *International Journal of Food Microbiology*. 6. 295-307.

Julien Arino Jonathan R. Davis David Hartley Richard Jordan Joy M. MillerP. van den Driessche. (2005). A multi-species epidemic model with spatial dynamics.

Kamireddy N, Kenney PB, Jittinandana S, Slider SD, (2008). Acidified sodium chlorite solution as an antimicrobial treatment for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Journal of food protection*.

Khalid Ibrahim Sallam (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon.

Lall, S. P. & Parazzo M., P. (1995). Vitamins in Fish and Shellfish. In A. Ruiter (Ed.), *Fish and Fishery Products, Composition, Nutrive Properties and Stability* (pp.157-186). Cab International. Wallingford, UK

Liston, J., 1980. Microbiology in Fishery Science. In: *Advances in Fish Science and Technology*, Connel, J.J. (Ed.). Fishing News Books Ltd., Farnham, UK., ISBN: 10: 0852381085.

Munro HM, Munro R. (2008). *Animal Abuse and Unlawful Killing E-Book: Forensic veterinary pathology: Elsevier Health Sciences;*

Ólafsdóttir, G., Lauzon, H. L., Martinsdottir, E., Kristbergsson, K. (2006). Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction. *International Journal of Food Microbiology* 111. 112-125.

Organization WH (2012). Code of practice for fish and fishery products: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO);.

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

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

Parlapani, F. F., 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.

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.

Rahman, S.F., (1999). Food Preservation by Freezing. In: Handbook of Food Preservation, Rahman, S.F. (Ed). Marcel Dekker, NY., ISBN: 0-8247-0209-3.

Regenstein, J.M.Regenstein, (1991). An introduction to fish technology .

S. R. Fuselli , M. R. Casales , R. Fritz & M. I. Yeannes (1994). Isolation and Characterization of Microorganisms Associated with Marinated Anchovy (*Engraulis anchoita*).

Stroud G, (1969). Rigor in fish: The effect on quality: Torry Research Station.

Αρβανιτογιάννης, Ι.Σ. και Λ. Μποσνέα (2001). Στοιχεία Τεχνολογίας, Μεταποίησης και Συσκευασίας Τροφίμων. Έκδοση University Studio Press. Θεσσαλονίκη.

Αρβανιτογιάννης, Ι.Σ. και Ν.Τζούρος (2006). Το νέο πρότυπο ποιότητας και ασφάλειας τροφίμων ISO 22000 - Παρουσίαση και Ερμηνεία. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε., Αθήνα.

Μποζιάρης, Ι. Σ. (2010). 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.

Νεοφύτου, Χ. Ν. (2015). Βιολογία Ιχθύων και Θαλάσσιων Θηλαστικών Έκδοση University Studio Press. Θεσσαλονίκη. Σελ. 225-226

ΙΣΤΟΤΟΠΟΙ

<http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5914e/x5914e01.htm>

<http://www.tsipouralavraki.gr>

https://ec.europa.eu/fisheries/sites/fisheries/files/docs/body/seabass_en.pdf

