



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΠΜΣ ΤΡΟΦΙΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ: ΧΗΜΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

«ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΕΙΟΥ (*Sparus aurata*) ΩΣ
ΤΡΟΦΙΜΟ. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΕΛΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΤΖΕΛΛΑΣ ΚΟΥΚΑΣ ΣΤΕΦΑΝΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Δρ. ΜΑΡΙΑ ΚΑΨΟΚΕΦΑΛΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2020

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

«ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΕΙΟΥ (*Sparus aurata*) ΩΣ ΤΡΟΦΙΜΟ. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΕΛΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ»

POSTGRADUATE THESIS

EXPLOITATION OF BYPRODUCTS FROM AQUACULTURED SEA BREAM (*Sparus aurata*) AS FOOD. DESIGN, DEVELOPMENT AND EVALUATION OF THE FINAL PRODUCTS

ΤΖΕΛΛΑΣ ΚΟΥΚΑΣ ΣΤΕΦΑΝΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Δρ. ΜΑΡΙΑ ΚΑΨΟΚΕΦΑΛΟΥ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Δρ. ΜΑΡΙΑ ΚΑΨΟΚΕΦΑΛΟΥ

Δρ. ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΣΚΑΝΔΑΜΗΣ

Δρ. ΧΡΥΣΑΥΓΗ ΓΑΡΔΕΛΗ

Στην οικογένεια μου.

Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων της Μονάδας Διατροφής του Ανθρώπου, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πρωτίστως την κ. Καψοκεφάλου, καθηγήτρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, επιστημονική υπεύθυνη του Εργαστηρίου Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων, για την ανάθεση της μεταπτυχιακής μου μελέτης και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε.

Τον κ. Παναγιώτη Σκανδάμη, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για το ενδιαφέρον και την πολύτιμη βοήθειά του κατά την υλοποίηση των μικροβιολογικών πειραμάτων.

Την κ. Χρυσανγή Γαρδέλη, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για τις διαλέξεις της στα μαθήματα των σπουδών μου.

Πολλές ευχαριστίες στους συνεργάτες του εργαστηρίου, ιδίως στην Κατερίνα Κανδυλιάρη.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, η οποία με στηρίζει σε κάθε μου βήμα.

Περίληψη

Η ανάπτυξη του τομέα των ιχθυοκαλλιέργειων, επέφερε σημαντική αύξηση στον όγκο των υποπροϊόντων που απορρίπτεται από αυτές. Αυτό αποτελεί ένα πρόβλημα άμεσα συνδεδεμένο με ζητήματα που αφορούν στην οικονομία, στο περιβάλλον και στην κοινωνία. Στο πλαίσιο της ορθής διαχείρισης του περιβάλλοντος και της αειφόρου ανάπτυξης βρίσκεται και ο στόχος αυτής της εργασίας. Τα υποπροϊόντα ιχθύων μετά από επεξεργασία και σε μορφή πούδρας μπορούν να ενσωματωθούν σε τρόφιμα όπως η μαγιονέζα και η σάλτσα ντομάτας αποτελώντας μια πιθανή λύση στην μείωση των αποβλήτων, προτείνοντας παράλληλα καινοτόμα, εμπλουτισμένα προϊόντα. Δείγματα από υποπροϊόντα λαμβάνονται από τσιπούρες ιχθυοτροφείου και προετοιμάζονται με βρασμό λυοφιλίωση και ομογενοποίηση. Εξετάζονται οι μικροβιολογικοί δείκτες ασφάλειας και ποιότητας τους. Πραγματοποιείται έρευνα που αφορά την αξιολόγηση των χρήσεων των υποπροϊόντων ψαριού από το καταναλωτικό κοινό και τέλος εξετάζονται σε πιλοτική κλίμακα οι αναμείξεις των πουδρών με τα επιλεγμένα τρόφιμα μήτρες.

Οι μικροβιολογικοί έλεγχοι ασφάλειας και ποιότητας πραγματοποιήθηκαν στα διάφορα στάδια της διαδικασίας παραγωγής των πουδρών ενώ εξετάστηκαν βρασμένα και νωπά υποπροϊόντα. Τα δείγματα προέρχονται από δύο διαφορετικές παρτίδες ψαριών της ίδια μονάδας ιχθυοκαλλιέργειών. Η πρώτη παρτίδα εμφάνισε στελέχη *Salmonella sp* σε ορισμένα δείγματα. μεγαλύτερα επίπεδα εντεροβακτηρίων και αυξημένη ολική μεσόφιλη χλωρίδα σε σχέση με την δεύτερη, που πιθανότατα οφείλονται στις διαφορετικές συνθήκες υγιεινής που έλαβαν χώρα κατά την προετοιμασία των δειγμάτων από κάθε παρτίδα. Οι πούδρες των βρασμένων υποπροϊόντων εμφανίζουν σημαντική διαφορά ως προς τους δείκτες ασφάλειας και ποιότητας σε σχέση με εκείνες από νωπά.

Οι πούδρες που προέρχονται από νωπά υποπροϊόντα κρίνονται ακατάλληλες για ανθρώπινη κατανάλωση, ενώ εκείνες των βρασμένων ενδείκνυνται για χρήση, σε πιλοτικό στάδιο, στο πλαίσιο οργανοληπτικού ελέγχου και οικιακού επιπέδου παραγωγή, και μεταγενέστερα, σε ενδεχόμενη βιομηχανική κλίμακα, με την προϋπόθεση ότι ακολουθείται έγκυρο και επαληθευμένο σχέδιο HACCP.

Η αξιολόγηση από τους καταναλωτές της χρήσης των εν λόγω υποπροϊόντων στην ανάπτυξη και παραγωγή τροφίμων εμφανίζει θετική συσχέτιση με την ευαισθησία τους προς την απόρριψη των τροφίμων και το πρόβλημα σπατάλης των τροφίμων. Παράλληλα, το μέρος του στατιστικού δείγματος πληθυσμού με υψηλή επιθυμία για κατανάλωση περισσότερων και φθηνότερων γευμάτων ψαριού και υψηλή συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων με ψάρι φαίνεται να αξιολογούν θετικά έως πολύ θετικά την κεντρική ιδέα της μελέτης.

Οι πούδρες δύναται να συνεισφέρουν στον εμπλουτισμό τροφίμων με πρωτεΐνη, ασβέστιο και ω-3 λιπαρά οξέα, δημιουργώντας προϊόντα ανταγωνιστικά προς τις συμβατικές μορφές τους ή ως υποκατάστατα σε προϊόντα από κρέας ψαριού.

Κύρια επιστημονικά πεδία: Γεωπονικές Επιστήμες, Μικροβιολογία Τροφίμων, Χημεία Τροφίμων, Διατροφή του Ανθρώπου

Λέξεις-κλειδιά: Βιωσιμότητα, απορρίψεις τροφίμων, υδατοκαλλιέργειες, υποπροϊόντα, ανάπτυξη Τροφίμων, διατροφή, αποτύπωμα άνθρακα, έρευνα καταναλωτών, λυοφιλίωση, σάλτσα ντομάτας, μαγιονέζα, προστιθέμενη αξία, υποκατάστατο προϊόν, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*.

Abstract

The growth of the aquaculture sector has caused a significant rise on the discarded masses of byproducts that occur. This issue is related with topics concerning economy, the environment and society. Sustainable development and proper environmental management constitute the main motivation of this study. Processed byproducts from fish, in a powdered state, show a potential use. These powders can be integrated into matrices such as mayonnaise or tomato sauce, proposing a potential solution for reducing the discards from aquacultures, by developing a series of enriched and innovative final products. Samples from byproducts are extracted by Sea Bream (*Sparus aurata*) from Greek aquaculture sites and are processed by a sequential method of boiling, dry-freezing and homogenization. Microbiological indices are used for the examination of the safety and the quality of these powdered byproducts. A research on consumers concerning the assessment of the utilization of fish byproducts that is suggested in the present study is performed. Finally, the blending of the powdered byproducts and the matrices is examined in a pilot phase experiment. The microbiological tests of safety and quality were performed on separate stages of the powder production process. Both boiled and raw byproducts were examined. The samples came from two different batches of the same aquaculture origin. Strains of *Salmonella sp.* were traced in samples that belong to the first batch. When the results between the first and the second batch were compared, the content of coliforms and the total plate count were found to be significantly lower in the latter. Which can be explained from the difference among the hygiene conditions that were applied during each sample preparation. These quality indices were significantly lower in the boiled byproducts and their powders, than the raw ones.

Powders that are produced from raw byproducts seem to be unsafe for human consumption, while those produced from boiled byproducts seem to be adequate for tasting sessions, or even domestic grade production in the pilot stage. Future application in the industry could also be achievable, providing that a validated safety plan is followed during the production.

The statistical sample of population seems to evaluate the use of these certain byproducts in food production according to their concern for environmental, social and economic parameters such as food waste and byproduct discarding. This evaluation appears to be influenced by high frequency in fish consumption and desire for more frequent, affordable and easier to prepare fish dishes.

These powders are eligible to contribute to food enrichment with omega-3 fatty acids, calcium and protein, resulting to products that could compete with the conventional ones or substitutes to other products that contain whole fish meat.

Main scientific disciplines : Agricultural Sciences, Food Microbiology, Food Chemistry, Human Nutrition

Keywords: Sustainability, Food discards, aquacultures, byproducts, food development, nutrition, carbon footprint, consumers research, dry-freezing, tomato sauce, mayonnaise, added value, substitute product, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*.

1. Εισαγωγή.....	9
1.1 Υποπροϊόντα, απορρίψεις και σπατάλη τροφίμων	9
1.2 Επιπτώσεις των απορρίψεων τροφίμων	10
1.3 Κυκλική Οικονομία	11
1.4 Ιστορικό νομικού πλαισίου διαχείρισης τροφικών υποπροϊόντων και απορρίψεων	12
1.5 Ιχθυοκαλλιέργειες στην Ελλάδα	13
1.6 Τύποι και συστήματα υδατοκαλλιέργειας	13
1.7 Υποπροϊόντα υδατοκαλλιέργειών	15
1.7.1 Εφαρμογές δέρματος.....	17
1.7.2 Εμπλουτισμένα μπισκότα	18
1.7.3 Κολλαγόνο	18
1.7.4 Ζελατίνη.....	18
1.7.5 Πρωτεΐνη (Fish Protein Isolate)	19
Στόχος και αντικείμενο της μελέτης	20
2. Αξιολόγηση Μικροβιολογικών Κριτηρίων Ασφάλειας και Ποιότητας των Πουδρών από Υποπροϊόντα	21
2.1 Προετοιμασία δειγμάτων υποπροϊόντων	21
2.1.1. Φιλετοποίηση	21
2.1.2 Βρασμός και Τεμαχισμός.....	22
2.1.3 Λυοφιλίωση και ομογενοποίηση	22
2.2 Ανίχνευση <i>Salmonella</i> sp.....	22
2.2.1 Παθογόνος δράση του <i>Salmonella</i> sp.	22
2.2.2 Αρχή της μεθόδου	23
2.2.3 Πειραματική διαδικασία	24
2.3 <i>Escherichia coli</i> , εντεροβακτήρια και Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα, Δείκτες Υγιεινής των Τροφίμων	25
2.3.1 Αρχή της μεθόδου	26
2.4 Ανίχνευση <i>Listeria monocytogenes</i>	28
2.4.1 Παθογόνος δράση της <i>L.monocytogenes</i>	28
2.4.2 Αρχή της μεθόδου	30
2.4.3 Πειραματική διαδικασία	30
2.5 Αποτελέσματα.....	32
2.5.1 Αποτελέσματα πρώτης παρτίδας.	32
2.5.2 Αποτελέσματα δεύτερης παρτίδας.....	33
2.6 Συζήτηση.....	33

3. Έρευνα προς τους Καταναλωτές για την Χρήση Υποπροϊόντων Ψαριών στα Τρόφιμα. Αξιολόγηση Προτεινόμενων Προϊόντων από το Ευρύ Καταναλωτικό Κοινό	37
3.1 Πειραματική διαδικασία	37
3.2 Αποτελέσματα.....	38
3.3 Συζήτηση.....	44
4. Πιλοτικές Δοκιμές Ανάπτυξης Προϊόντων με την Χρήση Πουδρών από Υποπροϊόντα Τσιπούρας	45
4.1 Περιγραφή Προτεινόμενων Προϊόντων.....	45
4.1.1 Σάλτσα Μαγιονέζας με πούδρα υποπροϊόντων Ψαριών.....	45
4.1.1 Σάλτσα Ντομάτας με πούδρα υποπροϊόντων Ψαριών	46
4.2 Υλικά και μέθοδοι.....	46
4.2.1 Επιλογή Τροφίμων	46
4.2.2 Ανάμειξη με τρόφιμα μήτρες.....	47
4.3. Αποτελέσματα.....	48
4.4. Συζήτηση.....	50
5. Συμπεράσματα	51
Βιβλιογραφία	53
Παράρτημα.....	62

1. Εισαγωγή

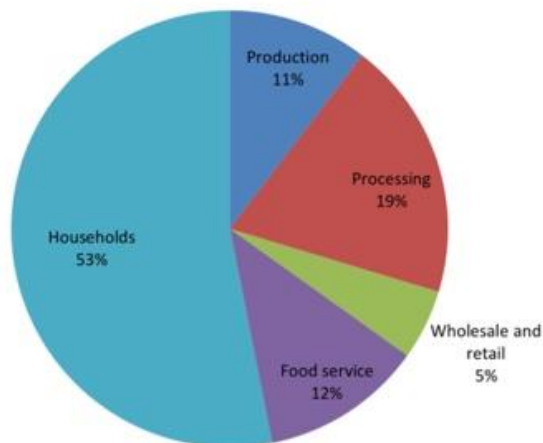
1.1 Υποπροϊόντα, απορρίψεις και σπατάλη τροφίμων

Η εκθετικού ρυθμού αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού κάθε χρόνο έχει σαν αποτέλεσμα την τεράστια ζήτηση ως προς τα τρόφιμα με σκοπό την κάλυψη των αναγκών της κοινωνίας. Το πρόβλημα εντείνεται ακόμη, με την ταχεία αστικοποίηση, και την αργή πρόοδο ανάπτυξης στρατηγικών διαχείρισης των υποπροϊόντων που προκύπτουν κατά την επεξεργασία και την τυποποίηση τροφίμων, με αποτέλεσμα τη συσσώρευσή τους. Η δημιουργία υποπροϊόντων θεωρείται γενικώς αναπόφευκτη κατά τα στάδια παραγωγής και της επεξεργασίας τελικών προϊόντων, ιδιαίτερα για προϊόντα κρέατος, και περιλαμβάνει οστά, σπλάχνα και άλλα μέρη που δεν καταλήγουν στην ανθρώπινη κατανάλωση (Danish Environment Ministry, 2010).

Τα υποπροϊόντα θεωρούνται σημαντικό μέρος του συνόλου των απωλειών και απορρίψεων που προκύπτουν κατά τη φάση παραγωγής, επεξεργασίας και της εφοδιαστικής αλυσίδας των τροφίμων. Αυτές οι απώλειες λαμβάνουν χώρα κατά τη συγκομιδή, την αποθήκευση, τη μεταφορά στην αγορά ή τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων, την επεξεργασία, την αποθήκευση, και κατά την μεταφορά από τις αποθήκες στα σημεία λιανικής πώλησης (Gustavsson et al., 2011). Στις απώλειες που λαμβάνουν χώρα στα τελευταία στάδια της αλυσίδας, αποδίδεται ο όρος «σπατάλη τροφίμων» και σχετίζεται άμεσα με την συμπεριφορά των καταναλωτών και την εκάστοτε πολιτική των καταστημάτων λιανικής πώλησης (Parfitt et al., 2010).

Κάθε χρόνο, σχεδόν 88 εκατομμύρια τόνοι απωλειών και απορρίψεων τροφίμων παράγονται εντός ευρωπαϊκής ένωσης (European Commission, 2010). Ο όγκος αυτός μπορεί να συσχετισθεί με χρηματοοικονομικό αντίκτυπο που εκτιμάται στα 143 δις. ευρώ. Αντίστοιχα, στις ΗΠΑ, οι απώλειες αποτελούν το 30-40% τις συνολικής διάθεσης τροφίμων. Τα ποσά εκτιμώνται σχεδόν 60 εκατομμύρια τόνοι οι οποίοι αντιστοιχούν σε αξία τροφίμων ύψους 161 δις δολαρίων. Παράλληλα, αρκετές μελέτες στηρίζουν ότι, σε παγκόσμια κλίμακα, ένα ποσοστό μεταξύ του 33% και 50% της συνολικής παραγωγής τροφίμων δεν καταλήγει στην κατανάλωση (Gustavsson, 2011, Bio Intelligence Service, 2010).

Στο γράφημα που ακολουθεί παρουσιάζεται το ποσοστό των απωλειών και απορρίψεων των τροφίμων που αντιστοιχεί στα διάφορα στάδια της αλυσίδας παραγωγής-κατανάλωσης εντός της ΕΕ κατά το έτος 2012. Στις εκτιμώμενες μάζες συμπεριλαμβάνονται τα υποπροϊόντα και τα παράγωγα που δεν προορίζονται για κατανάλωση, αλλά και τρόφιμα τα οποία, ενώ προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, καταλήγουν να μην καταναλωθούν, ανεξαρτήτως εάν μετέπειτα διοχετεύονται προς άλλες χρήσεις, όπως παραγωγή βιοκαυσίμων και ζωοτροφών. Επιπροσθέτως, οι τεχνικές δυσλειτουργίες των μονάδων επεξεργασίας τροφίμων λαμβάνονται υπόψιν, καθώς οδηγούν σε υπερπαραγωγή και ασυνέχεια των διαδικασιών παραγωγής, στις οποίες, οφείλονται διάφορες μορφές ελλαττωματικών προϊόντων, οι οποίες απορρίπτονται.



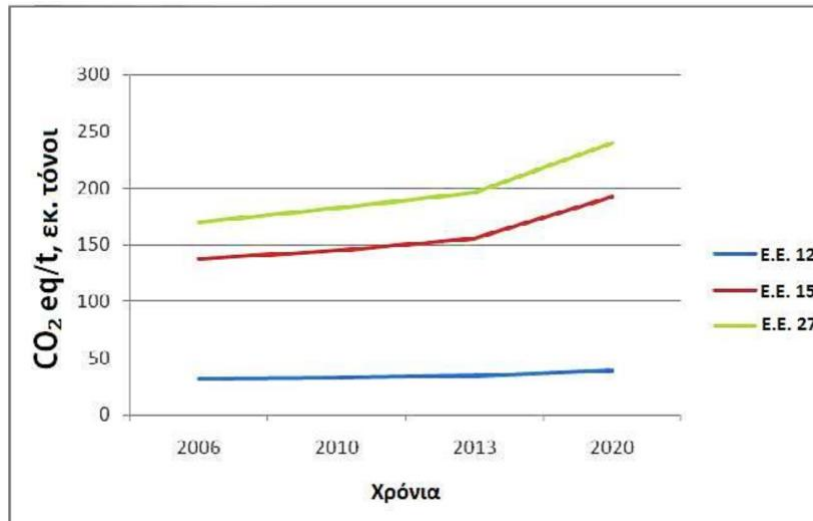
Γράφημα 1.1. Ποσοστιαίος διαχωρισμός των απορρίψεων και της απώλειας τροφίμων ανά τομέα, συμπεριλαμβάνονται τρόφιμα και μη βρώσιμα μέρη που σχετίζονται με τρόφιμα (Stenmarck, 2016). Τα υποπροϊόντα ανευρίσκονται κυρίως στα στάδια παραγωγής (production) και επεξεργασίας (processing) που αφορούν το 30% του προβλήματος.

1.2 Επιπτώσεις των απορρίψεων τροφίμων

Οι υψηλές απορρίψεις τροφίμων σε συνδυασμό με την σπατάλη τροφίμων αποτελούν ένα θέμα με ιδιαίτερη βαρύτητα στην παγκόσμια επισιτιστική ασφάλεια και στην ορθή περιβαλλοντική διαχείριση. Είναι άμεσα συνδεδεμένο με ζητήματα που αφορούν στην οικονομία, στο περιβάλλον και στην κοινωνία. Ως προς την οικονομία οι παράμετροι αφορούν στην επάρκεια πόρων, στην άνοδο τιμών και τα αυξημένα κόστη παραγωγής. Ως προς τις περιβαλλοντικές παραμέτρους πρωτεύουσα επίδραση έχουν οι απορρίψεις τροφίμων στην κλιματική αλλαγή, στις ενεργειακές δαπάνες και στη διαθεσιμότητα των πόρων. Το κοινωνικό αντίκτυπο της σπατάλης τροφίμων αφορά στις ανισότητες που προκύπτουν ως αποτέλεσμα.

Οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις της αλόγιστης παραγωγής, απόρριψης και κατανάλωσης τροφίμων έχουν σαν αποτέλεσμα ο τομέας των τροφίμων να αντιπροσωπεύει το 30 με 31% της ενδεχόμενης παγκόσμιας υπερθέρμανσης του πλανήτη, 17% των άμεσων εκπομπών αερίων του φαινομένου του θερμοκηπίου καθώς και 28% της χρήσης υλικών πόρων (European Commission, 2010). Σύμφωνα με την ΒΙΟ υπολογίστηκε ότι κάθε τόνος αποβλήτων τροφίμων εκλύει 1.9t CO₂ eq/t (European Commission, 2010).

Στο παρακάτω διάγραμμα, λαμβάνοντας υπόψη τις επιπτώσεις τόσο της αύξησης του πληθυσμού καθώς και την αύξηση του διαθέσιμου εισοδήματος, παρατηρείται ότι θα υπάρξει μια θετική αύξηση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, με επιπλέον 70,2 εκατ. τόνους αερίων του διοξειδίου του άνθρακα το 2020, σε σύγκριση με τις τιμές του 2006 (European Commission, 2010).



Γράφημα 1.2 Πρόβλεψη εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου από τα απόβλητα τροφίμων 2006- 2020 (Πηγή: Eurostat, 2010)

Σε παγκόσμιο επίπεδο, το οικονομικό αντίκτυπο της απόρριψης τροφίμων ανέρχεται περίπου στα 750 δισεκατομμύρια δολάρια (Gustavsson. et al, 2011) λόγω του ότι σχεδόν 1,3 δισεκατομμύρια τόνοι τροφίμων χάνεται κάθε χρόνο (Paritosh et al, 2017). Το ποσό αυτό αντιστοιχεί στο 1/3 της παγκόσμιας παραγωγής.

1.3 Κυκλική Οικονομία

Η Κυκλική Οικονομία αποτελεί εκείνο το πρότυπο παραγωγής και κατανάλωσης το οποίο στοχεύει να αποτελέσει την ευρωπαϊκή αλλά και παγκόσμια απάντηση σε μια σειρά πιεστικών προκλήσεων, με σημαντικότερες την κλιματική κρίση, την αλόγιστη χρήση των υπαρχουσών πλουτοπαραγωγικών πηγών, την αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού και την καταστροφή των οικοσυστημάτων. Σαφής ορισμός του τι είναι η Κυκλική Οικονομία δεν υφίσταται. Ενδεικτικά, έχουν καταγραφεί τουλάχιστον 114 ορισμοί σε παγκόσμιο επίπεδο (Euractiv, 2019) .

Το κυκλικό μοντέλο παραγωγής και κατανάλωσης μπορεί να συμβάλει αποφασιστικά στη μείωση των αερίων του θερμοκηπίου, στην εξοικονόμηση των φυσικών πόρων και στην εν γένει προστασία των οικοσυστημάτων, μέσω της σχεδίασης και παραγωγής πράσινων προϊόντων, της αύξησης του χρόνου ζωής τους στο πλαίσιο της οικονομίας, της ορθής ανακύκλωσής τους και της επαναχρησιμοποίησης των πρώτων υλών που ανακτώνται για τη δημιουργία νέων πράσινων προϊόντων και υπηρεσιών.

Συνεπώς, είναι σαφές, ότι υπάρχει επιτακτική ανάγκη αλλαγής από την γραμμική οικονομία προς μια κυκλική. Αυτό θα συμβάλει ουσιαστικά στο μετριασμό των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου και των επιπτώσεών τους στην αλλαγή του κλίματος, δημιουργώντας πολυάριθμες ευκαιρίες

απασχόλησης σε βιομηχανίες και ακαδημαϊκούς κύκλους, ιδίως στους τομείς της γεωργίας, διατροφής, χημείας, φαρμακευτικής και της εφοδιαστικής (Clark and Deswarte, 2015).



Γράφημα 1.3. Σχηματική απεικόνιση του μοντέλου της Κυκλικής Οικονομίας (European Parliament Research Service, 2019.)

Τα υποπροϊόντα μπορούν να μετατραπούν σε ένα ευρύ φάσμα χημικών ουσιών, βιοεμπορευμάτων και βιοενέργειας (Lin et al., 2013; Kiran et al., 2014; Dahiya et al., 2015), καθώς τυγχάνει να είναι κυρίως λιγνοκυτταρινούχα, με υψηλή περιεκτικότητα, σε κυτταρίνη και λιγνίνη (με εξαίρεση τα ζωικά απόβλητα τροφίμων). Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι η παραγωγή χημικών προϊόντων από απόβλητα βιομάζας είναι 3,5 φορές πιο επικερδής από τη μετατροπή τους σε βιοκαύσιμα (Tuck, 2012). Μέσω ποικίλων διαδικασιών μετατροπής (Cherubini, 2010) όλα τα είδη αποβλήτων βιομάζας μπορούν να μετατραπούν σε διαφορετικούς τύπους βιοκαυσίμων και χημικών προϊόντων.

Σε μια Κυκλική Οικονομία ένα προϊόν ή υλικό θα πρέπει να παραμένει όσο το δυνατόν περισσότερο σε χρήση μέσα στην οικονομία και στη συνέχεια, όταν αυτό φτάσει στο τέλος του κύκλου ζωής του, θα πρέπει είτε να επαναχρησιμοποιείται είτε να ανακυκλώνεται για την παραγωγή νέων υλικών ή προϊόντων, αυξάνοντας την προστιθεμένη αξία του σε όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής του.

1.4 Ιστορικό νομικού πλαισίου διαχείρισης τροφικών υποπροϊόντων και απορρίψεων

Η πρώτη απόπειρα νομοθέτησης σχετικά με τη διαχείριση των υποπροϊόντων στην Ευρώπη χρονολογείται περί το 1970, όταν η Ευρωπαϊκή Οικονομική Κοινότητα προσπάθησε αρχικά να ορίσει τη σημασία του «αποβλήτου», γεγονός που αποτέλεσε τον ακρογωνιαίο λίθο των νόμων και κανονισμών για την παραγωγή, τον χειρισμό, την αποθήκευση και τη διάθεση τους, ελαχιστοποιώντας τις αρνητικές επιδράσεις τους στην υγεία και το περιβάλλον (European Parliament, 2008). Κατά τη νομική έννοια, τα απόβλητα τροφίμων αντιμετωπίζονται με τον ίδιο τρόπο όπως τα κανονικά απόβλητα που δεν είναι επικίνδυνα, εάν και μόνο εάν δεν παρουσιάζουν ιδιότητες που μπορεί να τα καταστήσουν «επικίνδυνα». Σε αντίθεση με ό,τι αφορά τα τρόφιμα, τα απόβλητα ζωικών υποπροϊόντων εμπίπτουν σε αυστηρούς ελέγχους κατά τη μεταφορά, το χειρισμό, την

αποθήκευση, την επεξεργασία και τη διάθεσή τους μέσω του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1069/2009. Ωστόσο, εκτός κανονισμού τίθενται τα απόβλητα ζωικών υποπροϊόντων που προορίζονται για αποτέφρωση, κομποστοποίηση, παραγωγή φυτών ή βιοαερίου (European Parliament, 2009).

Η νέα οδηγία 2008/98/ΕΚ για τα απόβλητα (Waste Framework Directive, WFD) εγκρίθηκε για την εισαγωγή μιας νέας προσέγγισης όσον αφορά τη διαχείριση των υποπροϊόντων. Σύμφωνα με την οδηγία αυτή, δίνεται προτεραιότητα στην πρόληψη της δημιουργίας τους, ακολουθούμενη από την επεξεργασία, με απώτερο στόχο την επαναχρησιμοποίηση και ανακύκλωσή τους και ουχί στην εξ' αρχής απέκκρισή τους (Recticular 8, 2008).

1.5 Ιχθυοκαλλιέργειες στην Ελλάδα

Ο τομέας της αλιείας αποτελούσε βασικό κλάδο απασχόλησης του ελληνικού πληθυσμού, με σημαντικό κοινωνικό και οικονομικό αντίκτυπο, ιδιαίτερα σε παράκτιες και νησιωτικές περιοχές από τις αρχές της εμπορικής του δραστηριότητας. Στην Ελλάδα η εξέλιξη των υδατοκαλλιεργειών ήταν σχεδόν ταυτόχρονη με αυτή του Ευρωπαϊκού χώρου. Συνίστατο κυρίως σε μεθόδους εγκλωβισμού αλιευμάτων σε κλειστές λεκάνες (κλειστούς κόλπους, λιμνοθάλασσες κ.τ.λ.) και τη διατήρησή τους με σκοπό την ευκολότερη αλίευση τους. Στην δεκαετία του 1950 η εκτροφή της πέστροφας είναι στα πρώτα της βήματα.

Τα τελευταία 30 χρόνια η εκτροφή μεσογειακών θαλάσσιων ψαριών αποτελεί την κύρια μορφή εκμετάλλευσης των θαλάσσιων ειδών ενώ η παραγωγή στην Ελλάδα το 2015 έφτασε τους 134,065 τόνους αξίας 628.3 εκατομμυρίων ευρώ, απασχολώντας 63 επιχειρήσεις οι οποίες διοικούν 366 μονάδες παραγωγής στην επικράτεια, δίνοντας στην Ελλάδα την δεύτερη θέση τόσο σε ποσότητα όσο και αξία ανάμεσα στην ΕU-28 στον τομέα των ιχθυοκαλλιεργειών. Σήμερα, μόλις το 37% του συνόλου της συγκομιδής θαλασσινών και ψαριών προκύπτει από την αλιεία ενώ το υπόλοιπο 63% προκύπτει από υδατοκαλλιέργειες.

Τα είδη που εκτρέφονται περισσότερο στην Ελλάδα είναι η τσιπούρα (*Sparus aurata*) και λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) καταλαμβάνοντας το 98% της αγοράς ενώ σε πολύ μικρότερη κλίμακα εκτρέφονται η Ούγκραινα, κοινώς σαργός, (*Diplodus puntazzo*), το Φαγκρί (*Pagrus pagrus*), το Λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*), το Μαγιάτικο (*Argyrosomus Regius*), και η Συναγρίδα (*Dentex dentex*).

Η Ελλάδα παράγει το 59% της συνολικής διάθεσης τσιπούρας (*Sparus aurata*) και Λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) στην Ευρώπη. Οι κυριότερες μονάδες υδατοκαλλιεργειών βρίσκονται στα Δωδεκάνησα στην Εύβοια, στη Κεφαλλονιά και την Ιθάκη καθώς και στις παράκτιες περιοχές της Θεσπρωτίας Φθιώτιδας και της Αιτολοακαρνανίας.

1.6 Τύποι και συστήματα υδατοκαλλιεργείας

Οι τύποι υδατοκαλλιεργείας διακρίνονται κυρίως με βάση τον τρόπο εκτροφής των οργανισμών σε εντατικές, ημιεντατικές, ημiekτατικές και εκτατικές. Στην εκτατική καλλιέργεια οι ανθρώπινες παρεμβάσεις είναι περιορισμένες και δεν χορηγείται σε καμιά περίπτωση τροφή. Η μέθοδος αυτή είναι συνήθως χαμηλής απόδοσης και εφαρμόζεται σε λιμνοθάλασσες.

Στην ημιεκτατική καλλιέργεια οι ανθρώπινες παρεμβάσεις είναι επίσης περιορισμένες και περιλαμβάνουν την εκτέλεση χωματοργικών έργων και την χρήση λιπασμάτων σε τεχνητά υδροστάσια γλυκών ή υφάλμυρων υδάτων με τελικό σκοπό την αύξηση της παραγωγικότητάς τους. Γενικά έχουν μεγαλύτερη απόδοση από την εκτατική μορφή. Στην ημιεντατική καλλιέργεια η ανθρώπινη παρέμβαση περιλαμβάνει διαδικασίες βελτίωσης της πρωτογενούς παραγωγής και περιοδικά άμεσο τσίσμα. Η απόδοση τέτοιου είδους καλλιεργειών μπορεί να είναι αρκετά μεγάλη.

Η εντατική μορφή εμφανίζεται σε τεχνητές εγκαταστάσεις στην θάλασσα και στην ξηρά, οι οργανισμοί εκτρέφονται σε υψηλές πυκνότητες και τρέφονται αποκλειστικά από τεχνητό σιτηρέσιο. Το συγκεκριμένο σύστημα καλλιέργειας αποτελεί τον πλέον διαδεδομένο τύπο ιχθυοκαλλιέργειας στην Ελλάδα.

Τα συστήματα εκσκαφής τάφρων/λιμνών είναι ο αρχαιότερος και απλούστερος τύπος ιχθυοκαλλιέργειας, αποτελώντας χαρακτηριστικά παραδείγματα εκτατικών μονάδων. Αντιγράφουν το βιότοπο του συνόλου των εκτρεφόμενων ειδών στο περιβάλλον τους (π.χ. λίμνη). Η λίμνη εμπεριέχει ένα πλήρες οικοσύστημα αρπακτικών/θηραμάτων και είναι προσεκτικά εξισορροπημένη όσον αφορά στη χλωρίδα και στην πανίδα που υπάρχουν σε κάθε δεδομένη στιγμή. Ωστόσο έχει παρατηρηθεί τα συστήματα αυτά με την πάροδο του χρόνου να μετατρέπονται σε πιο εντατικές μορφές υδατοκαλλιέργειας.

Μέθοδοι που ανήκουν στην κατηγορία της εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας είναι τα συστήματα ιχθυοκαλλιέργειας με γόνους τα συστήματα ιχθυοκαλλιέργειας με κλωβούς και τα συστήματα με ενσωματωμένη ανακύκλωση (Little and Edwards, 2003; Beveridge, 2008; Lekang, 2013).

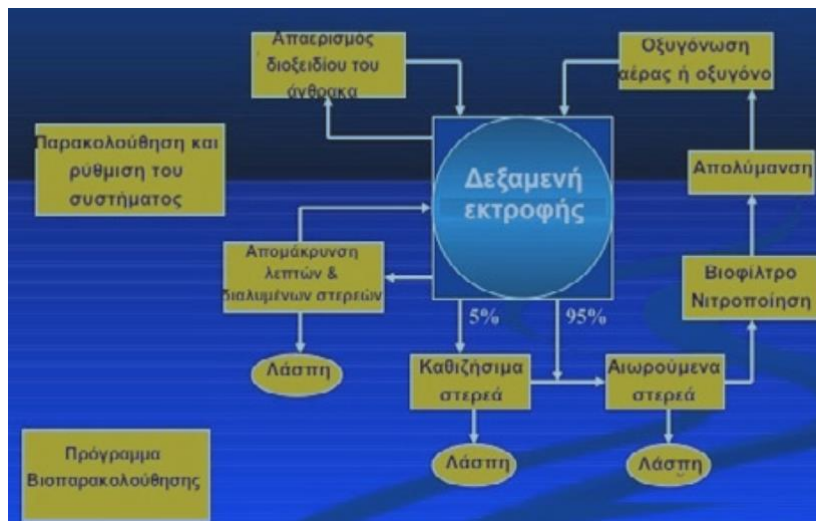
Το συστήματα ιχθυοκαλλιέργειας με γόνους ή ιχθυογονία εποικισμού αποτελείται ουσιαστικά από αγωγούς που το νερό διοχετεύεται από ένα κοντινό σώμα νερού και οι ιχθύες μεγαλώνουν μέσα σε αυτούς, δηλαδή σε ένα κλειστό σύστημα που τροφοδοτείται με πλούσια πηγή τροφής. Όταν οι ιχθύες ενηλικιωθούν και συγκομιστούν, το σύστημα ανανεώνεται με καθαρισμό του νερού. Ο μεγάλος πληθυσμός των ιχθύων σε αυτά τα συστήματα προκαλεί εμφάνιση ασθενειών και παρασίτων, που καταστρέφουν ολόκληρες καλλιέργειες χωρίς πρότερη ένδειξη.



Εικόνα 1.2. Ιχθυοκαλλιέργεια με κλωβούς της «Νηραίας» <http://www.nireus.com/>

Τα συστήματα ιχθυοκαλλιέργειας με κλωβούς είναι η πιο ρυπογόνος μορφή από τις τρεις μορφές εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας, που αναφέρονται. Αποτελείται από μεγάλο σύστημα κλωβών ή δικτύων, στο οποίο οι ιχθύες διατηρούνται σε εξαιρετικά υψηλές πυκνότητες. Ο κλωβός βρίσκεται σε ανοικτά νερά, έτσι ώστε το σύστημα να εγγυάται σταθερή παροχή νερού. Τα οργανικά απορρίμματα επιτρέπεται να βγαίνουν από το σύστημα καθώς συμπαρασύρονται από τη ροή του

νερού που διαπερνάει τους κλωβούς ωστόσο δεν υπάρχουν ακόμη μέσα για τον καθαρισμό των αποβλήτων από το νερό προτού τα λύματα εκκενωθούν στο ανοικτό νερό.



Γράφημα 1.4 Γενική απεικόνιση διεργασιών σε ένα σύστημα ιχθυοκαλλιέργειας με ανακυκλούμενο νερό (Χώτος Γ.Ν. ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας, 2016)

Τα συστήματα με ενσωματωμένη ανακύκλωση θεωρείται ότι προσφέρουν τον καλύτερο τρόπο ελαχιστοποίησης της χρήσης των φυσικών υδάτινων πόρων, περιορίζοντας ταυτόχρονα την παραγωγή αποβλήτων. Τα ενσωματωμένα συστήματα ανακύκλωσης αποτελούνται από μεγάλες πλαστικές, μεταλλικές ή σκυροδετικές δεξαμενές, φτιαγμένες σαν θερμοκήπια και μέσα σε αυτές υπάρχουν θρεπτικά συστατικά τα οποία τροφοδοτούν τον πληθυσμό των ιχθύων της ιχθυοκαλλιέργειας. Τα απόβλητα σε αυτά τα συστήματα κυκλοφορούν αργά σε υδροπονικές κλίνες κοντά στις δεξαμενές, όπου, ωφέλιμοι προς το σύστημα, μικροοργανισμοί, που έχουν εμβολιαστεί, μετατρέπουν την αμμωνία σε νιτρικά, τα οποία μαζί με τα φωσφορικά ιόντα μετατρέπονται σε λίπασμα για τα φυτά.

1.7 Υποπροϊόντα υδατοκαλλιεργειών

Οι υδατοκαλλιέργειες συνεισφέρουν περισσότερο από το ένα τέταρτο του παγκοσμίου εφοδιασμού σε θαλασσινά, αριθμός που σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας αναμένεται να ανέλθει στο 50% μέχρι το 2030 (Tidwell, 2001). Η ζήτηση ψαριών και οστρακοειδών είναι αυξανόμενη (Fernandes, 2000). Χαρακτηριστικά, αναφέρεται πως η ετήσια κατανάλωση θαλασσινών διπλασιάστηκε τις τρεις τελευταίες δεκαετίες (FAO, 2000). Συνέπεια αυτής της τάσης είναι οι υδατοκαλλιέργειες να αυξηθούν σε αρκετές χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης προσφέροντας μια ευκαιρία για οικονομική ανάπτυξη, όπως συνέβη στην περίπτωση του Ατλαντικού σολομού στη Σκωτία, Νορβηγία και Ιρλανδία, του λαβρακιού και της τσιπούρας στη Μεσόγειο και των μυδιών (*Mytilus edulis*) στην Ιρλανδία, Ισπανία και Γαλλία.

Η ανάπτυξη στον τομέα των ιχθυοκαλλιεργειών, με την εμφάνιση περισσότερων μονάδων, ευλόγως επέφερε αύξηση του όγκου των αποβλήτων που απορρίπτεται από αυτές. Έχει εκτιμηθεί ότι οι τρέχουσες απορρίψεις από την παγκόσμια αλιεία υπερβαίνουν τους 20 εκατομμύρια τόνους, που αντιστοιχούν στο 25% της συνολικής παραγωγής της (FAOSTAT, 2001).

Ωστόσο, έρευνες αναφέρουν αρκετά μεγαλύτερα ποσοστά απορρίψεων, που αγγίζουν το 85% του συνολικού όγκου αλιευμάτων (Shahidi and Janak Kamil, 2001; Kim and Mendis, 2006) ενώ, συγκεκριμένα σε ψάρια όπως η τσιπούρα, ο τόνος και ο βακαλάος τα συνολικά υποπροϊόντα αποτελούν το 40-65% της παραγωγής (Guerard, Guimas and Binet, 2002; Grigorakis, 2007; Torres et al., 2007; Rustad, Storrø and Slizyte, 2011). Οι απορρίψεις αποτελούνται κυρίως από μυϊκά αποκόμματα (15–20%), δέρμα και πτερύγια (1-3%), κεφαλές (9-12%), οστά (9-15%), σπλάχνα (12-18%) και λέπια (5%) (Martínez-Alvarez, Chamorro and Brenes, 2015).

Η αξιοποίηση των υποπροϊόντων ιχθυοκαλλιέργειας υπάγεται στους στόχους ανάπτυξης καινούριων προϊόντων και υπηρεσιών, στο πλαίσιο της καινοτόμας επιχειρηματικότητας που βασίζεται στους θαλάσσιους βιοπόρους της Μεσογείου, ως πρόκληση της θαλάσσιας άνθισης. (European Commission and Bluemed, 2015).

Ως επί των πλείστων, τα υποπροϊόντα που απορρίπτονται προορίζονται για την παραγωγή ιχθυάλευρων, βιοκαυσίμων, λιπασμάτων, και ζωοτροφών (Choudhury and Gogoi, 1995; Choudhury and Bublitz, 1996) οι οποίες μπορούν να χαρακτηριστούν ως χρήσεις χαμηλής αγοραστικής αξίας. Χαρακτηριστική μεταχείριση των υποπροϊόντων με σκοπό την συντήρηση τους και την μετέπειτα χρήση τους είναι η ενσίρωση.

Το ενσίρωμα παράγεται από ψιλοκομμένα υποπροϊόντα ψαριών, ακόμα και από ολόκληρα ψάρια τα οποία δεν ενδείκνυνται για ανθρώπινη κατανάλωση με την προσθήκη ενός συντηρητικού που συνήθως πρόκειται για ένα οργανικό οξύ όπως το φορμικό. Ένζυμα, τα οποία προέρχονται από τους ιστούς των ψαριών κυρίως από τα εντόσθια, διασπούν τις πρωτεΐνες μέσω της αυτόλυσης προς πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα, όταν το pH βρίσκεται στην ενεργή ζώνη τους αποδομώντας τους ιστούς και δημιουργώντας ένα υγρό διάλυμα. Σε κάποιες περιπτώσεις μπορούν να προστεθούν βιομηχανικής φύσεως ενζυμα με σκοπό την επιτάχυνση της διαδικασίας ρήξης των ιστών, (Jónsson, Ásbjörnsson and Arason, 2014). Με την διαδικασία της ενσίρωσης επιτυγχάνεται η συντήρηση των νωπών υποπροϊόντων, καθώς το παραγόμενο ενσίρωμα μπορεί να αποθηκευτεί για μεγάλο χρονικό διάστημα και να χρησιμοποιηθεί ως συστατικό σιτηρεσίου είτε για άλλες χρήσεις.

Οργανικά υποστρώματα και λιπάσματα που ως πρώτη ύλη έχουν το ενσίρωμα από ψάρι χρησιμοποιούνται ευρέως σε καλλιέργειες ενώ αναφέρεται ότι παράγονται όμοιες εσοδείες με τις αντίστοιχες στις οποίες εφαρμόζεται συμβατική λίπανση (Wyatt, 1990). Παράλληλα πολλές έρευνες αναδεικνύουν τα πλεονεκτήματα της χρήσης ενσιρώματος ως λίπασμα (Levin et al, 1988; Blatt, 1991; Ockerman and Hanson, 2000). Όταν το ενσίρωμα εφαρμόζεται στο έδαφος, ειδικοί μικροοργανισμοί του εδάφους συνθέτουν συγκεκριμένα ωφέλημα παράγωγα για τα φυτά, αυξάνοντας την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων και προστατεύοντάς τα από ασθένειες (Hayat et al., 2010).

Παρ' όλα αυτά υπάρχει μια σημαντική προοπτική αξιοποίησης των υποπροϊόντων προς την ανάπτυξη τελικών προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας (Kim, 2006). Μερικές από τις καινοτόμες εφαρμογές των ενώ λόγω υποπροϊόντων περιγράφονται στην συνέχεια.

1.7.1 Εφαρμογές δέρματος

Η χρήση δέρματος ψαριού στην βιομηχανία μπορεί να αποτελεί μέρος της επίλυσης του προβλήματος έλλειψης της πρώτης ύλης, παράλληλα μειώνοντας τα υπολείμματα των ιχθυοκαλλιεργειών. Οι δομικές, φυσικές και χημικές ιδιότητες του δέρματος οξύρρυγχου, κυπρίνου και μουγγριού φαίνεται να παρέχουν στο υλικό την φυσική αντοχή που απαιτείται για την χρήση του στην βιομηχανία δέρματος, συγκεκριμένα το δέρμα του οξύρρυγχου θεωρείται κατάλληλο για την κατασκευή παπουτσιών και αξεσουάρ χάρη στα φυσικά μοτίβα του και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για προστιθέμενη αξία στα προϊόντα (Zengin G and Afşar A, 2011).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα από εταιρίες που ασχολούνται με την αξιοποίηση του δέρματος ψαριού προς τον σχεδιασμό ρουχισμού είναι η Atlantic Leathers. Η εν λόγω βιομηχανία είναι αφοσιωμένη στη παραγωγή δέρματος ψαριού προς διάφορες χρήσεις, όμως εστιάζει την παραγωγή της στην βιομηχανία ρουχισμού, ενώ σχεδιάζει σχετικά αξεσουάρ και κοσμήματα.

Η εταιρία επεξεργάζεται το δέρμα από τέσσερα είδη ψαριών: σολομού, πέρκας, λυκόψαρου και βακαλάου ενώ ισχυρίζεται ότι το καθένα από αυτά διαθέτει ξεχωριστά χαρακτηριστικά. Την πρώτη ύλη την προμηθεύεται από αποκλειστικά από εργοστάσια επεξεργασίας αλιευμάτων ως παραπροϊόν.



Εικόνα 1.3 Εμπορικό δέρμα ψαριού (<http://www.atlanticleather.is>)

Η KERECIS είναι μια επιχείρηση με βάση την Ισλανδία η οποία εφαρμόζει καινοτόμες προσεγγίσεις στην παραγωγή προϊόντων με βάση το δέρμα ψαριού. Έχει βραβευτεί με Industry Award for Entrepreneurship από τον Πρόεδρο της Ισλανδίας (2017) για τα προϊόντα της τα οποία είναι wound patches και tissue regeneration solutions από δέρμα βακαλάου, πλούσια σε ω-3 λιπαρά οξέα, τα οποία υποβοηθούν στην θεραπεία δερματικών πληγών, την μεταμόσχευση δέρματος και την ενίσχυση των χειρουργικών ραμμάτων σε επεμβάσεις. Καθώς είναι συμβατά με τον ανθρώπινο οργανισμό, βιοδιασπώμενα και πλούσια σε κολλαγόνο (Yamada S et al., 2014; Tang and Saito, 2015) επιταχύνουν το κλείσιμο των πληγών και αντιμετωπίζουν τις τοπικές επιμολύνσεις. (Zhou et al., 2016; Magnússon et al., 2017). Παράλληλα, δεν έχουν εντοπιστεί αλλεργικές αντιδράσεις, γεγονός που ίσως οφείλεται στην απουσία της κύριας πρωτεΐνης από εκείνες που είναι υπεύθυνες για τις αλλεργίες στο ψάρι έπειτα από την επεξεργασία και την αποστείρωση της πρώτης ύλης (Halim, Khoo and Yussof, 2010).

Παράλληλα, έχουν πραγματοποιηθεί ενέργειες αξιοποίησης του δέρματος ψαριών ως αποξηραμένα και καρυκευμένα σνακ. Η εταιρία seachips, με έδρα το Ηνωμένο Βασίλειο χρησιμοποιεί αποξηραμένο δέρμα Σολομού παράγοντας ένα προϊόν ελεύθερο γλουτένης, με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ω-3 λιπαρά οξέα καθώς και μικρή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και ελεύθερα σάκχαρα. Αντίστοιχες ενέργειες έχουν δοκιμαστεί στην Ισλανδία χωρίς όμως να έχει επιτευχθεί βιομηχανικής κλίμακας παραγωγή στην τοπική αγορά προς το παρόν (Kárason and Sveinþórsdóttir, 2014).

1.7.2 Εμπλουτισμένα μπισκότα

Η πλειοψηφία των μπισκότων του εμπορίου περιέχει υψηλά ποσοστά λίπους και υδατάνθρακα, ενώ είναι φτωχή σε διαιτητικές ίνες (Mishra and Chandra, 2012). Γενικώς μπορούν να χαρακτηριστούν ως τρόφιμα χαμηλής θερμιδικής πυκνότητας, εφόσον είναι πηγές υψηλού θερμιδικού φορτίου χωρίς να παρέχουν ικανοποιητικά επίπεδα από θρεπτικά στοιχεία. Με σκοπό την βελτίωση της σύστασης των μπισκότων, στα πλαίσια μελέτης του πανεπιστημίου Helwan στο Κάιρο αναπτύχθηκαν συνταγές μπισκότων εμπλουτισμένων με αλεσμένα κόκαλα από το είδος Nile tilapia, τα οποία φαίνεται να διαθέτουν υψηλό ανόργανο περιεχόμενο που περιλαμβάνει 34–36% Ασβέστιο (Abdel-Moemin, 2015), κυρίως στην μορφή φωσφορικών αλάτων (Hamada *et al.*, 1995). Η συλλογή της πρώτης ύλης έγινε από τοπικά εστιατόρια και αποτελούταν από το κόκκαλο της ράχης μαζί με το κεφάλι. Η κατανάλωση 100g από τα εμπλουτισμένα μπισκότα σε επίπεδο 24% αντικατάστασης του αλεύρου σίτου με το αλεύρο από κόκαλα, μπορεί να παρέχει 63%, 80%, και 54% του μέσου ημερησίου επιπέδου διαιτητικής πρόσληψης που ικανοποιεί το 97-98% των υγιών ατόμων κάθε πληθυσμιακής ομάδας (Recommended Dietary Allowance, RDA) σε γυναίκες άνω των 50 σε ασβέστιο, φώσφορο και σίδηρο, αντίστοιχα καθώς και το 238% της ημερήσιας πρόσληψης των ω-3 λιπαρών οξέων που προτείνει η American Heart Association για τους πάσχοντες από καρδιαγγειακά νοσήματα.

1.7.3 Κολλαγόνο

Το κολλαγόνο αποτελεί κύριο συστατικό πολλών σκευασμάτων καλλωπισμού καθώς διαθέτει σημαντική ενυδατική και υγροσκοπική δράση. Αποτελεί μια από τις κυριότερες πρωτεϊνικής φύσεως ουσίες των συνδετικών ιστών των οργανισμών όπως το δέρμα και οι τένοντες, καθώς, πρόκειται για το πλέον επικρατέστερο δομικό στοιχείο του εξωκυτταρικού πλέγματος (ECM) (Shoulders and Raines, 2009). Η απομόνωση τύπου I κολλαγόνου υψηλής καθαρότητας έχει επιτευχθεί από δερματικούς ιστούς σολομού και βακαλάου με σκοπό την χρήση του ως συστατικό σε καλλυντικά σκευάσματα. Το κολλαγόνο από ψάρι επέδειξε επαρκή ικανότητα κατακράτησης νερού και κατ'επέκταση κατέστησε δυνατή την χρήση του σε δερματική εφαρμογή ως ενυδατικό. Παράλληλα, δεν επέδειξε ερεθιστική δράση σε ανθρώπινη επιδερμίδα. Η απομόνωση κολλαγόνου από δερματικούς ιστούς ψαριών πιθανόν να αποτελεί μια βιώσιμη και οικονομική βάση για την βιοτεχνολογική αξιοποίηση των υποπροϊόντων ψαριού στον τομέα των δερματο-κοσμητικών εφαρμογών.

1.7.4 Ζελατίνη

Η ζελατίνη από ψάρι αποτελεί μια εναλλακτική της συμβατικής ζελατίνης, που ως πρώτη ύλη μπορεί να χαρακτηριστεί Χαλάλ (Herpandi, Huda and Adzitey, 2011), επιτρέποντας την κατανάλωση της και κατ'επέκταση, τα τρόφιμα τα οποία περιέχεται, από ειδικές θρησκευτικές ομάδες. Κατά το έτος 2003, η παγκόσμια αγορά ζελατίνης έφτασε τους 278.300 τόνους προερχόμενη κατά 42.4% από δέρμα

χοίρου, 29.3% από δέρμα βοοειδών, 27.6% από διάφορα κόκαλα σφαγείων και 0,7% από άλλες πηγές (GEA, 2010). Υπό αυτές τις προδιαγραφές καθώς, ως γνωστών, για παράδειγμα οι ινδουιστές δεν καταναλώνουν βοδινό ενώ το Ισλάμ θεωρεί τα προϊόντα που περιέχουν οποιοδήποτε συστατικό χοιρινής προέλευσης μη-Χαλάλ, η παρούσα ζελατίνη του εμπορίου θεωρείται ακατάλληλη. Αντιθέτως, έχει καθιερωθεί ότι τα ψάρια και τα προϊόντα από ψάρι γενικώς μπορούν να θεωρηθούν Χαλάλ με την προϋπόθεση ότι δεν περιέχουν τοξίνες και δηλητηριώδεις ουσίες (Huda, Abdullah and Babji, 1999). Με σκοπό την επίλυση του προβλήματος έχουν εξετασθεί διάφορες εναλλακτικές πηγές ζελατίνης μέσω μελετών στην απομόνωση κολλαγόνου από υποπροϊόντα ψαριού : δέρμα, κόκαλα και πτερύγια (Nagai and Suzuki, 2000), από αχινό (Robinson, 1997) μέδουσα (Nagai *et al.*, 2000) and και πόδια πουλερικών (Lin and Liu, 2006).

Το δέρμα αποτελεί την πιο διαδεδομένη πηγή πρώτης ύλης για την παραγωγή ζελατίνης από ψάρι. Αντιθέτως, τα κόκαλα, τα οποία θεωρούνται επίσης πηγή κολλαγόνου, δεν έχουν εξετασθεί εκτενώς. (Karayannakidis and Zotos, 2013). Έως σήμερα η απομόνωση ζελατίνης από ιστούς ψαριών έχει εφαρμοστεί, μεταξύ άλλων, σε Μπακαλιάρο Αλάσκας (*Theragra chalcogramma*) (Zhou and Regenstein, 2004, 2005), Κιτρινόπτερο Τόνο (*Thunnus albacares*) (Cho *et al.*, 2004), Μπακαλιάρο του Ατλαντικού (*Gadus morhua*) (Arnesen and Gildberg, 2006). Κοκκινόψαρα (*Lutjanus sp.*) (Jongjareonrak *et al.*, 2005), σολομό (Arnesen and Gildberg, 2007) καθώς και από δέρμα Γατόψαρου του γένους *I.punctatus* (Liu *et al.*, 2008), χόνδρους καρχαρία (Cho *et al.*, 2004), δέρμα φώκιας (*Phoca groenlandica*) (Arnesen and Gildberg, 2002), δέρμα Κυπρίνου (*Ctenopharyngodon idella*) (Kasankala *et al.*, 2007), δέρμα και κόκαλα από Πέρκα του Νείλου (*Lates niloticus*) (Muyonga, Cole and Duodu, 2004).

1.7.5 Πρωτεΐνη (Fish Protein Isolate)

Τα υποπροϊόντα από ψάρι, ύστερα από επεξεργασία, για την αφαίρεση των οστών, περιέχουν σημαντικές ποσότητες μυϊκών πρωτεϊνών. Αυτές οι μυϊκές πρωτεΐνες είναι εύπεπτες και μπορούν να χαρακτηριστούν πολύτιμες διατροφικά (Venugopal, Chawla and Nair, 1996). Συνεπώς, αντί να αποβάλλονται, οι πρωτεΐνες ψαριών που προέρχονται από παραπροϊόντα επεξεργασίας μπορούν να υδρολυθούν ενζυματικά για την ανάκτηση πρωτεϊνικής βιομάζας. Κατά καιρούς έχουν αναλυθεί τα προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών από τα εκάστοτε παραπροϊόντα θαλάσσιων ειδών για τις διατροφικές και λειτουργικές τους ιδιότητες, ενώ οι έρευνες έχουν εξετάσει κυρίως τη δυνατότητα παραλαβής από αυτά βιολογικά δραστικών ενεργών πεπτιδίων (Benkajul and Morrissey, 1997).

Επιπλέον, η απομόνωση μυϊκών πρωτεϊνών από υποπροϊόντα είναι εφικτή μέσω ισοηλεκτρικής διαλυτοποίησης/καταβύθισης (ISP). Η μέθοδος επιτρέπει την παραλαβή υψηλών ποσοτήτων πρωτεΐνης από δυσμεταχειρίστες πηγές όπως υποπροϊόντα σφαγίων, πουλερικών ψαριών κ.α. (Chen, Tou and Jaczynski, 2007, 2009; Taskaya *et al.*, 2009). Οι πρωτεΐνες που παραλαμβάνονται διατηρούν τις λειτουργικές ιδιότητες και την θρεπτική αξία τους (Chen, Tou and Jaczynski, 2007, 2009; Gigliotti, 2007; Tahergorabi *et al.*, 2012). Επιπροσθέτως, λόγω των ακραίων μεταβολών στο pH που υποβάλλεται το υλικό κατά την διάρκεια της ISP, προκαλείται ήπια, μη θερμική παστερίωση (Lansdowne *et al.*, 2009; L. Lansdowne *et al.*, 2009), ενώ παρατηρείται σημαντική μείωση στα επίπεδα διοξίνης (Marmon, Liljelind and Undeland, 2009).

Στόχος και αντικείμενο της μελέτης

Στην παρούσα μελέτη εξετάζεται η δυνατότητα χρήσης επεξεργασμένων υποπροϊόντων από τσιπούρα υδατοκαλλιέργειας, σε μορφή πούδρας, κατά την ενσωμάτωση τους σε τρόφιμα μήτρες, αποτελώντας μια πιθανή λύση στην μείωση των απορρίψεων που προκύπτουν από τις υδατοκαλλιέργειες, προτείνοντας παράλληλα καινοτόμα, εμπλουτισμένα προϊόντα.

Αρχικά, πραγματοποιείται η εκτίμηση της μικροβιολογικής κατάστασης των κονιορτοποιημένων υποπροϊόντων ώστε να διερευνηθούν ερωτήματα που αφορούν αφενός τις διαφορές μεταξύ πουδρών που προέρχονται από βρασμένα και νωπά δείγματα και τη δυνατότητα κατανάλωσής τους εντός γευσιγνωστικών δοκιμών και αφετέρου την αρχική κατάσταση της πρώτης ύλης και την αξιολόγηση της μεταβολής στο μικροβιολογικό φορτίο που επιφέρουν οι διάφοροι χειρισμοί.

Στην συνέχεια, διερευνάται η γνώμη των καταναλωτών σχετικά με την χρήση των υποπροϊόντων που προκύπτουν κατά την επεξεργασία των αλιευμάτων σε τρόφιμα, ερμηνεύοντας το προφίλ των πιθανών καταναλωτών των προϊόντων που αναπτύσσονται στο πλαίσιο της παρούσης μελέτης.

Τέλος, πραγματοποιείται η ανάπτυξη προϊόντων μέσω ανάμιξης αφυδατωμένης πούδρας υποπροϊόντων τσιπούρας με μια σειρά από τρόφιμα μήτρες, όπως η μαγιονέζα και η σάλτσα ντομάτας.

Προκειμένου να εκτιμηθούν όλες οι παράμετροι, η εργασία πραγματοποιείται μέσω τριών αξόνων:

- Αξιολόγηση μικροβιολογικών κριτηρίων ασφάλειας και ποιότητας των πουδρών από υποπροϊόντα τσιπούρας
- Έρευνα προς τους καταναλωτές για την χρήση υποπροϊόντων ψαριών στα τρόφιμα. Αξιολόγηση προτεινόμενων προϊόντων από το ευρύ καταναλωτικό κοινό
- Πιλοτικές δοκιμές ανάπτυξης προϊόντων με την χρήση πουδρών από υποπροϊόντα τσιπούρας

2. Αξιολόγηση Μικροβιολογικών Κριτηρίων Ασφάλειας και Ποιότητας των Πουδρών από Υποπροϊόντα

Στην παρούσα ενότητα διερευνώνται οι μικροβιολογικοί δείκτες ασφάλειας και ποιότητας των πούδρων από υποπροϊόντα που παρασκευάζονται σύμφωνα με την μέθοδο που αναλύεται στην προηγούμενη ενότητα. Εφαρμόζονται πρότυπες μέθοδοι για την ανίχνευση η/και καταμέτρηση των αποικιών της Ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, συνολικών εντεροβακτηρίων, των στελεχών *Escherichia coli*, των στελεχών *Salmonella sp.* και *Listeria monocytogenes*, ώστε να διερευνηθούν ερωτήματα που αφορούν :

- τις διαφορές μεταξύ πούδρων που προέρχονται από βρασμένα και νωπά δείγματα.
- την δυνατότητα κατανάλωσης τους εντός γευσιγνωστικών δοκιμών
- την αρχική κατάσταση της πρώτης ύλης
- την αξιολόγηση της μεταβολής στο μικροβιολογικό φορτίο που επιφέρουν οι διάφοροι χειρισμοί.

Οι μετρήσεις λαμβάνουν χώρα σε δύο διαφορετικές παρτίδες τσιπούρας υδατοκαλλιέργειας, σε τέσσερις διαφορετικούς τύπους δείγματος από την κάθε μια. Ο κάθε τύπος αντιπροσωπεύει και ένα σημείο ελέγχου της διαδικασίας, με σκοπό την εξαγωγή συγκρίσιμων αποτελεσμάτων. Τα δείγματα που ελέγχονται είναι τα εξής:

1. Νωπά και μη-λυοφιλιωμένα
2. Βρασμένα και μη-λυοφιλιωμένα
3. Νωπά και λυοφιλιωμένα
4. Βρασμένα και λυοφιλιωμένα

2.1 Προετοιμασία δειγμάτων υποπροϊόντων

Με σκοπό να καλυφτούν οι ανάγκες της μελέτης, αγοράζονται από ιχθυοπωλείο λιανικής πώλησης τσιπούρες (*Sparus aurata*) συνολικού βάρους 24 κιλών. Η αγορά γίνεται σε δύο διαφορετικές παρτίδες. Τα ψάρια προέρχονται από την επιχείρηση υδατοκαλλιεργειών Blue Farm S.A.

2.1.1. Φιλετοποίηση

Αρχικά πραγματοποιείται ο καθαρισμός από βράγχια και εντόσθια, στο σημείο λιανικής πώλησης, από όπου και προμηθεύονται. Τα καθαρισμένα ψάρια μεταφέρονται στο εργαστήριο μέσα σε φορητό ψυγείο θερμοκρασίας που δεν ξεπερνάει τους 4°C. Το αρχικό στάδιο της φιλετοποίησης αποτελεί ο αποκεφαλισμός και η αποκοπή των πτερυγίων όλων των ψαριών. Οι συλλεγμένες κεφαλές και τα πτερύγια αποθηκεύονται, ξεχωριστά, σε θερμοκρασία 4°C έως το επόμενο στάδιο της δειγματοληψίας. Η σάρκα μαζί με το μη-απολεπισμένο δέρμα αποκολλιέται από το ραχιαίο και τα πλευρικά οστά. Στην συνέχεια αφαιρείται και συλλέγεται το μη-απολεπισμένο δέρμα από το φιλέτο. Τέλος πραγματοποιείται σχολαστικός καθαρισμός των συλλεγμένων οστών και των δερμάτων από την σάρκα που έχει απομείνει προσκολλημένη σε εκείνα.

2.1.2 Βρασμός και Τεμαχισμός

Οι συλλεγμένοι ιστοί του κάθε τύπου υποπροϊόντος τοποθετούνται ξεχωριστά σε μαγειρικό σκεύος που περιέχει νερό σε αναλογία 1ml ανά g περιεχομένου που βράζει για 10 λεπτά και αναδεύονται συνεχώς. Έπειτα από το πέρας της δεδομένης διάρκειας βρασμού το περιεχόμενο στραγγίζεται και τεμαχίζεται επαρκώς. Με τον τρόπο αυτό λαμβάνεται ένα αντιπροσωπευτικό σύνθετο δείγμα μετά την ανάμιξη μεμονωμένων.

2.1.3 Λυοφιλίωση και ομογενοποίηση

Τα δείγματα οδηγούνται στο σύστημα λυοφιλίωσης, όπου και παραμένουν για 48 ώρες, με σκοπό την απομάκρυνση της υγρασίας από αυτά. Μέσω της δεδομένης πρακτικής μειώνεται η ενεργότητα ύδατος του τρόφιμου (a_w) αυξάνοντας δραστικά την διάρκεια ζωής του. Απαραίτητη προϋπόθεση για να επιτύχει η λυοφιλίωση είναι όλο το νερό του τρόφιμου να βρίσκεται σε μορφή πάγου. Επειδή το σύστημα που χρησιμοποιείται δεν διαθέτει την δυνατότητα να φέρει το περιεχόμενο του στην απαιτούμενη μορφή οπότε προηγείται κατάψυξη των δειγμάτων.

Τέλος, τα δείγματα έρχονται σε μορφή πούδρας με την χρήση μπλέντερ οικιακού τύπου, τοποθετούνται σε συλλέκτες με βιδωτό πώμα, σφραγίζονται με Parafilm και φυλάσσονται σε συνθήκες κατάψυξης θερμοκρασίας -8°C .

2.2 Ανίχνευση *Salmonella sp.*

2.2.1 Παθογόνος δράση του *Salmonella sp.*

Το γένος *Salmonella* περιλαμβάνει Gram αρνητικά, προαιρετικά αναερόβια βακτήρια, που δεν σχηματίζουν σπόρια τις οικογένειες των βακίλων *Enterobacteriaceae*. Τα είδη που αποτελούν το γένος *Salmonella* είναι δύο, η *S. enterica* και η *S. bongori*.

Το είδος το οποίο προκαλεί νόσο στον άνθρωπο είναι το *Salmonella enterica* και περιλαμβάνει 6 υποείδη (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*). Το υποείδος *enterica* υποδιαιρείται σε περισσότερους από 2500 γνωστούς ορότυπους (Kaufmann, 1966) με βάση τα δύο αντιγόνα επιφανείας, το πολυσακχαριδικό αντιγόνο του κυτταρικού τοιχώματος (O) ,το πρωτεϊνικής φύσεως βλεφαριδικό αντιγόνο (H) και το πολυσακχαριδικό αντιγόνο της κάψουλας(Vi). Το τελευταίο απαντάται μόνο στους ορότυπους *Typhi*, *Paratyphi* και *Dublin*. Ως ορότυπος ορίζεται ο φαινοτυπικός χαρακτηρισμός των στελεχών, που βασίζεται στην αντιγονικότητα επιφανειακών δομών του μικροβιακού κυττάρου.

Τα διάφορα στελέχη της *Salmonella* προκαλούν σαλμονέλωση στον άνθρωπο, μια τροφιμογενή νόσο με ποικίλα συμπτώματα, από διάρροια έως και σηψαιμία, ενώ, οι ορότυποι *S. typhi* και *S. paratyphi* προκαλούν τον τυφοειδή πυρετό. Οι άνθρωποι που προσβάλλονται από σαλμονέλα ενδεχομένως να εμφανίσουν στην πορεία και άλλες επιπλοκές όπως περικαρδίτιδα και μηνιγγίτιδα. Η μόλυνση από μη τυφοειδή σαλμονέλα έχει πολύ μεγαλύτερο επιπολασμό, καθώς ο τυφοειδής πυρετός έχει εξαλειφθεί σε μεγάλο βαθμό στις αναπτυγμένες χώρες. Η μη τυφοειδής σαλμονέλα προκαλεί συνήθως γαστρεντερίτιδα, στους υγιείς ενήλικες, οι οποίοι σπανίως υποφέρουν από άλλα

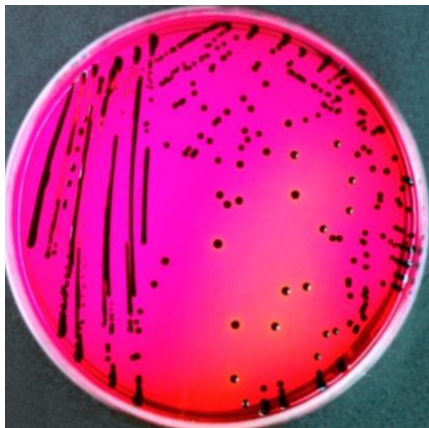
συμπτώματα. Όμως, οι ευαίσθητες ομάδες, όπως ανοσοκατασταλμένοι, τα παιδιά, τα νεογνά και οι ηλικιωμένοι μπορούν να εμφανίσουν σοβαρότερα συμπτώματα, με εμφανή ποσοστά θνησιμότητας.

Η επιμόλυνση των τροφίμων από *Salmonella* υπήρξε εδώ και πολύ καιρό, και παραμένει να είναι ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας, αποτελώντας βασική αιτία ανησυχίας για την βιομηχανία τροφίμων, σε παγκόσμια κλίμακα. Τα στελέχη της *Salmonella* *sp.* αποτελούν μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου των ζώων και των ανθρώπων. Συνήθως, μεταδίδονται στα τρόφιμα μέσω επιμόλυνσης από τους εργαζόμενους της εκάστοτε μονάδα επεξεργασίας, εμπορίας είτε αποθήκευσης τροφίμων. Είναι επίσης πιθανόν, τα ζώα που εκμεταλλεύεται η εκάστοτε επιχείρηση να είναι φορείς, μεταδίδοντας το βακτήριο στο τελικό νωπό προϊόν όπως είναι τα αυγά, το κρέας και τα γαλακτοκομικά. Όμως και τρόφιμα φυτικής προέλευσης επιμολύνονται με προϊόντα ζωικής προέλευσης, ανθρώπινες ακαθαρσίες ή μολυσμένα σκεύη, τόσο σε βιομηχανίες τροφίμων, όσο και σε οικιακές κουζίνες, αποτελούν πηγή μόλυνσης του ανθρώπου σε ορισμένες περιπτώσεις. Τέλος, η *Salmonella* μπορεί να μεταδοθεί στα τρόφιμα μέσω μολυσμένου νερού, με το πλύσιμο (Οικονομου, Halatsi and Kyriacou, 2008).

Ο έλεγχος της παρουσίας στελεχών *Salmonella* στα τρόφιμα είναι υποχρεωτικός σε προϊόντα που προορίζονται να καταναλωθούν ωμά, εξαιρουμένων των προϊόντων για τα οποία η διαδικασία παρασκευής ή η σύνθεση του προϊόντος θα εξαλείψει τον κίνδυνο και καθορίζεται από την αντίστοιχη ευρωπαϊκή νομοθεσία περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα. Ο κανονισμός 2073/2005 της Επιτροπής θέτει ως κριτήριο ασφάλειας την απουσία του παθογόνου σε 25g προϊόντος, στο στάδιο που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους.

2.2.2 Αρχή της μεθόδου

Με σκοπό την ανίχνευση της παρουσίας *Salmonella* *sp.* ακολουθείται το πρότυπο ISO 5579-1:2002. Το συγκεκριμένο πρότυπο αποτελεί μια οριζόντια μέθοδο ανίχνευσης, καταμέτρησης και οροτυποποίησης όλων των στελεχών των *Salmonellae*, συμπεριλαμβανομένων και των *S.typhi* και *S.paratyphi*. Η μέθοδος περιλαμβάνει τέσσερα διαδοχικά στάδια και χρησιμοποιεί ένα μη εκλεκτικό υπόστρωμα και δύο εκλεκτικά, σε κατάλληλες θερμοκρασίες και χρόνους επώασης για την ανάπτυξη και απομόνωση των στελεχών της *Salmonella* *sp.*, τα οποία κατά το πέρας της μεθόδου αναπτύσσουν ευδιάκριτες αμαυρωμένες αποικίες.



Εικόνα 2.1. Αποικίες *Salmonella* σε XLD Agar (Department of Veterinary Disease Biology 2011 Faculty of Health and Medical Sciences - University of Copenhagen)

2.2.3 Πειραματική διαδικασία

1. Ενυδάτωση θρεπτικών υλικών.

Ζυγίζονται στον αναλυτικό ζυγό σε δοχεία τύπου Duran των 500 ml ποσότητες σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή του εκάστοτε θρεπτικού υλικού και συμπληρώνεται ο όγκος με απιονισμένο νερό. Η ποσότητα του κάθε αφυδατωμένου θρεπτικού μέσου που πρέπει να ζυγιστεί προς την δημιουργία ενός λίτρου αναγράφεται στην ετικέτα του. Παρασκευάζονται συνολικά 1500ml Buffer Peptone Water, 500ml Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) και 500 ml Raparport Vasiliadis Broth.

2. Αποστείρωση θρεπτικών υλικών και επίστρωση τριβλίων XLD.

Οι φιάλες που περιέχουν το θρεπτικό μέσο Buffer Peptone Water οδηγούνται ως έχουν στο σύστημα αποστείρωσης ενώ το θρεπτικό μέσο Raparport Vasiliadis μεταφέρεται πρώτα σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Απαιτείται ένας σωλήνας για κάθε δείγμα που πρόκειται να μελετηθεί, σε κάθε έναν προστίθενται 10 ml του θρεπτικού υλικού με χρήση ηλεκτρικής πιπέτας. Αντιθέτως, το εκλεκτικό θρεπτικό μέσο Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) εξυγιαίνεται παραμένοντας για 60 λεπτά σε θερμαινόμενο μαγνητικό αναδευτήρα καθώς οι υψηλές θερμοκρασίες θα κατέστρεφαν τις φυσικοχημικές ιδιότητες του μέσου.

Στην συνέχεια το θρεπτικό υλικό χρησιμοποιείται για την επίστρωση των τριβλίων. Έπειτα από την στερεοποίηση του μέσου, τα τριβλία αποθηκεύονται σε συνθήκες δωματίου για να χρησιμοποιηθούν σε επόμενο βήμα.

3. Δειγματοληψία και πρώτος εμπλουτισμός σε BPW

Για κάθε δείγμα υποπροϊόντος χρησιμοποιείται μια αποστειρωμένη σακούλα τύπου Stomacher με φίλτρο. Μέσα στην σακούλα προστίθεται ποσότητα 90 g από το εμπλουτιστικό μέσο Buffer Peptone Water και ποσότητα 10 g από το δείγμα. Τοποθετούνται στην συσκευή Stomacher ώστε να ομογενοποιηθούν. Ακολουθεί επώαση στους 37C για 24h.

4. Δεύτερος εμπλουτισμός σε RV.

Μεταφέρονται 100μL με πιπέτα από την σακούλα Stomacher του κάθε δείγματος σε διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν 10ml από το εμπλουτιστικό μέσο Raparport-Vasiliadis (RV). Ο κάθε δοκιμαστικός σωλήνας μετά από τον εμβολιασμό σφραγίζεται κοντά στην φλόγα της λυχνίας Bunsen, αναδεύεται στο vortex, τοποθετείται σε σταντ και μεταφέρεται σε κλίβανο των 42 C° για άλλες 24 ώρες.

Τα συστατικά της συγκεκριμένης σύνθεσης έχουν την ικανότητα να εκμεταλλεύονται τα χαρακτηριστικά που διαθέτουν τα στελέχη της *Salmonella sp* σε σύγκριση με τα υπόλοιπα Εντεροβακτήρια, τα οποία είναι : Η ικανότητα επιβίωσης σε σχετικά υψηλή οσμωτική πίεση, ο πολλαπλασιασμός σε χαμηλές τιμές pH, οι σχετικά χαμηλές απαιτήσεις θρέψης και η σχετικά αυξημένη ανθεκτικότητα στο πράσινο του μαλαχίτη.

5. Εξάπλωση στα τριβλία XLD.

Από κάθε δοκιμαστικό σωλήνα RV λαμβάνεται μια σταγόνα με χρήση αποστειρωμένου μικροβιολογικού κρίκου μιας χρήσεως η οποία αραιώνεται μέσω της τεχνικής της γραμμωτής ράβδωσης (streaking) σε όλη την επιφάνεια του τριβλίου XLD. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλα τα δείγματα, απορρίπτοντας τον κρίκο μετά από κάθε επανάληψη και λαμβάνει χώρα δίπλα από λυχνία Bunsen. Στην συνέχεια αφήνονται 24 ώρες σε κλίβανο των 37°C να επωάσουν.

Το θρεπτικό υλικό Xylose Lysine Deoxycholate Agar αποτελεί ένα διαφορικό και εκλεκτικό μέσο. Το δεοξυχολικό νάτριο, το οποίο περιέχει, δρα ως παράγοντας εκλεκτικότητας, αναστέλλοντας την ανάπτυξη των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.

Στην σύνθεση περιέχεται ξυλόζη, καθώς ζυμώνεται πρακτικά από όλα τα εντεροβακτήρια πέραν του γένους *Shigella*. Η συγκεκριμένη ιδιότητα επιτρέπει την διαφοροποίηση από το *Shigella*. Το αμινοξύ Λυσίνη, επιτρέπει την διαφοροποίηση της *Salmonella* sp. Χωρίς την λυσίνη, τα *Salmonellae* διασπούν την ξυλόζη με ταχύ ρυθμό και πρακτικά, είναι δυσδιάκριτα, και συγχέονται με τα μη-παθογόνα στελέχη που περιέχονται στο δείγμα. Άπαξ και τα στελέχη της *salmonella* εξαντλήσουν την ποσότητα της ξυλόζης, διασπούν την λυσίνη μέσω του ενζύμου αποκαρβοξυλάση της λυσίνης, ανεβάζοντας το pH σε αλκαλικές τιμές.

6. Ανίχνευση αποικιών *Salmonella* sp.

Μετά το πέρας των 24 ωρών τα τριβλία εξετάζονται οπτικώς. Η ανάπτυξη αμαυρωμένων αποικιών υποδηλώνει με βεβαιότητα την παρουσία του παθογόνου.

Η ικανότητα διαφοροποίησης της σύνθεσης του XLD οφείλεται σε ένα σύστημα δεικτών Υδρόθειου, το οποίο αποτελείται από θειοθειικό νάτριο και κιτρικό σίδηρο(III)αμμώνιο. Η παραγωγή του υδρόθειου αποτυπώνεται μέσω του σχηματισμού αποικιών με εμφανές μαύρο κέντρο. Τα μη-παθογόνα στελέχη που παράγουν υδρόθειο, δεν αποκαρβοξυλιώνουν την λυσίνη. Με αυτό τον τρόπο, η όξινη αντίδραση τους αποτρέπει την αμαύρωση των αποικιών, η οποία λαμβάνει χώρα σε μόνο σε βασικό ή ουδέτερο pH.

2.3 *Escherichia coli*, εντεροβακτήρια και Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα, Δείκτες Υγιεινής των Τροφίμων

Οι μικροβιακοί δείκτες χρησιμοποιούνται είτε ως δείκτες της γενικότερης μικροβιολογικής κατάστασης και υγιεινής των πρώτων υλών, των ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων και των χώρων παραγωγής, είτε ως δείκτες δυνητικών κινδύνων.

Στην κατηγορία των μικροβιακών δεικτών της γενικότερης μικροβιολογικής κατάστασης των τροφίμων ανήκει η Ολική αερόβια Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX). Η καταμέτρηση της OMX, χρησιμοποιείται ως ένδειξη του πλήθους των μικροοργανισμών στα τρόφιμα όσο αφορά:

- στο αρχικό μικροβιακό φορτίο των πρώτων υλών
- στην αποτελεσματικότητα της παραγωγικής διαδικασίας
- στην ορθότητα των συνθηκών αποθήκευσης και διανομής
- στην αποτελεσματικότητα των διαδικασιών μείωσης μικροβιακών φορτίων (π.χ. παστερίωση, καθαρισμός κ.λ.π.)

- στην υγιεινή του μηχανολογικού εξοπλισμού

Η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα έχει μεγαλύτερη αξία ως δείκτης της υπάρχουσας μικροβιακής κατάστασης ενός τρόφιμου, παρά ως μέθοδος πρόβλεψης του χρόνου συντήρησής του, διότι είναι δύσκολο να προσδιοριστεί.

Τα εντεροβακτήρια αποτελούν μια οικογένεια, gram-αρνητικών μη σπορογόνων βακτηρίων, που περιλαμβάνει είδη που διαβιώνουν εντός του εντερικού σωλήνα των ζώων και του ανθρώπου αλλά και σε φυτά και στο περιβάλλον. Η παρουσία τους στα τρόφιμα μπορεί να οφείλεται σε επιμολύνσεις κατά την παραγωγή τους ή έπειτα από αυτήν ενώ σε ορισμένα τρόφιμα, αποτελεί μέρος της φυσικής τους μικροχλωρίδας. Μερικά από αυτά τα είδη διαθέτουν τροφιμογενή παθογόνο δράση, όπως η *Salmonella*, *Shingella*, *Cronobacter* και *E.coli*. Το τελευταίο, αποτελεί ένα είδος με έντονη γονιδιακή ποικιλομορφία. Ορισμένα στελέχη του είναι υπεύθυνα για χαρακτηριστικές κλινικές παθήσεις και σύνδρομα (Nataro and Kaper, 1998; Baylis *et al.*, 2006).

Πέραν της παθογόνου δράσης, το σύνολο των εντεροβακτηρίων είναι υπεύθυνο για διάφορες αλλοιώσεις και ποιοτικές υποβαθμίσεις στα τρόφιμα, μεταξύ άλλων, δυσσομία λόγω παραγωγής υδρόθειου σε κρέατα (Jay, 2000), διάφορες χρωματικές αλλοιώσεις και πικρή γεύση που προκαλείται από την ενζυμική διάσπαση της καζεΐνης και σε γαλακτοκομικά προϊόντα (ICMSF, 1998).

Φρέσκα ψάρια τα οποία συντηρούνται σε πάγο είναι ιδιαίτερα ευπαθή σε βακτηριακή αλλοίωση, αν και ο ρόλος των εντεροβακτηρίων είναι λιγότερο σημαντικός σε σχέση με άλλα γένη. Οι δύο πλέον ευδιάκριτες μορφές υποβάθμισης της ποιότητας στα ψάρια αφορούν την παραγωγή υδρόθειου και την αναγωγή του Ν-οξειδίου της τριμεθυλαμίνης σε τριμεθυλαμίνη, η οποία έχει μια έντονη δυσάρεστη οσμή, ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις και φαίνεται να σχετίζεται με καρδιαγγειακές παθήσεις στον άνθρωπο (Koeth *et al.*, 2013). Τα περισσότερα είδη του γένους των εντεροβακτηρίων μπορούν να προκαλέσουν την συγκεκριμένη αντίδραση (Barrett and Kwan, 1985).

Όμως, μεγαλύτερη ανησυχία από την υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, προκαλεί η ιδιότητα ορισμένων κολοβακτηρίων να αποκαρβοξυλώνουν την ιστιδίνη, οδηγώντας σε παραγωγή ισταμίνης, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε δηλητηρίαση κατά την κατανάλωση (Baylis *et al.*, 2006). Ο έλεγχος των επιπέδων ισταμίνης στα αλιεύματα ελέγχεται υποχρεωτικά με βάση την σχετική ευρωπαϊκή νομοθεσία.

2.3.1 Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός του φορτίου των στελεχών της *Escherichia coli* της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας και των εντεροβακτηριδίων πραγματοποιείται ακολουθώντας τα πρότυπα ISO 16649-2: 2001, ISO 4832:2006 και ISO 4832:2006 αντίστοιχα. Τα δύο πρώτα αποτελούν οριζόντιες μεθόδους καταμέτρησης της θετικής στην β-γλυκουρονιδάση *E.coli* και το σύνολο των μικροοργανισμών το οποίο δύναται να αναπτυχθεί και να σχηματίσει αποικίες σε στερεό μέσο έπειτα από αερόβια επώαση στους 30 C. Το τρίτο πρότυπο δίνει γενικές οδηγίες για την καταμέτρηση των εντεροβακτηρίων σε εργαστηριακό περιβάλλον. Η καταμέτρηση των αποικιών πραγματοποιείται ύστερα από την εφαρμογή συγκεκριμένων διαδοχικών αραιώσεων.

Οι υπό μελέτη μικροοργανισμοί απομονώνονται ανεξάρτητα, εφαρμόζοντας κατάλληλες τεχνικές προσδιορισμού, σε διαφορετικά τριβλία που φέρουν εκλεκτικά θρεπτικά μέσα, για την κάθε ομάδα αντίστοιχα, υπό συγκεκριμένες συνθήκες επώασης.



Εικόνες 2.2, 2.3, 2.4 (από αριστερά προς δεξιά) Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα σε PCA, Ολικά Εντεροβακτήρια σε VRBA και E.coli σε TBX (<https://www.sglab.com/product/violet-red-bile-agar-vrba-90mm-plate/> , ReadyPlate™ CHROM TBX (Tryptone Bile X-Glucuronide) Agar acc. ISO 16649

1. Ζυγίζεται ασηπτικά ποσότητα 10g από κάθε δείγμα υποπροϊόντος και τοποθετείται σε σακούλα τύπου Stomacher. Ακολουθεί η προσθήκη 90g διαλύματος Ringer προθερμασμένο σε θερμοκρασία 37° C και οδηγείται στην συσκευή Stomacher όπου ομογενοποιούνται για 3 λεπτά.
2. Ακολουθούν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις του αρχικού εναιωρήματος σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν διάλυμα Ringer έως την 10-6. Ως πρώτη αραιώση θεωρείται το εναιώρημα της σακούλας Stomacher. Παράλληλα τα στερεά θρεπτικά μέσα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο των 100°C έως την τήξη τους.
3. Από κάθε εξεταζόμενη αραιώση, δηλαδή οι αραιώσεις -1,-2,-4,-6, ενοφθαλμίζεται ασηπτικά 1ml σε τριπλή σειρά τριβλίων Petri, χρήση πιπέτας με αποστειρωμένα σιφώνια, τα οποία αλλάζονται έπειτα από κάθε μεταφορά υλικού. Τα κενά τριβλία πληρώνονται με περίπου 20 ml των PCA, VRBA και TBX Η διαδικασία επαναλαμβάνεται εις τριπλούν για κάθε αραιώση, για κάθε τύπο υποπροϊόντος αντίστοιχα. Σε κάθε τριπλέτα, προστίθεται ποσότητα ενός από των τριών εκλεκτικών θρεπτικών μέσων. Με αυτό τον τρόπο παράγονται, για κάθε δείγμα, τρεις διαφορετικές σειρές τριβλίων αυξανόμενων αραιώσεων, -1,-2,-4,-6 .

Για την απομόνωση της *Escherichia coli* χρησιμοποιείται Tryptone Bile Glucuronic Agar. Το συγκεκριμένο θρεπτικό μέσο περιέχει β-D-γλυκουρονιδάση η οποία διαφοροποιεί τα περισσότερα στελέχη του *Escherichia coli* από τα υπόλοιπα εντεροβακτήρια. Τα στελέχη της *E.coli* απορροφούν το χρωμογόνο υπόστρωμα 5-βρώμο-4-χλώρο-3-ινδόλυλο-β-D-γλυκουρονίδιο. Το ένζυμο β-γλυκουρονιδάση, που είναι παρόν στο 97% των στελεχών της *E.coli*, διασπά τους δεσμούς μεταξύ του χρωμογόνου 5-βρώμο-4-χλώρο-3-ινδολίου και του άχρωμου β-γλυκουρονιζίτη. Με αυτόν τον τρόπο, οι αποικίες του *E.coli* εμφανίζονται με

κυανοπράσινη χρώση, στο πέρας του πειράματος. Επιπλέον, η ανάπτυξη της υπόλοιπης gram θετικής χλωρίδας παρεμποδίζεται δραστικώς χάρι στην παρουσία χολικών αλάτων και στην υψηλή θερμοκρασία επώασης των 42 C.

Στα τριβλία που προορίζονται για την καταμέτρηση των αποικιών των εντεροβακτηρίων χρησιμοποιείται Violet Red Bile Agar (VRBA Agar). Η εκλεκτικότητα του μέσου βασίζεται στην ιδιότητα των εντεροβακτηρίων να ζυμώνουν την λακτόζη, δημιουργώντας όξινο περιβάλλον όταν βρεθούν σε θερμοκρασία των 37 C. Στην σύσταση περιλαμβάνονται χολικά άλατα και χρωστική Crystal Violet που δρουν ως παράγοντες καταστολής των περισσότερων Gram-αρνητικών βακτηρίων ενώ περιέχεται και ο δείκτης Neutral Red. Οι αποικίες των μικροοργανισμών που ζυμώνουν την λακτόζη έχουν ανοικτό έως βαθύ κόκκινο χρώμα και γενικώς περιβάλλονται από χολικό ίζημα. Οι μικροοργανισμοί δεν ζυμώνουν την λακτόζη αναπτύσσουν άχρωμες αποικίες.

Η Ολική μεσόφιλη χλωρίδα προσδιορίζεται χρησιμοποιώντας θρεπτικό υλικό Plate Count Agar. Το συγκεκριμένο υλικό δεν είναι ένα εκλεκτικό μέσο καθώς αποτελεί υπόστρωμα που προωθεί την ανάπτυξη ποικίλων μικροοργανισμών. Η καταστολή εκείνων που δεν ανήκουν στην συγκεκριμένη ομάδα επιτυγχάνεται με την επώαση στους 30° C.

4. Αναμιγνύεται το υπόστρωμα και το βακτηριακό εναιώρημα, ώστε να προκύψει ομοιόμορφη διασπορά των μικροοργανισμών μέσα στη μάζα του υποστρώματος. Η ανάμιξη γίνεται με το τριβλίο σε συνεχή επαφή με την επιφάνεια εργασίας με ήπιες εναλλάξ δεξιόστροφες και αριστερόστροφες κυκλικές κινήσεις.
5. Τα τριβλία αφήνονται για μερικά λεπτά στον πάγκο εργασίας ώστε να ψυχθούν και να στερεοποιηθούν με την πήξη. Στα τριβλία που περιέχουν VRBA, ενσωματώνεται μια ακόμα στρώση των περίπου 20 ml από το ίδιο υλικό. Μετά το πέρας της πήξης τα τριβλία τοποθετούνται ανεστραμμένα σε ξεχωριστούς κλιβάνους, βάσει του περιεχόμενου υλικού. Συγκεκριμένα, τα PCA στους 30 C°, τα VRBA στους 37 C° και τα TBX στους 42C°. Τα τριβλία αφήνονται να επωάσουν επί 72, 48 και 24 h αντίστοιχα.
6. Τέλος, πραγματοποιείται η καταμέτρηση των αποικιών στα τριβλία και γίνεται ορθή εκτίμηση του φορτίου της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας, των εντεροβακτηρίων και της *Escherichia coli* στα δείγματα, μετατρέποντας τον αριθμό που καταμετρείται σε cfu/ml πολλαπλασιάζοντας τον με την αραιώση από όπου προήλθε, λαμβάνοντας υπόψιν ότι ως πρώτη αραιώση θεωρείται η σακούλα Stomacher.

2.4 Ανίχνευση *Listeria monocytogenes*

2.4.1 Παθογόνος δράση της *L.monocytogenes*

Η *Listeria monocytogenes* είναι ένα Gram θετικό βακτήριο, μη σπορογόνο, ραβδοειδούς σχήματος το οποίο εμφανίζεται μεμονωμένα ή σχηματίζει μορφές κοντών αλυσίδων. Αποτελεί το ένα από τα δύο είδη με παθογόνο δράση του γένους *Listeria*, στο οποίο ανήκουν 20 διαφορετικά είδη. Η

βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης της είναι 30°-37°C, αλλά μπορεί να αναπτύσσεται σε αργότερους ρυθμούς και σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες μέχρι και 4° C, σε εύρος pH 4.4-9.4 και σε aw>0.92. Παρουσιάζει ανθεκτικότητα στην αλατότητα και σε ακραίες τιμές pH και θερμοκρασίας. Είναι ευρέως διανεμημένη στο περιβάλλον, σε λύματα, στο νερό, σε ζωοτροφές όπως και σε τρόφιμα. Η παρουσία του συγκεκριμένου βακτηρίου είναι ιδιαίτερα επικίνδυνη στον περιβάλλοντα χώρο των μονάδων επεξεργασίας τροφίμων, καθώς μπορεί να διαχειμάσει σε επιφάνειες και πατώματα, στις οροφές, τους νιπτήρες και τον εξοπλισμό της εκάστοτε μονάδας, με κίνδυνο επιμόλυνσης των παραγόμενων τροφίμων, εάν δεν εφαρμόζεται κατάλληλη προφύλαξη.

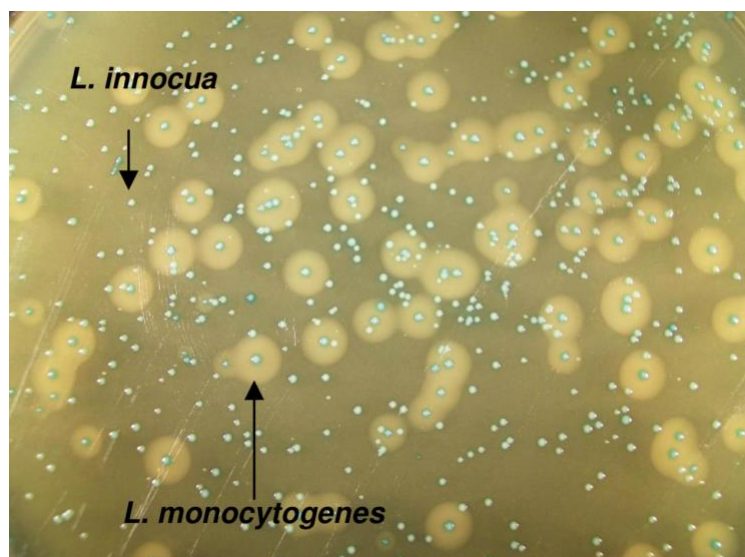
Οι μολύνσεις από τη *L.monocytogenes* ενδέχεται να προκαλέσουν την τροφιμογενή νόσο που καλείται λιστερίωση. Γενικώς, είναι σπάνιες αλλά χαρακτηρίζονται από υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, τα οποία κυμαίνονται πάνω από 20% (Cabanes et al., 2002). Οι κατεχοχήν ευαίσθητες ομάδες στην έκθεση της νόσου είναι οι εγκυμονούσες γυναίκες, οι ηλικιωμένοι τα άτομα με ανοσοποιητικό σύστημα καθώς και άτομα μικρής και μεγάλης ηλικίας. Επιπλέον, οι καρκινοπαθείς, οι ασθενείς που πάσχουν από το Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσολογικής Ανεπάρκειας (AIDS) αλλά και τα νεογνών (Gelin and Broome, 1989; Gellin et al., 1991; Jensen A. and et al, 1994; Goulet and Marchetti, 1996; Slutsker and Schuchat, 1999) Χαρακτηριστικά, η πιθανότητα προσβολής από το παθογόνο είναι μεγαλύτερες σε άτομα άνω των 55 ετών (Adams and Moss, 2000). Στους ενήλικες η ασθένεια εκδηλώνεται συνήθως με σηψαιμία, παρουσιάζοντας συμπτώματα πυρετού, κόπωσης και έντονους πόνους στην κοιλιακή χώρα (Ryser and Donnelly, 2001). Επιπλέον, η ασθένεια είναι δυνατόν να εκδηλωθεί με πνευμονία, ή ενδοκαρδίτιδα ενώ σε πιο σπάνιες περιπτώσεις με μηνιγγίτιδα.

Οι εγκυμονούσες που πάσχουν από λιστερίωση ενδέχεται να οδηγηθούν σε αποβολή, νεκρογένεση ή σε πρόωρο τοκετό. Η ασθένεια εμφανίζεται συνήθως το τελευταίο τρίμηνο της κυοφορίας και κάποιες φορές είναι δυνατόν να εκδηλωθεί ως μια κοινή γρίπη (Lorber, 1997) ή με πυρετό, πονοκέφαλο και γαστρεντερικά προβλήματα. Χαρακτηριστικό είναι ότι μόνο στο 5% των περιπτώσεων το νεογνό δεν επηρεάζεται καθόλου από το παθογόνο (Mena et al, 2003).

Ο Ευρωπαϊκός κανονισμός 2073/2005 καθορίζει ως κριτήριο την μέγιστη συγκέντρωση των 100 cfu/g του παθογόνου σε τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση, ικανά και μή να υποστηρίξουν την ανάπτυξη *L.monocytogenes*, διαφορετικά από εκείνα που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς κατά το στάδιο που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια διατήρησής τους.

2.4.2 Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός της παρουσίας της *Listeria sp.* και ο διαχωρισμός της *Listeria monocytogenes* πραγματοποιείται ακολουθώντας την οριζόντια μέθοδο που συντάσσεται στο πρότυπο ISO 11290-1:1996/AMD 1:2004. Στην μέθοδο χρησιμοποιούνται κατάλληλα εμπλουτιστικά μέσα για τα στελέχη της *Listeria sp.* και ειδικό εκλεκτικό υπόστρωμα. Η ανίχνευση της *L.monocytogenes* πραγματοποιείται οπτικώς στο πέρας της μεθόδου, εμφανίζοντας χαρακτηριστικές κυανοπράσινες αποικίες.



Εικόνα 2.5 *L. monocytogenes* και *L.innocua* σε ALOA Agar. (Biolife Italiana Srl Technical Sheet N °401605 B E –0 04/2010 page 1/ 3

2.4.3 Πειραματική διαδικασία

1. Ενυδάτωση θρεπτικών μέσων.

Ζυγίζονται στον αναλυτικό ζυγό σε δοχεία τύπου Duran των 500 ml ποσότητες σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή του εκάστοτε θρεπτικού υλικού και συμπληρώνεται ο όγκος με απιονισμένο νερό. Η ποσότητα του κάθε αφυδατωμένου θρεπτικού μέσου που πρέπει να ζυγιστεί προς την δημιουργία ενός λίτρου αναγράφεται στην ετικέτα του. Παρασκευάζονται συνολικά 1500ml Half Fraser, 250ml full fraser και 250 ml ALOA Agar.

2. Αποστείρωση των θρεπτικών υλικών και επίστρωση τριβλίων ALOA

Οι φιάλες που περιέχουν τα θρεπτικά μέσα Full Fraser και ALOA οδηγούνται ως έχουν στο σύστημα αποστείρωσης. Επειδή το κιτρικό άλας του σιδήρου III είναι θερμοευαίσθητο, προστίθεται έπειτα από το πέρας της αποστείρωσης, στις φιάλες που περιέχουν Half και Full Fraser, και εφόσον αυτές έχουν επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου. Το ALOA επιστρώνεται σε κοινά τριβλία, αφήνεται να στερεοποιηθεί και φυλάσσεται για επόμενο βήμα της μεθόδου.

3. Δειγματοληψία και πρώτος εμπλουτισμός με Half Fraser

Ζυγίζεται σε αναλυτικό ζυγό ποσότητα των 10 g από κάθε δείγμα και τοποθετείται σε μια για το καθένα, αποστειρωμένη σακούλα Stomacher. Στις σακούλες προστίθεται ποσότητα 90g από το εμπλουτιστικό μέσο Half Fraser. Στην συνέχεια οδηγούνται στην συσκευή Stomacher, όπου πραγματοποιούνται οι μαλάξεις ομογενοποίησης και ακολουθεί επώαση για 24 ώρες σε κλίβανο ρυθμισμένο στους 30°C.

Τα θρεπτικά μέσα που χρησιμοποιούνται, δηλαδή το Half Fraser και το Full Fraser το οποίο αναφέρεται στην συνέχεια, περιέχουν χλωριούχο νάτριο σε υψηλές συγκεντρώσεις ώστε να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη εντερόκοκκων, διατηρώντας παράλληλα την ωσμωτική πίεση του μέσου. Περιέχεται ακριφλαβίνη και ναλιδιξικό οξύ ως εκλεκτικοί παράγοντες και χλωριούχο λίθιο ως κατασταλτικό της ανάπτυξης της υπόλουπης χλωρίδας.

Στην σύνθεση περιέχεται επίσης εσουλίνη και Κιτρικό άλας σιδήρου (III) αμμωνίου. Τα στελέχη της *Listeria* υδρολύουν την εσουλίνη παράγοντας εσκουλετίνη, η οποία αντιδρά με το άλας σιδήρου οδηγώντας σε αμαύρωση του δείγματος. Η ιδιότητα αυτή δίνει μια πρώτη πιθανή ένδειξη της παρουσίας της *Listeria* σε οποιοδήποτε δείγμα.

4. Δεύτερος εμπλουτισμός με Full Fraser

Το υλικό Full Fraser μεταφέρεται σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Με χρήση ηλεκτρικής πιπέτας, εντός του *Lamina* και πάντοτε ακολουθώντας ασηπτικές τεχνικές, μεταφέρονται 10 ml του υλικού σε κάθε σωλήνα.

Σε ασηπτικό περιβάλλον και με χρήση λύχνου Bunsen, μεταφέρονται 100μL από κάθε σακούλα Stomacher σε ξεχωριστούς δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν το θρεπτικό διάλυμα Full Fraser. Έπειτα, οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίζεται τοποθετείται σε σταντ και μεταφέρεται σε κλίβανο των 37 C° για άλλες 24 ώρες.

5. Μεταφορά σε τριβλία ALOA

Από κάθε δοκιμαστικό σωλήνα Full Fraser λαμβάνεται μια σταγόνα με χρήση αποστειρωμένου μικροβιολογικού κρίκου μιας χρήσεως η οποία αραιώνεται μέσω της τεχνικής της γραμμωτής ράβδωσης (*streaking*) σε όλη την επιφάνεια του τριβλίου ALOA. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλα τα δείγματα, απορρίπτοντας τον κρίκο μετά από κάθε επανάληψη και λαμβάνει χώρα δίπλα από λυχνία Bunsen. Τα τριβλία αναστρέφονται και τοποθετούνται σε κλίβανο των 37 C° για 24 ώρες. Μετά το πέρας της επώασης ανιχνεύονται και καταμετρώνται τα στελέχη της *L.monocytogenes*.

Το συγκεκριμένο υλικό αποτελεί ένα χρωμογόνο υπόστρωμα μέσα στο οποίο τα βακτήρια του γένους *Listeria*, έπειτα από επώαση, εμφανίζονται ως κυανοπράσινες αποικίες, λόγω της παραγωγής β-D-γλυκοσιδάσης, ένζυμο που διασπά την 5-βρώμο-4-χρώμο-3-ινδολυλο-β-D-γλυκοκυρανοζη, ουσία που περιέχεται στην σύνθεση του μέσου (Angelidis et al. 2014). Το ένζυμο φωσολιπάση-C διαφοροποιεί την *L.monocytogenes* από τα υπόλοιπα είδη του γένους, καθώς οι αποικίες της εμφανίζουν μια θολή στεφάνη περιμετρικά.

2.5 Αποτελέσματα

Στην παρούσα παράγραφο παρουσιάζονται οι μετρήσεις των μικροβιολογικών δεικτών ασφάλειας και ποιότητας των δύο παρτίδων που εξετάστηκαν. Η εκτίμηση του φορτίου της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας, των εντεροβακτηρίων και της *Escherichia coli* στα δείγματα πραγματοποιείται μετατρέποντας τον αριθμό που καταμετρείται σε cfu/ml πολλαπλασιάζοντας τον με την αραιώση από όπου προήλθε, λαμβάνοντας υπόψιν ότι ως πρώτη αραιώση θεωρείται η σακούλα Stomacher. Όσον αφορά την *Salmonella sp.* και την *Listeria monocytogenes*, όπως προαναφέρεται, δεν καταμετρούνται οι αποικίες τους αλλά ανιχνεύεται η παρουσία τους.

2.5.1 Αποτελέσματα πρώτης παρτίδας.

Πίνακας 2.1. Μικροβιολογικοί δείκτες στα νωπά και μη λυοφιλιωμένα δείγματα της πρώτης παρτίδας.

Δείγματα	ΝΩΠΑ	ΚΑΙ	ΜΗ-ΛΥΟΦΙΛΙΟΜΕΝΑ	
Δείκτες (cfu/ml)	Κεφαλές	Πτερύγια	Οστά	Δέρμα
ΟΜΧ	65000	190000	1530000	30700
Ολικά Εντεροβακτήρια	100	3800	23000	100
<i>E.coli</i>	100	100	100	100
<i>Salmonella sp.</i>	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ
<i>L.monocytogenes</i>	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ

Πίνακας 2.2. Μικροβιολογικοί δείκτες στα βρασμένα και μη λυοφιλιωμένα δείγματα της πρώτης παρτίδας.

Δείγματα	ΒΡΑΣΜΕΝΑ	ΚΑΙ	ΜΗ-ΛΥΟΦΙΛΙΟΜΕΝΑ	
Δείκτες (cfu/ml)	Κεφαλές	Πτερύγια	Οστά	Δέρμα
ΟΜΧ	30	10	10	30
Ολικά Εντεροβακτήρια	10	10	60	10
<i>E.coli</i>	10	10	10	10
<i>Salmonella sp.</i>	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ
<i>L.monocytogenes</i>	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ

Πίνακας 2.3. Μικροβιολογικοί δείκτες στα νωπά και λυοφιλιωμένα δείγματα της πρώτης παρτίδας.

Δείγματα	ΝΩΠΑ	ΚΑΙ	ΛΥΟΦΙΛΙΟΜΕΝΑ	
Δείκτες (cfu/ml)	Κεφαλές	Πτερύγια	Οστά	Δέρμα
ΟΜΧ	680000	17000	47000	46000
Ολικά Εντεροβακτήρια	4040	530	3000	1770
<i>E.coli</i>	100	100	100	100
<i>Salmonella sp.</i>	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ
<i>L.monocytogenes</i>	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ

Πίνακας 2.4. Μικροβιολογικοί δείκτες στα βρασμένα και λυοφιλιωμένα δείγματα της πρώτης παρτίδας.

Δείγματα	ΒΡΑΣΜΕΝΑ	ΚΑΙ	ΛΥΟΦΙΛΙΩΜΕΝΑ	
Δείκτες (cfu/ml)	Κεφαλές	Πτερύγια	Οστά	Δέρμα
ΟΜΧ	165000	740	218000	162000
Ολικά Εντεροβακτήρια	2810	160	3050	26000
E.coli	100	100	100	100
Salmonella sp.	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ
L.monocytogenes	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ

2.5.2 Αποτελέσματα δεύτερης παρτίδας

Πίνακας 2.5. Μικροβιολογικοί δείκτες στα νωπά και μη-λυοφιλιωμένα δείγματα της δεύτερης παρτίδας.

Δείγματα	ΝΩΠΑ	ΚΑΙ	ΜΗ-ΛΥΟΦΙΛΙΩΜΕΝΑ	
Δείκτες (cfu/ml)	Κεφαλές	Πτερύγια	Οστά	Δέρμα
ΟΜΧ	83000	178000	17000	7900
Ολικά Εντεροβακτήρια	700	<100	<100	1700
E.coli	<100	<100	<100	<100
Salmonella sp.	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ
L.monocytogenes	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ

Πίνακας 2.6. Μικροβιολογικοί δείκτες στα βρασμένα και μη-λυοφιλιωμένα δείγματα της δεύτερης παρτίδας.

Δείγματα	ΒΡΑΣΜΕΝΑ	ΚΑΙ	ΜΗ-ΛΥΟΦΙΛΙΩΜΕΝΑ	
Δείκτες (cfu/ml)	Κεφαλές	Πτερύγια	Οστά	Δέρμα
ΟΜΧ	600	700	500	200
Ολικά Εντεροβακτήρια	<100	<100	<100	<100
E.coli	<100	<100	<100	<100
Salmonella sp.	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ
L.monocytogenes	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ

Πίνακας 2.7. Μικροβιολογικοί δείκτες στα βρασμένα και λυοφιλιωμένα δείγματα της δεύτερης παρτίδας.

Δείγματα	ΒΡΑΣΜΕΝΑ	ΚΑΙ	ΛΥΟΦΙΛΙΩΜΕΝΑ	
Δείκτες (cfu/ml)	Κεφαλές	Πτερύγια	Οστά	Δέρμα
ΟΜΧ	200	100	1500	200
Ολικά Εντεροβακτήρια	<100	<100	<100	<100
E.coli	<100	<100	<100	<100
Salmonella sp.	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ
L.monocytogenes	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ	ΑΠΟΥΣΙΑ

2.6 Συζήτηση

Όπως φαίνεται στα γραφήματα, εντοπίζεται εμφανής διαφορά μικροβιολογικών δεικτών μεταξύ των δύο παρτίδων. Κατά την λήψη των αποτελεσμάτων της πρώτης παρτίδας ανιχνευθήκαν ιδιαίτερα

αυξημένοι δείκτες και παρουσία σαλμονέλας σε τρία από τα υπό μελέτη δείγματα. Ο βρασμός αποτελεί μια κοινή πρακτική εξυγίανσης των αλιευμάτων (FAO, 2011), ωστόσο η μείωση του βακτηριακού πληθυσμού που επέφερε ο βρασμός δεν φαίνεται να διατηρείται μέχρι το πέρας του συνόλου των μεταχειρίσεων που λαμβάνουν χώρα (αποθήκευση, λυοφιλίωση, ομογενοποίηση, μεταφορές υλικών) .Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί σε επιμολύνσεις που προέκυψαν κατά τα διάφορα στάδια επεξεργασίας που λαμβάνουν χώρα.

Με σκοπό την λήψη βελτιωμένων αποτελεσμάτων στα πλαίσια της δεύτερης παρτίδας εφαρμόζεται καταλληλότερη εξυγίανση των μέσων και των υλικών που χρησιμοποιούνται. Συγκεκριμένα, κατά την δειγματοληψία στο στάδιο του φιλεταρίσματος δίνεται μεγαλύτερη έμφαση στην υγιεινή, καθαρίζοντας σχολαστικά τα σκεύη έπειτα από κάθε χειρισμό, αποθηκεύοντας άμεσα τα πλέον βρασμένα υποπροϊόντα αποφεύγοντας την επαφή με άλλες επιφάνειες. Παράλληλα, εφαρμόζεται αποτελεσματικότερος καθαρισμός του συστήματος λυοφιλίωσης. Σε αντίθεση με την πρώτη παρτίδα, το σύστημα καθαρίζεται με χρήση δραστικότερων απολυμαντικών αντί του κοινού σαπουνιού.

Η έντονη διαφορά μεταξύ των δυο παρτίδων όσον αφορά την επιτυχία της διατήρησης της λογαριθμικής μείωσης του πληθυσμού εν μέσω του βρασμού διακρίνεται στα παρακάτω γραφήματα, όπου στο πρώτο, που αφορά την πρώτη παρτίδα, τα βρασμένα και λυοφιλωμένα δείγματα εμφανίζουν φορτίο της τάξης των 2-5 λογαρίθμων.



Γράφημα 2.1. Ολική μεσόφιλη χλωρίδα ανά τύπο υποπροϊόντος ανά μεταχείριση στην πρώτη παρτίδα.



Γράφημα 2.2. Ολική μεσόφιλη χλωρίδα ανά τύπο υποπροϊόντος ανά μεταχείριση στην δεύτερη παρτίδα

Οι διάφοροι μικροοργανισμοί απαντώνται σε όλες τις εξωτερικές επιφάνειες και στα εντόσθια των ζώντων και φρεσκο-αλιευμένων ψαριών. Ο συνολικός αριθμός εμφανίζει τεράστια διακύμανση ενώ το εύρος μπορεί να θεωρηθεί μεταξύ 10^2 έως και 10^7 cfu/cm² (Liston, 1980). Η χλωρίδα εξαρτάται κυρίως από το περιβάλλον αλίευσης και όχι από το είδος του ψαριού (Shewan, 1977). Η γενική άποψη είναι ότι η χλωρίδα των ιχθύων των υδάτων από εύκρατες περιοχές αποτελείται κυρίως από Gram-αρνητικά βακτήρια των οποίων η ανάπτυξη είναι ιδανική γύρω από τους 25°C.

Συγκεκριμένα αποτελείται κατά κόρον από είδη της υποκλάσης των πρωτεοβακτηρίων: *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Photobacterium*, (Huber *et al.*, 2004; Wilson, Danilowicz and Meijer, 2008). Η ολική μεσόφιλη χλωρίδα που μετρήθηκε δεν ξεπερνά την τάξη του 10^7 σε καμία από τις δύο υπό μελέτη παρτίδες, συνεπώς βρίσκεται εντός των ορίων.

Η ανάπτυξη των περισσότερων βακτηρίων, ζυμών και μυκήτων παρεμποδίζεται σε μειωμένη ενεργότητα νερού, τα οποία αδυνατούν να αναπτυχθούν σε τιμές aw 0.87 0.88 και 0.80 αντίστοιχα (Beuchat, Komitoulou, *et al*, 2013). Παρόλο που η ανάπτυξη των μικροβίων είναι κατεσταλμένη ή επιβραδυνόμενη σε αφυδατωμένα τρόφιμα τα ενδοσπόρια τους μπορούν να διαχειμάσουν για μήνες (Beuchat *et al*, 2011). Σε περιπτώσεις που μεγάλος αριθμός παθογόνων μικροοργανισμών βρίσκεται στην επιφάνεια του τροφίμου έπειτα από την ξήρανση, διακυβεύεται η υγεία των καταναλωτών. Επιπροσθέτως, όταν χρησιμοποιούνται αφυδατωμένα υλικά για την παραγωγή τελικών προϊόντων με υψηλή ενεργότητα νερού, είναι δυνατόν να προωθηθεί η ανάπτυξη των βακτηρίων που έχουν διαχειμάσει στις πρώτες ύλες. Συνεπώς, αυξάνεται ο ρυθμός αλλοίωσης του τροφίμου και η έκθεση σε κίνδυνο.

Οι κίνδυνοι που σχετίζονται με τρόφιμα χαμηλής ενεργότητας νερού έχουν μελετηθεί ευρέως για προϊόντα όπως βρεφικές τροφές με παρουσία *Salmonella sp.* και *Cronobacter sakazakii* (Iversen and Forsythe, 2003; Oonaka *et al*, 2010; Beuchat *et al*, 2013) και σοκολάτα με σαλμονέλα (da Silva do Nascimento *et al*, 2010) ενώ αποτελούν γνωστό πρόβλημα σε πολλά άλλα τρόφιμα και παθογόνα (Farakos and Frank, 2014).

Σε αντίθεση με τις πούδρες από νωπά ψάρια, οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται κατά την παραγωγή των προϊόντων που αναφέρονται στην προηγούμενη παράγραφο είναι παστεριωμένες. Το αυξημένο μικροβιακό φορτίο ενδεχομένως οφείλεται σε μεταγενέστερες επιμολύνσεις (Nascimento *et al.*, 2012; Beuchat *et al*, 2013). Η απενεργοποίηση και η ικανότητα επιβίωσης των μικροοργανισμών κατά την ξήρανση έχει ερευνηθεί στα πλαίσια της της διατήρησης μικροβιακών πληθυσμών (Lievense and van't Riet, 1994; Morgan *et al*, 2006), οι περισσότερες μελέτες αφορούν καλλιέργειες σε υγρά και ημιστερεά μέσα και φυσικά στοχεύουν στην επιβίωση και όχι την λογαριθμική μείωση των μικροοργανισμών.

Δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες σχετικά με την επιβίωση των μικροοργανισμών σε περίπλοκες μήτρες όπως στερεά τρόφιμα, κατά την διάρκεια ξήρανσης, ειδικά σε μέτριες θερμοκρασίες (Smelt and Brul, 2014), όμως, διάφορες έρευνες υποδεικνύουν μια ήπια έως δραστική λογαριθμική μείωση των μεσόφιλων βακτηρίων σε φυτικής προέλευσης τρόφιμα, μέσω διάφορων τεχνικών ξήρανσης, με τις πλέον εντονότερες μειώσεις, της τάξης των 5 λογαρίθμων, να εντοπίζονται σε τεχνικές ξήρανσης υψηλής θερμοκρασίας, >60°C. Αντιθέτως, στα πλαίσια μελέτης που αφορά την επίδραση της

κρυοζήρανσης δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική λογαριθμική μείωση (Duan, Zhang and Mujumdar, 2007).

Συνεπώς, στα πλαίσια της μελέτης επιλέχθηκε να απορριφθεί η περαιτέρω εξέταση της δυνατότητας εφαρμογής πούδρας που προέρχεται από νωπά υποπροϊόντα, καθώς η κατανάλωση της ως έτοιμο προς κατανάλωση τρόφιμο, χωρίς μεταγενέστερους χειρισμούς που αποδεδειγμένα θα προκαλούσαν παστερίωση, μπορεί να θεωρηθεί επισφαλής. Συμπερασματικά η λυοφιλίωση δεν προκαλεί λογαριθμική μείωση σε αποδεκτά επίπεδα οπότε πρέπει να έχει διασφαλιστεί ότι η πρώτη ύλη είναι ασφαλής εκ των προτέρων.

Τέλος, με βάση την ευρωπαϊκή νομοθεσία που αφορά τα μικροβιολογικά κριτήρια των τροφίμων, μπορεί να ειπωθεί ότι τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών δεικτών της δεύτερης παρτίδας πούδρας από βρασμένα υποπροϊόντα, είναι αποδεκτά. Η διαδικασία παραγωγής των πούδρων πραγματοποιείται σε οικιακό και εργαστηριακό περιβάλλον, συμπεριλαμβάνοντας τις απαραίτητες μεταφορές, και σε καμία περίπτωση δεν προσεγγίζει τις συνθήκες οι οποίες δυνητικά θα επικρατούσαν σε εργοστασιακό, βιομηχανικό περιβάλλον, όπου η αλυσίδα παραγωγής είναι συνεχής εφαρμόζοντας τις αρχές και τα προαπαιτούμενα του HACCP όπως αυτά ορίζονται από την σχετική νομοθεσία (Regulation (EC) 178/2002; Regulation (EC) 852/2004) και ακολουθούνται στα σχετικά πρότυπα ασφάλειας και ποιότητας (Arvanitoyannis, 2009).

Επομένως, οι ενέργειες που λήφθηκαν δεν επαρκούν για να διασφαλιστεί η ασφάλεια κατά την κατανάλωση των πούδρων καθώς ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε μεμονωμένες παρτίδες στο πλαίσιο του πειραματικού σχεδιασμού και η ροή παραγωγής δεν προσεγγίζει το εμπορικό μοντέλο.

Ωστόσο, μπορεί να ειπωθεί ως συμπέρασμα ότι η επανάληψη της διαδικασίας και των ασηπτικών τεχνικών που έλαβαν χώρα κατά την δειγματοληψία και την ανάπτυξη της δεύτερης παρτίδας, θα οδηγήσει σε πούδρες οι οποίες πιθανότατα διατηρούν την λογαριθμική μείωση που επιφέρει ο βρασμός με αποτέλεσμα απουσία *salmonella sp.* και *listeria monocytogenes* και χαμηλά επίπεδα μεσόφιλης χλωρίδας και εντεροβακτηρίων, ώστε να δοθεί η δυνατότητα οργανοληπτικού ελέγχου ή παραγωγής σε οικιακό επίπεδο..

3. Έρευνα προς τους Καταναλωτές για την Χρήση Υποπροϊόντων Ψαριών στα Τρόφιμα. Αξιολόγηση Προτεινόμενων Προϊόντων από το Ευρύ Καταναλωτικό Κοινό

Η πρωτοτυπία της παρούσης μελέτης είναι ότι διερευνά σε δείγμα Ελλήνων καταναλωτών την γνώμη σχετικά με την χρήση των υποπροϊόντων που προκύπτουν κατά την επεξεργασία των αλιευμάτων, σε τρόφιμα. Συγκριμένα στοχεύει στη κατανόηση του προφίλ των πιθανών καταναλωτών των προϊόντων που αναπτύσσονται στα πλαίσια της παρούσης μελέτης.

Για το στόχο αυτό συσχετίζεται η πρόθεση κατανάλωσης των προϊόντων με τα χαρακτηριστικά του δείγματος του πληθυσμού, όπως το εισόδημα, η ηλικία, η συχνότητα κατανάλωσης ψαριού και η συνείδηση προς την σπατάλη των τροφίμων.

3.1 Πειραματική διαδικασία

Η έρευνα πραγματοποιείται μέσω στατιστικής επεξεργασίας του συναφούς ερωτηματολογίου που αναπτύχθηκε στα πλαίσια τις εργασίας. Το ερωτηματολόγιο κατασκευάστηκε στην πλατφόρμα Google Forms και γνωστοποιήθηκε στο ευρύ καταναλωτικό κοινό από τα μέσα κοινωνικής δικτύωσης. Στην πρόσκληση να συμπληρώσουν το ερωτηματολόγιο ανταποκρίθηκαν 293 διαφορετικά άτομα και η πρόσβαση σε αυτό ήταν ανοιχτή και ανώνυμη.

Αυτός ο τρόπος κατασκευής, δημοσίευσης και διαμοιρασμού της φόρμας επιλέγεται με σκοπό να προσελκύσει ένα σύνολο ανθρώπων οι οποίοι διαθέτουν ένα θεμιτό σύνολο χαρακτηριστικών όπως, όσο το δυνατόν καλύτερη ενημέρωση των θεμάτων σπατάλης τροφίμων, με πιθανή ανησυχία περί ζητημάτων αποτυπώματος του άνθρακα, δεκτικοί σε καινοτόμες ιδέες στα πλαίσια της γαστρονομίας, καθώς η φόρμα γνωστοποιήθηκε μόνο σε ηλεκτρονική μορφή και η ανεύρεσή της προϋποθέτει ότι ο χρήστης διαθέτει λογαριασμό σε μέσα δικτύωσης και ενημέρωσης.

Το ερωτηματολόγιο αποτελείται από 20 ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής καθορισμένων απαντήσεων. Όπου ήταν δυνατόν χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα Likert για την διατύπωση των απαντήσεων. Τα αποτελέσματα των απαντημένων ερωτηματολογίων συλλέχθηκαν σε φύλλο εργασίας excel και κωδικοποιήθηκαν, μετατρέποντας τις λεκτικές απαντήσεις σε αριθμητικές, δίνοντας σε κάθε πιθανή απάντηση από έναν ακέραιο αριθμό, καθορίζοντας μια μεταβλητή για κάθε μια από τις 20 ερωτήσεις. Στην συνέχεια μεταφέρθηκαν στο περιβάλλον του στατιστικού πακέτου Statgraphics Centurion με σκοπό την διεξαγωγή της στατιστικής ανάλυσης, στα πλαίσια της οποίας διερευνάται η συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών και συλλέγονται τα δεδομένα της περιγραφικής στατιστικής.

Οι συσχετίσεις των μεταβλητών γίνονται ανά ζεύγη, χρησιμοποιώντας τον μη-παραμετρικό έλεγχο του χ^2 (Chi squared test), εξετάζοντας την ανεξαρτησία μεταξύ των απαντήσεων του στατιστικού δείγματος πληθυσμού σε δύο διαφορετικές ερωτήσεις του ερωτηματολογίου. Ο έλεγχος

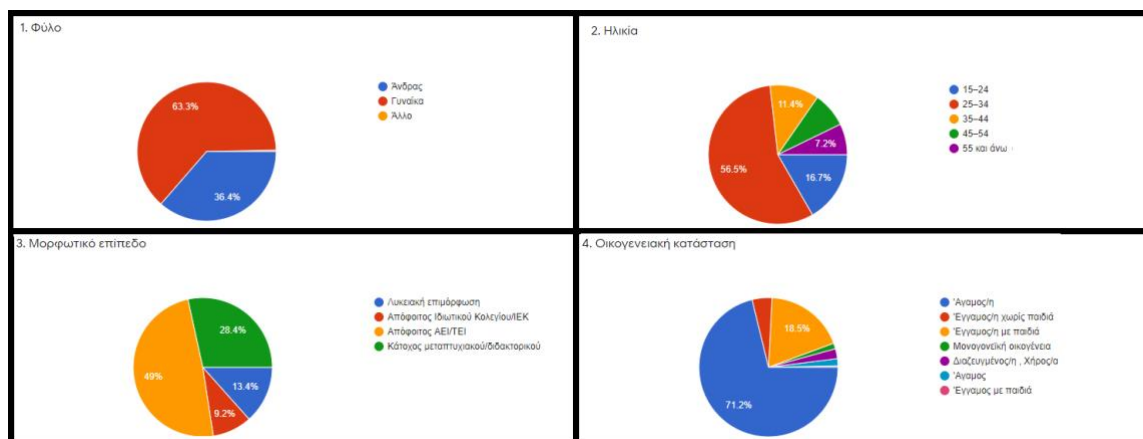
επαναλαμβάνεται πολλές φορές, για την εξέταση διαφορετικού ζεύγους μεταβλητών, με σκοπό την λήψη ορθών συμπερασμάτων στα στατιστικά ερωτήματα που διερευνώνται.

Ως μηδενική υπόθεση της δοκιμής θεωρείται πως οι μεταβλητές είναι μεταξύ τους ανεξάρτητες, ενώ απόρριψη της επιτρέπει τον ισχυρισμό ότι μεταξύ τους συσχετίζονται. Ο καθορισμός της παραπάνω απόφασης, για κάθε ζεύγος μεταβλητών που εξετάζεται, γίνεται με βάση την τιμή του P-value της δοκιμής που εκτιμάται με την βοήθεια του στατιστικού πακέτου. Όταν η εκτιμώμενη τιμή του P-value είναι μικρότερη του 0.05, είναι εύλογο να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%,

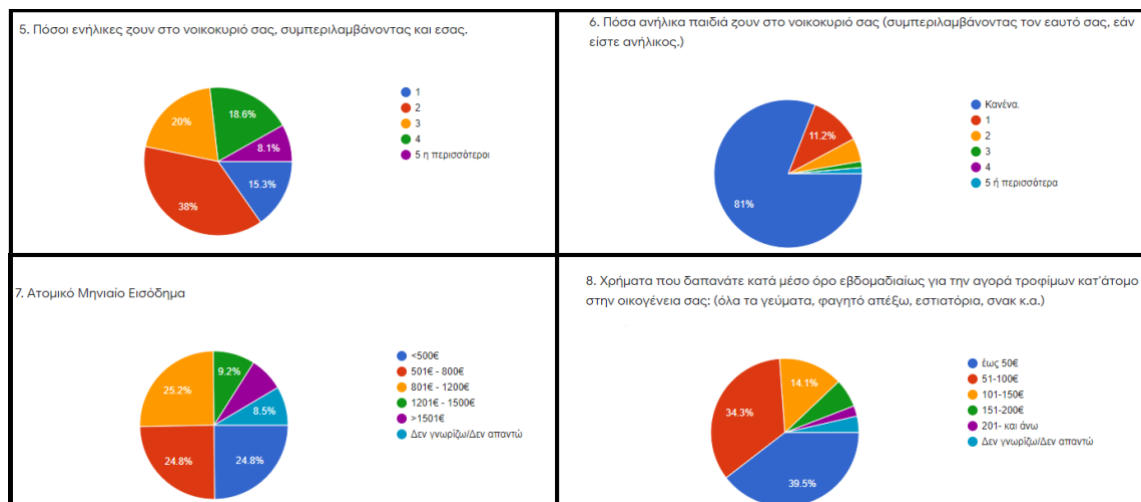
Έπειτα, πραγματοποιούνται μη παραμετρικοί έλεγχοι Kruskal Wallis. Καθ' αυτόν τον τρόπο το στατιστικό δείγμα πληθυσμού ομαδοποιείται, με βάση διαφορετική παράμετρο σε κάθε έλεγχο και ελέγχεται εάν οι διάμεσοι των τιμών της αξιολόγησης που δίνεται στην ανάπτυξη των προϊόντων που προτείνονται στα πλαίσια της μελέτης διαφέρουν σε κάθε ομάδα.

3.2 Αποτελέσματα

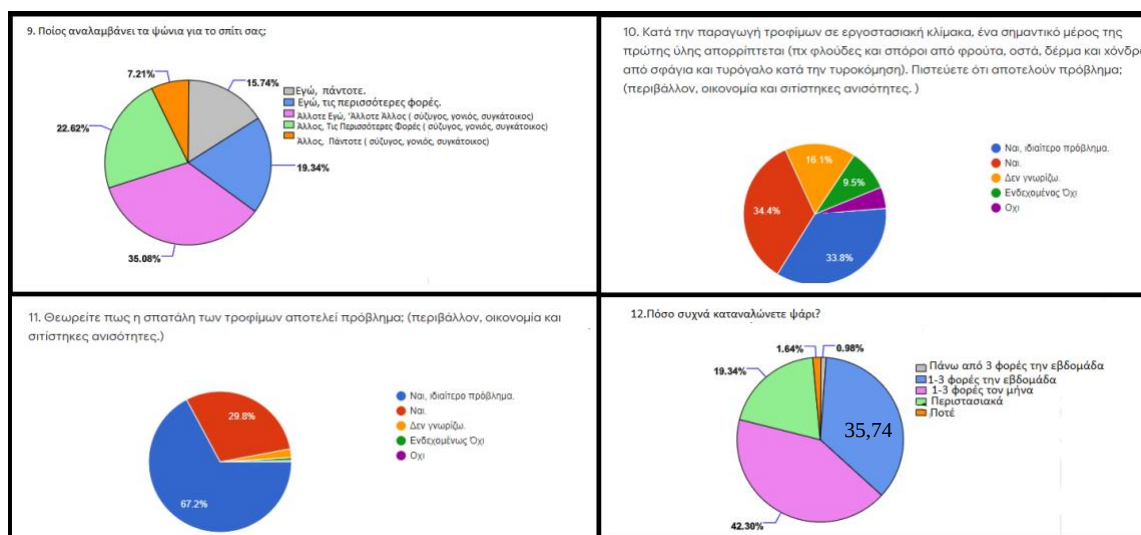
Ακολουθούν σε μορφή pie-chart οι σχετικές συχνότητες των απαντήσεων στην εκάστοτε ερώτηση του ερωτηματολογίου. Αρχικά παρουσιάζονται τα δημογραφικά στοιχεία του στατιστικού δείγματος πληθυσμού, οι επόμενες ερωτήσεις αφορούν την άποψη τους για την σπατάλη τροφίμων, την αξιοποίηση των υποπροϊόντων καθώς και τις διατροφικές τους προτιμήσεις ως προς την κατανάλωση ψαριού. Τέλος ζητείται η αξιολόγηση της γενικής ιδέας από τους συμμετέχοντες.



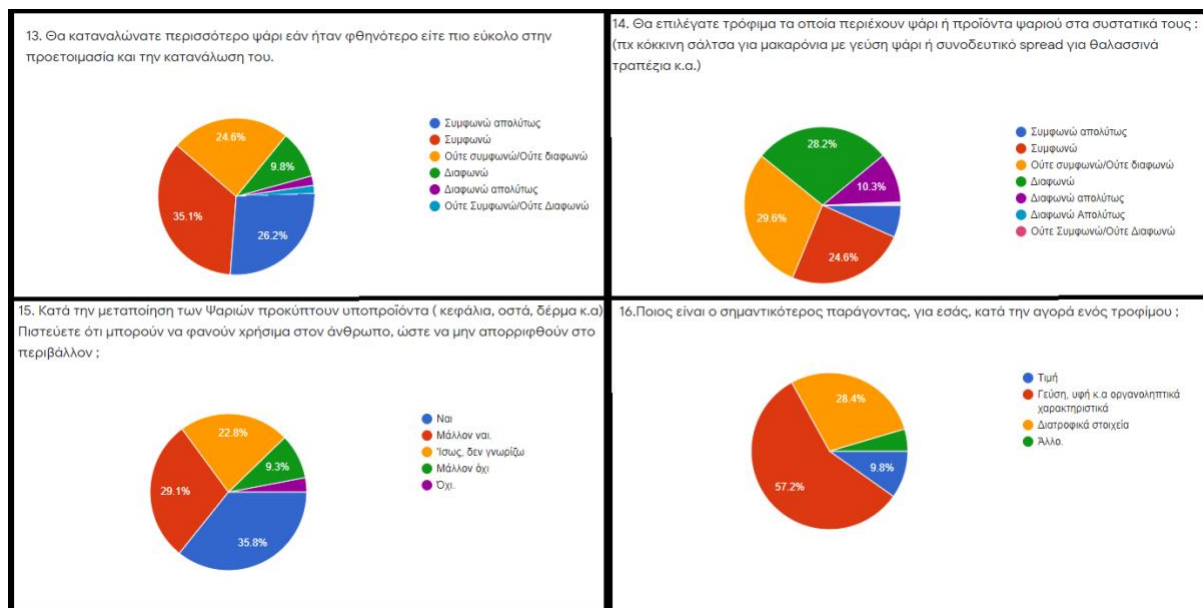
Γράφημα 3.1. «Δημογραφικά στοιχεία Νο.1». Παρουσίαση των ερωτήσεων 1-4 και των απαντήσεων του ερωτηματολογίου που αφορά την έρευνα καταναλωτών. Ποσοστιαία έκφραση των συχνοτήτων της κάθε απάντησης σε μορφή pie-chart.



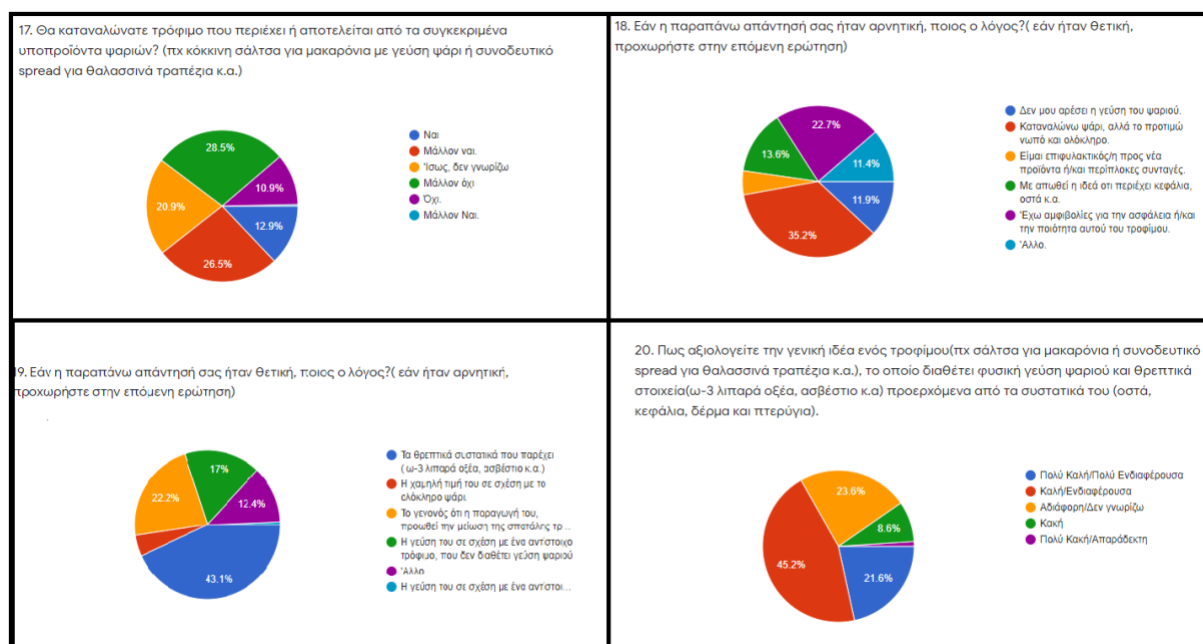
Γράφημα 3.2. «Δημογραφικά στοιχεία Νο.2». Παρουσίαση των ερωτήσεων 5-8 και των απαντήσεων του ερωτηματολογίου που αφορά την έρευνα καταναλωτών. Ποσοστιαία έκφραση των συχνοτήτων της κάθε απάντησης σε μορφή pie-chart.



Γράφημα 3.3. «Κατανάλωση ψαριού και υποπροϊόντα Νο.1.». Παρουσίαση των ερωτήσεων 9-12 και των απαντήσεων του ερωτηματολογίου που αφορά την έρευνα καταναλωτών. Ποσοστιαία έκφραση των συχνοτήτων της κάθε απάντησης σε μορφή pie-chart.



Γράφημα 3.4. «Κατανάλωση ψαριού και υποπροϊόντα Νο.2». Παρουσίαση των ερωτήσεων 13-16 και των απαντήσεων του ερωτηματολογίου που αφορά την έρευνα καταναλωτών. Ποσοστιαία έκφραση των συχνοτήτων της κάθε απάντησης σε μορφή pie-chart.



Γράφημα 3.5. «Αξιολόγηση των τροφίμων που περιέχουν υποπροϊόντα ψαριών και της γενικής ιδέας ανάπτυξης των τροφίμων που παρουσιάζονται στην παρούσα μελέτη». Παρουσίαση των ερωτήσεων 17-20 και των απαντήσεων του ερωτηματολογίου που αφορά την έρευνα καταναλωτών. Ποσοστιαία έκφραση των συχνοτήτων της κάθε απάντησης σε μορφή pie-chart.

Από τα ζεύγη μεταβλητών του δείγματος πληθυσμού που εξετάστηκαν δεν ανιχνεύεται συσχέτιση μεταξύ :

1. Της άποψης των καταναλωτών σχετικά με την επικινδυνότητα των αποβλήτων τροφίμων και την πρόθεσή τους να καταναλώσουν τρόφιμο που περιέχει ή αποτελείται από υποπροϊόντα ψαριών

2. Της άποψης των καταναλωτών σχετικά με το πρόβλημα της σπατάλης τροφίμων και την πρόθεση τους να καταναλώσουν τρόφιμο που περιέχει ή αποτελείται από υποπροϊόντα ψαριών
3. Της συχνότητας κατανάλωσης ιχθύων και την επιθυμία τους για περισσότερα αντίστοιχα γεύματα εάν ήταν φθηνότερα είτε πιο εύκολα στην προετοιμασία και την κατανάλωση τους.
4. Της αξιολόγησης των προϊόντων που προτείνει η παρούσα μελέτη και :
 - των δαπανών κατά μέσο όρο εβδομαδιαίως για την αγορά τροφίμων.
 - Της άποψης των καταναλωτών σχετικά με την επικινδυνότητα των αποβλήτων τροφίμων.
 - Της άποψης των καταναλωτών σχετικά με το πρόβλημα της σπατάλης τροφίμων.

Αντιθέτως, υπάρχει συσχέτιση στα κάτωθι:

- της άποψης των καταναλωτών σχετικά με την επικινδυνότητα των αποβλήτων τροφίμων και της άποψης σχετικά με το πρόβλημα της σπατάλης τροφίμων.
- Την στάση τους απέναντι στην αξιοποίηση των υποπροϊόντων (κεφάλια, οστά, δέρμα κ.α) ώστε να μην απορριφθούν στο περιβάλλον και :
 1. Την πρόθεση τους να καταναλώσουν τρόφιμο που περιέχει ή αποτελείται από υποπροϊόντα ψαριών.
 2. Της επικινδυνότητας των αποβλήτων τροφίμων.
 3. Του προβλήματος της σπατάλης τροφίμων.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι, ο τρόπος που αξιολογεί το συγκεκριμένο δείγμα πληθυσμού την ιδέα ανάπτυξης τροφίμων με την χρήση υποπροϊόντων εξαρτάται από:

- Την δυνατότητα αξιοποίησης που ανευρίσκουν στα υποπροϊόντα ψαριών, με σκοπό να μην απορριφθούν στο περιβάλλον
- Την πρόθεση για κατανάλωση τρόφιμου που περιέχει ή αποτελείται από υποπροϊόντα ψαριών
- Την επιθυμία για κατανάλωση περισσότερων γευμάτων ψαριού εάν ήταν φθηνότερα και πιο εύκολα στην προετοιμασία/κατανάλωση τους.
- Την συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων με ψάρι.

Τα p-value για τους παραπάνω ελέγχους απόρριψης της υπόθεσης ανεξαρτησίας του κάθε ζεύγους εμφάνισαν τιμές πολύ μικρότερες του 0,05. Οι πίνακες που ακολουθούν περιγράφουν την συχνότητα που παρατηρούνται οι 5 τιμές της κάθε ερώτησης του ερωτηματολογίου (15, 17, 13, 12) ταυτόχρονα με κάθε μία από τις 5 τιμές της βαθμονομημένης κλίμακας της αξιολόγησης της ιδέας ανάπτυξης των τροφίμων που περιγράφονται στην παρούσα μελέτη. Ο πρώτος αριθμός κάθε κελιού στους πίνακες είναι οι μετρήσεις ή η απόλυτη συχνότητα και ο δεύτερος αριθμός δηλώνει την σχετική συχνότητα, δηλαδή το ποσοστό του κάθε πίνακα που αντιπροσωπεύεται από το συγκεκριμένο κελί. Για παράδειγμα, υπάρχουν 40 παρατηρήσεις όπου, η απάντηση για την ερώτηση 15 είναι «Ναι» και ταυτόχρονα για την Αξιολόγηση είναι «Πολύ Καλή/Πολύ ενδιαφέρουσα». Το φαινόμενο αυτό αντιπροσωπεύει το 13.65% των 293 παρατηρήσεων.

Πίνακας 3.1 Πίνακας συχνοτήτων για την διασταύρωση της ερώτησης 15 του ερωτηματολογίου : Δυνατότητα αξιοποίησης υποπροϊόντων ψαριών και ερώτησης 20 : Αξιολόγηση της ιδέας που προτείνεται στα πλαίσια της μελέτης

Αξιολόγηση (στήλες)	Πολύ Καλή/ Πολύ Ενδιαφέρουσα	Καλή/ Ενδιαφέρουσα	Αδιάφορη/ Δεν γνωρίζω	Κακή	Πολύ Κακή/ Απαραδεκτη	Άθροισμα σειράς
Ερώτηση 15 (σειρές)						
Ναι	40	38	12	8	0	98
	13.65%	12.97%	4.10%	2.73%	0.00%	33.45%
Μάλλον ναι	11	43	28	8	2	92
	3.75%	14.68%	9.56%	2.73%	0.68%	31.40%
Ίσως, Δεν γνωρίζω	8	33	18	6	1	66
	2.73%	11.26%	6.14%	2.05%	0.34%	22.53%
Μάλλον Όχι	0	2	1	0	0	3
	0.00%	0.68%	0.34%	0.00%	0.00%	1.02%
Όχι	4	9	14	7	0	34
	1.37%	3.07%	4.78%	2.39%	0.00%	11.60%
Άθροισμα στήλης	63	125	73	29	3	293
	21.50%	42.66%	24.91%	9.90%	1.02%	100.00%

Πίνακας 3.2. Πίνακας συχνοτήτων για την διασταύρωση της ερώτησης 17 του ερωτηματολογίου : πρόθεση για κατανάλωση τροφίμου που περιέχει ή αποτελείται από υποπροϊόντα ψαριών και ερώτησης 20 : Αξιολόγηση της ιδέας που προτείνεται στα πλαίσια της μελέτης

Αξιολόγηση (στήλες)	Πολύ Καλή/ Πολύ Ενδιαφέρουσα	Καλή/ Ενδιαφέρουσα	Αδιάφορη/ Δεν γνωρίζω	Πολύ Κακή/ Απαραδεκτη	Πολύ Κακή/ Απαραδεκτη	Άθροισμα σειράς
Ερώτηση 17 (σειρές)						
Ναι	27	7	1	0	0	35
	9.51%	2.46%	0.35%	0.00%	0.00%	12.32%
Μάλλον Ναι	20	46	9	4	0	79
	7.04%	16.20%	3.17%	1.41%	0.00%	27.82%
Ίσως/ Δεν γνωρίζω	6	37	12	2	0	57
	2.11%	13.03%	4.23%	0.70%	0.00%	20.07%
Μάλλον όχι	1	4	5	0	0	10
	0.35%	1.41%	1.76%	0.00%	0.00%	3.52%
Όχι	6	30	45	20	2	103
	2.11%	10.56%	15.85%	7.04%	0.70%	36.27%
Άθροισμα στήλης	60	124	72	26	2	284
	21.13%	43.66%	25.35%	9.15%	0.70%	100.00%

Πίνακας 3.3. Πίνακας συχνοτήτων για την διασταύρωση των απαντήσεων στην ερώτηση 13 του ερωτηματολογίου : επιθυμία για κατανάλωση περισσότερων γευμάτων ψαριού εάν ήταν φθηνότερα και πιο ευκολα στην προετοιμασία/κατανάλωση τους και ερώτησης 20 : Αξιολόγηση της ιδέας που προτείνεται στα πλαίσια της μελέτης.

Αξιολόγηση (στήλες)	Πολύ Καλή/ Πολύ Ενδιαφέρουσα	Καλή/ Ενδιαφέρουσα	Αδιάφορη/ Δεν γνωρίζω	Κακή	Πολύ Κακή/ Απαράδεκτη	Άθροισμα σειράς
Ερώτηση 13 (σειρές)						
Ναι	23 7.88%	32 10.96%	15 5.14%	8 2.74%	1 0.34%	79 27.05%
Μάλλον ναι	21 7.19%	47 16.10%	29 9.93%	7 2.40%	0 0.00%	104 35.62%
Ίσως, Δεν γνωρίζω	15 5.14%	35 11.99%	17 5.82%	7 2.40%	1 0.34%	75 25.68%
Μάλλον Όχι	3 1.03%	8 2.74%	12 4.11%	6 2.05%	0 0.00%	29 9.93%
Όχι	0 0.00%	3 1.03%	0 0.00%	1 0.34%	1 0.34%	5 1.71%
Άθροισμα στήλης	62 21.23%	125 42.81%	73 25.00%	29 9.93%	3 1.03%	292 100.00%

Πίνακας 3.4 Πίνακας συχνοτήτων για την διασταύρωση των απαντήσεων στην ερώτησης 12 του ερωτηματολογίου : συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων με ψάρι και ερώτησης 20 : Αξιολόγηση της ιδέας που προτείνεται στα πλαίσια της μελέτης.

Αξιολόγηση (στήλες)	Πολύ Καλή/ Πολύ Ενδιαφέρουσα	Καλή/ Ενδιαφέρουσα	Αδιάφορη/ Δεν γνωρίζω	Κακή	Πολύ Κακή/ Απαράδεκτη	Άθροισμα σειράς
Ερώτηση 12 (σειρές)						
Πάνω από 3 φορές την εβδομάδα	0 0.00%	0 0.00%	1 0.34%	1 0.34%	0 0.00%	2 0.68%
1-3 φορές την εβδομάδα	24 8.19%	42 14.33%	28 9.56%	8 2.73%	0 0.00%	102 34.81%
1-3 φορές τον μήνα	32 10.92%	53 18.09%	30 10.24%	13 4.44%	1 0.34%	129 44.03%
Περιστασιακά	7 2.39%	27 9.22%	14 4.78%	7 2.39%	1 0.34%	56 19.11%
Ποτέ	0 0.00%	3 1.02%	0 0.00%	0 0.00%	1 0.34%	4 1.37%
Άθροισμα στήλης	63 21.50%	125 42.66%	73 24.91%	29 9.90%	3 1.02%	293 100.00%

Τέλος, εφόσον το P-value σε κάθε περίπτωση που εξετάζεται μέσω του των ελέγχων Kruskal Wallis είναι μεγαλύτερα του 0,05, δεν εντοπίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά, σε επίπεδο 95%, μεταξύ των διαμέσων της αξιολόγησης ανάμεσα από τις ομάδες που κατηγοριοποιείται το δείγμα πληθυσμού

- Φύλο
- το μορφωτικό επίπεδο,
- την ηλικία

- την επιλογή του σημαντικότερου παράγοντα κατά την αγορά ενός τρόφιμου (Διατροφικά στοιχεία, τιμή, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, άλλο).

3.3 Συζήτηση

Έως σήμερα, ανιχνεύονται ποικίλες χρήσεις των υποπροϊόντων των ψαριών, όπως αναλύεται και σε προηγούμενο κεφάλαιο. Οι χρήσεις αυτές αποσκοπούν στην βελτίωση του σχεδίου διαχείρισης των αποβλήτων της εκάστοτε μονάδας που χρησιμοποιεί αλιεύματα και στην αύξηση της συνολικής αξίας που προκύπτει από το αρχικό προϊόν. Οι εφαρμογές αυτές εντοπίζονται σε ποικίλους βιομηχανικούς τομείς, λιγότερο σύνηθες είναι η παρουσία τους στον αγροδιατροφικό ενώ φαίνεται να μην έχει εφαρμοστεί σε μεγάλη κλίμακα η χρήση των υποπροϊόντων σε υψηλής προστιθέμενης αξίας τρόφιμο.

Άλλες έρευνες αναφέρουν ότι, σε ερώτηση προς τους καταναλωτές σχετικά με το ποσό τους επηρεάζει όταν παράγουν τροφικά απόβλητα, το 54% θεωρεί ότι τους ανησυχεί πάρα πολύ η παραγωγή τροφικών αποβλήτων (Abeliotis et al., 2014). Το ποσοστό μπορεί να ταυτιστεί με το αντίστοιχο που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη, στις σχετικές ερωτήσεις.

Ωστόσο, λόγω των καταναλωτικών συμπεριφορών, των προσωπικών προτιμήσεων και κυρίως λόγω της ανεπάρκειας επίγνωσης του προβλήματος των τροφικών αποβλήτων, το πρόβλημα δεν αντιμετωπίζεται με δραστικό τρόπο.

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αποτελούν τον καθοριστικό παράγοντα στην αγορά ενός τρόφιμου από το δείγμα καταναλωτών, με σχετική συχνότητα 57,2%. Ενώ δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αξιολογήσεων που έδωσαν οι λοιπές υπο-ομάδες, με βάση τα κριτήρια αγοράς τροφίμων.

Οι απαντήσεις, Καλή/Ενδιαφέρουσα και Πολύ καλή/ Πολύ ενδιαφέρουσα της ερώτησης που αφορά την αξιολόγηση εμφανίστηκαν σε ποσοστά 45,2% και 21,6%. Συνεπώς το 66,8% αξιολογεί θετικά. Διαπιστώνοντας ότι δεν ταυτίζονται με τα αντίστοιχα ποσοστά πρόθεσης κατανάλωσης τρόφιμου που αποτελείται από ή περιέχει υποπροϊόντα ψαριού, μπορεί να εκτιμηθεί ότι μια θετική αξιολόγηση δεν μεταφράζεται απαραίτητα ως πιθανή κατανάλωση.

Τέλος οι θετικές αξιολογήσεις συνδέονται με την επιθυμία για κατανάλωση περισσότερων γευμάτων ψαριού καθώς και την συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων.

Είναι προς στιγμήν άγνωστη η δεκτικότητα των ευρύτερου καταναλωτικού κοινού σε συναφή προϊόντα, παρότι έχουν γίνει ενέργειες από οργανισμούς όπως ο FAO για ενημέρωση του κοινού, ωστόσο αυτή η προσέγγιση απαιτεί ευρύτερη οικολογική συμπεριφορά που τελευταία ωριμάζει λόγω της ανάγκης αειφόρας και βιώσιμης ανάπτυξης.

4. Πιλοτικές Δοκιμές Ανάπτυξης Προϊόντων με την Χρήση Πουδρών από Υποπροϊόντα Τσιπούρας

Στο πλαίσιο της εργασίας αναπτύσσονται και προτείνονται προϊόντα τα οποία παρασκευάζονται με την ανάμιξη πούδρας υποπροϊόντων ψαριών με μια σειρά από τρόφιμα μήτρες. Εφαρμόζεται η μέθοδος παρασκευής πούδρας κεφαλών, πτερυγίων, οστών και δερμάτων τσιπούρας (*Sparus aurata*) που αναφέρεται σε προηγούμενο κεφάλαιο.

4.1 Περιγραφή Προτεινόμενων Προϊόντων

Στην ενότητα που ακολουθεί περιγράφονται τα προϊόντα που προτείνονται στην παρούσα μελέτη.

4.1.1 Σάλτσα Μαγιονέζας με πούδρα υποπροϊόντων Ψαριών

Η μαγιονέζα είναι ένα γαλάκτωμα τύπου λάδι σε νερό (oil-in-water emulsion) χαμηλού pH (~4.0), σε μορφή ομοιογενούς πολτού που παρασκευάζεται από έλαιο, συνήθως ελαιόλαδο, με την προσθήκη κρόκου αυγού, μαγειρικού αλατιού και αρτυμάτων και σπανιότερα, ζάχαρης χρησιμοποιώντας ως μέσω όξυνσης χυμό λεμονιού ή κιτρικό οξύ, και σπανιότερα, συμπληρωματική χρήση ξιδιού. Το περιεχόμενο σε λάδι είναι επιθυμητό να μην είναι μικρότερο του 60%. Το λάδι που χρησιμοποιείται για την παρασκευή της θα πρέπει να είναι αυτούσιο και το είδος του να δηλώνεται ξεκάθαρα στα συστατικά. Στην περίπτωση που το χρησιμοποιούμενο έλαιο δεν δηλώνεται, θεωρείται ότι το τελευταίο είναι ελαιόλαδο, βάση του κώδικα τροφίμων και ποτών (Άρθρο 41-2 Έκδοση 4, 2014).

Το χρώμα της μαγιονέζας δεν πρέπει να οφείλεται σε χρωστικές, αλλά, στα συστατικά της, συνήθως στο ωχρό χρώμα του κρόκου. Εάν στην εκάστοτε συνταγή περιέχεται μουστάρδα, αυτή δεν επιτρέπεται, βάση του κώδικα, (Άρθρο 41-2 Έκδοση 4, 2014) να είναι τεχνητά χρωσμένη. Επιπλέον, η προσθήκη γαλακτωματοποιητών-σταθεροποιητών και πηκτικών μέσων για την παρασκευή της μαγιονέζας επιτρέπεται σε μέγιστο ποσοστό 1 % επί του έτοιμου προϊόντος είτε οι ουσίες αυτές χρησιμοποιηθούν μόνες τους είτε μίγμα αυτών, ενώ η χρήση συντηρητικών και αντιοξειδωτικών ουσιών δεν θα πρέπει να ξεπερνά το ποσοστό του 1% επί του έτοιμου προϊόντος.

Παράλληλα, απαντάται μεγάλη ποικιλία νέων προϊόντων που προσομοιάζουν την γενική σύσταση της μαγιονέζας μέσα από διάφορες εσκεμμένες παραλλαγές αυτής, είτε για να καλυφτούν διαφορετικές ανάγκες της αγοράς είτε για οικονομικούς λόγους. Οι παραλλαγές μπορεί να αφορούν το αυξημένο ή μειωμένο περιεχόμενο σε λίπος, χαρακτηριστικό παράδειγμα οι σάλτσες αναπληρώματος μαγιονέζας με χαμηλά λιπαρά, τύπου light mayo, light mayonnaise sauce κ.α. που διαθέτουν χαμηλότερες θερμίδες από την αυθεντική μαγιονέζα.

Αντίστοιχα, έχουν αναπτυχθεί αναπληρώματα μαγιονέζας χωρίς κρόκο αυγού. Με τον τρόπο αυτό, εξυπηρετούνται καταναλωτές που αποφεύγουν τον κρόκο στα πλαίσια της διατροφής τους για λόγους, κλινικούς, όπως οι πάσχοντες από υπερχοληστεριναιμία, θρησκευτικούς, σε περιόδους νηστείας αλλά και ηθικούς, καθώς μέρος του γενικού πληθυσμού στρέφεται προς την χορτοφαγία.

Η σάλτσα μαγιονέζας που προτείνεται στα πλαίσια αυτής της εργασίας παρασκευάζεται αναμειγνύοντας ποσότητα της πούδρας στην μήτρα του τροφίμου, η οποία ενδέχεται να είναι είτε αυθεντική μαγιονέζα είτε κάποια μορφή αναπλήρωματος μαγιονέζας. Η προστιθέμενη ποσότητα της πούδρας από υποπροϊόντα ψαριών και ο τύπος της σάλτσας (μαγιονέζα, αναπλήρωμα ή χορτοφαγικό αναπλήρωμα) εξετάζονται στο πειραματικό πλαίσιο που αναλύεται στην σχετική παράγραφο.

4.1.1 Σάλτσα Ντομάτας με πούδρα υποπροϊόντων Ψαριών

Ο όρος τοματοπολτός αφορά το συμπυκνωμένο προϊόν που παρασκευάζεται από τον σαρκώδη χυμό που παραλαμβάνεται από ώριμες, υγιείς και ολόκληρες ντομάτες. Διακρίνονται έξι τύποι τοματοπολτού ανάλογα με τον βαθμό συμπύκνωσης όπου το εκατοστιαίο περιεχόμενο σε στερεά συστατικά από χυμό ντομάτας κυμαίνεται από 40% έως 16% . Προϊόντα με την ονομασία χυμός ντομάτας αποδίδεται στον ασυμπύκνωτο χυμό χωρίς την παρουσία φλοιού ή σπερμάτων και δύναται να περιέχει ζάχαρη έως και 1,5%.

Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius, σάλτσες χαρακτηρίζονται τα προϊόντα υγρής είτε ημίρρευστης μορφής είτε εκείνα που μετατρέπονται στη μορφή αυτή σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης που πρέπει να αναγράφονται στην συσκευασία και προορίζονται να καταναλωθούν μαζί με άλλα τρόφιμα σε μικρή αναλογία. Οι σάλτσες μπορούν να περιέχουν διάφορες βρώσιμες και αρωματικές ύλες καθώς και αρτύματα και υδρολυμένες πρωτεΐνες φυτικής ή ζωικής προέλευσης. Συγκεκριμένα, οι σάλτσες με βάση την ντομάτα περιέχουν νερό, συμπύκνωμα ντομάτας όπως τοματοπολτός, χυμός ντομάτας κ.α. λάδι (CODEX STAN 57, 1981).

Η Μαρινάρα είναι μια σάλτσα με βάση την ντομάτα η οποία συνήθως περιέχει κρεμμύδι και βασιλικό ή ρίγανη. Ωστόσο, στις διάφορες συνταγές της μπορεί να περιέχει κάπαρη, ελιές ακόμα και κρασί, εφόσον η γενική συνταγή της δεν υπόκειται σε κάποια πατέντα ή νομοθετικό πλαίσιο.

Το προτεινόμενο προϊόν τύπου «σάλτσα μαρινάρα για ζυμαρικά» παρασκευάζεται αναμειγνύοντας ποσότητα της πούδρας σε διατηρημένα προιόντα ντομάτας. Η προστιθέμενη ποσότητα της πούδρας από υποπροϊόντα ψαριών και ο τύπος της σάλτσας ντομάτας εξετάζονται στο πειραματικό πλαίσιο που αναλύεται στην συνέχεια.

4.2 Υλικά και μέθοδοι.

4.2.1 Επιλογή Τροφίμων

Με σκοπό την παραγωγή των πιλοτικών τροφίμων στα οποία θα προστεθεί η πούδρα από υποπροϊόντα ψαριών προμηθεύονται κατάλληλες ποσότητες από το λιανεμπόριο. Η επιλογή των τροφίμων έγινε βάση των οργανοληπτικών, φυσικών και χημικών ιδιοτήτων τους που αναγράφεται στην ετικέτα.

Για την ανάπτυξη της σάλτσας μαγιονέζας, από παράρτημα λιανικής πώλησης της αλυσίδας σούπερ-μάρκετ “Σκλαβενίτης”, (ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΥΠΕΡΑΓΟΡΕΣ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ Α.Ε.Ε.), προμηθεύτηκε μια

συσκευασία 450ml αναπληρώματος μαγιονέζας «Κλασσική γεύση» Ελαΐς, (ΕΛΑΪΣ-UNILEVER HELLAS AE), μια συσκευασία των 650ml αυθεντικής μαγιονέζας «Hellman's real mayonnaise» (ΕΛΑΪΣ-UNILEVER HELLAS AE) και μια συσκευασία χορτοφαγικού αναπληρώματος μαγιονέζας των 270g «Hellman's vegan mayo sauce χωρίς αυγά» (ΕΛΑΪΣ-UNILEVER HELLAS AE). Η συγκεκριμένη επιλογή βασίζεται στη διαφορετική φυτική προέλευση της λιπαρής ύλης. Το περιεχόμενο σε φυτικό έλαιο της αυθεντικής μαγιονέζας είναι 76% (σογιέλαιο), του αναπληρώματος 25% (κραμβέλαιο) και του χορτοφαγικού αναπληρώματος 72%(κραμβέλαιο). Επίσης, το χορτοφαγικό αναπλήρωμα δεν περιέχει καθόλου αυγά.

Για την ανάπτυξη της σάλτσας μαρινάρας, από παράρτημα λιανικής πώλησης της αλυσίδας σούπερ-μάρκετ “Σκλαβενίτης”,(ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΥΠΕΡΑΓΟΡΕΣ ΣΚΛΑΒΕΝΙΤΗΣ Α.Ε.Ε.), προμηθεύτηκε σάλτσα ντομάτας «Knorr Napoletana Κλασσική Ιταλική» (ΕΛΑΪΣ-UNILEVER HELLAS AE), τοματοχυμός «Pummaro Κλασικό Ελαφρώς συμπυκνωμένο» (ΕΛΑΪΣ-UNILEVER HELLAS AE).

Η συγκεκριμένη επιλογή βασίζεται στη διαφορετική σύνθεση των προϊόντων, αφού ο τοματοχυμός εμφανίζει διαφορετική περιεκτικότητα σε στερεά ενώ η σάλτσα περιέχει 50% ψιλοκομμένες ντομάτες, 27,43% τοματοπολτό διπλής συμπύκνωσης, νερό και μυρωδικά και αρτύματα.

4.2.2 Ανάμειξη με τρόφιμα μήτρες

Στα τρόφιμα-μήτρες προστίθενται διαφορετικές ποσότητες μίγματος, το οποίο παρασκευάζεται αναμιγνύοντας σε ίσες αναλογίες τις τέσσερις διαφορετικές πούδρες υποπροϊόντων, δηλαδή από κεφαλές, πτερύγια, οστά και δέρμα.

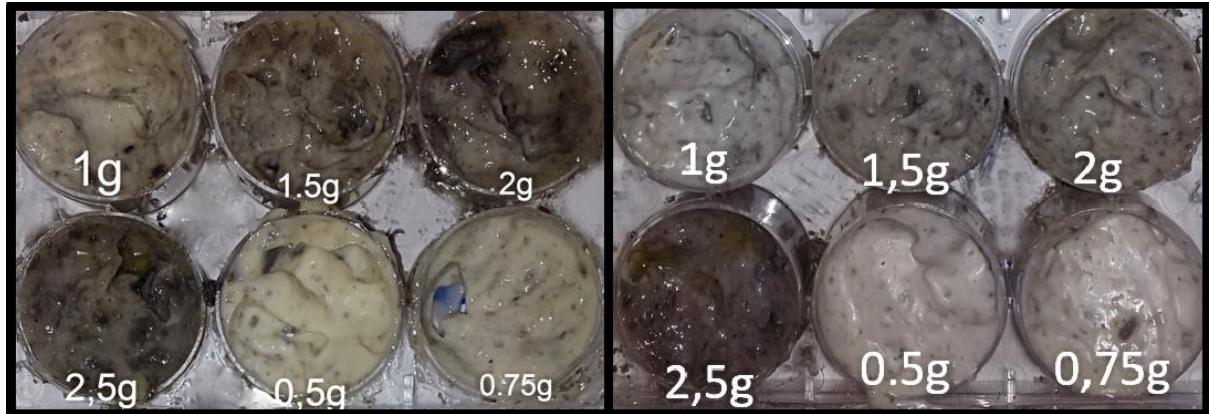
- 0,5g μίγματος πουδρών σε 10 g μήτρας
- 0,75g μίγματος πουδρών σε 10 g μήτρας
- 1g μίγματος πουδρών σε 10 g μήτρας
- 1,5g μίγματος πουδρών σε 10 g μήτρας
- 2g μίγματος πουδρών σε 10 g μήτρας
- 2,5g μίγματος πουδρών σε 10 g μήτρας

Έπειτα, ο κάθε τύπος πούδρας εξετάζεται ξεχωριστά, ποσότητα του ενός γραμμάριου από την εκάστοτε πούδρα προστίθεται σε κάθε τύπο τρόφιμου και παρατηρούνται τα χαρακτηριστικά των πιλοτικών δοκιμών του εκάστοτε τύπου υποπροϊόντος.

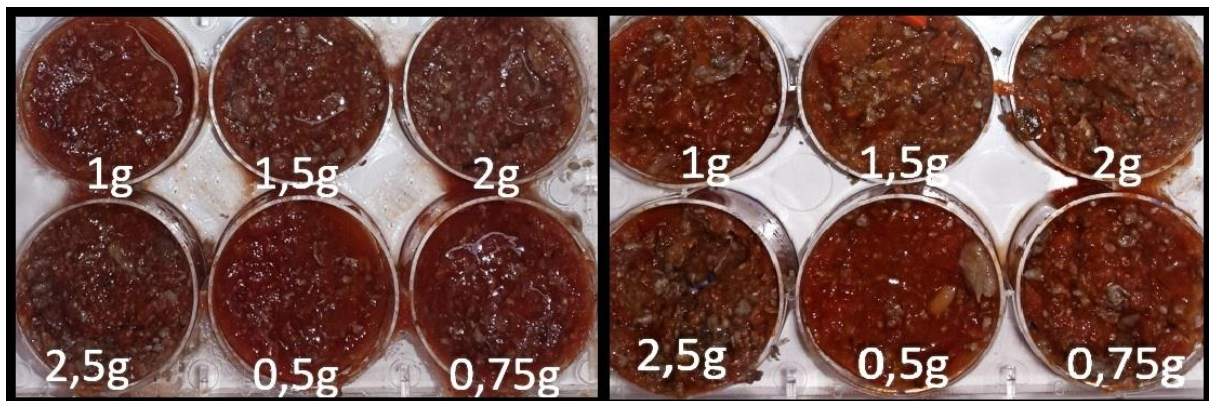
- 1g Πούδρας “κεφαλών” σε 10 g από κάθε τύπο σάλτσας αντίστοιχα.
- 1g Πούδρας “πτερυγίων” σε 10 g από κάθε τύπο σάλτσας αντίστοιχα.
- 1g Πούδρας “οστών” σε 10 g από κάθε τύπο σάλτσας αντίστοιχα.
- 1g Πούδρας “δέρματος” σε 10 g από κάθε τύπο σάλτσας αντίστοιχα.

4.3. Αποτελέσματα

Παρουσιάζονται οι δοκιμές ανάμιξης του μείγματος των υποπροϊόντων με διαφορετικά τρόφιμα-μήτρες σε αύξουσες αναλογίες μείγματος πούδρων προς μήτρα.



Εικόνα 4.1 Δοκιμές ενσωμάτωσης, σε Αυθεντική μαγιονέζα (αριστερά) και χορτοφαγικό αναπλήρωμα μαγιονέζας (δεξιά) διαφορετικών αναλογιών μίγματος, το οποίο αποτελείται από ίσες ποσότητες των τεσσάρων διαφορετικών τύπων υποπροϊόντων.

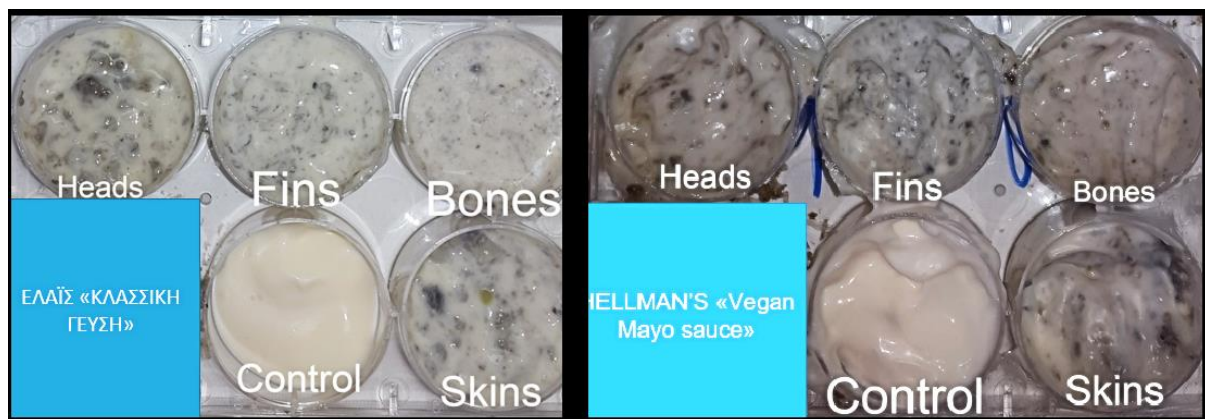


Εικόνα 4.2 Δοκιμές ενσωμάτωσης, σε τοματοπολιτό (αριστερά) και σάλτσα ντομάτας «Ναπολιτάνα»(δεξιά) διαφορετικών αναλογιών μίγματος, το οποίο αποτελείται από ίσες ποσότητες των τεσσάρων διαφορετικών τύπων υποπροϊόντων.

Στις εικόνες που ακολουθούν, παρουσιάζεται η μορφή του εκάστοτε τροφίμου-μήτρας μετά την ενσωμάτωση 1g από κάθε τύπο πούδρας.



Εικόνα 4.3 Ενσωμάτωση 1 g από την κάθε πούδρα σε Αυθεντική μαγιονέζα



Εικόνα 4.4 Ενσωμάτωση 1 g από την κάθε πούδρα σε αναπλήρωμα μαγιονέζας (αριστερά) και χορτοφαγικό αναπλήρωμα μαγιονέζας (δεξιά).



Εικόνα 4.5 Ενσωμάτωση 1 g από την κάθε πούδρα τοματοχυμό (αριστερά) και σάλτσα ντομάτας «Ναπολιτάνα» (δεξιά).

4.4. Συζήτηση

Παρατηρείται ότι όλα τα δείγματα εμφανίζουν αποδεκτή όψη σε συγκεντρώσεις έως και 1g πούδρας σε 10g μήτρας. Η υψηλή υγρασία του τοματοχυμού και του αναπληρώματος μαγιονέζας οδηγεί σε έντονη προσρόφηση υγρών από την πούδρα ,μεγάλο ιξώδες, και οπτικά παρατηρούνται μαύρες αποχρώσεις. Παρατηρείται επίσης προτίμηση στη “Vegan Mayo Sauce” και στην αυθεντική μαγιονέζα.

Στην αγορά του Ηνωμένου Βασιλείου καθώς και στην παγκόσμια αγορά κυκλοφορούν προϊόντα τα οποία παρασκευάζονται με κρέας ψαριού και προσθήκη βουτύρου ,βοτάνων, καρυκευμάτων κ.α., όπως το «*Princes tuna and mayo paste*»,και το «*Patum Peperium gentleman’s relish*» και «*roacher’s relish*» από αντζούγια και σολομό αντίστοιχα. Η πάστα με τόνο και μαγιονέζα φέρει ισχυρισμό διατροφής υψηλή περιεκτικότητα σε ω-3 λιπαρά οξέα ενώ τα δύο relish έχουν καθιερωθεί ως premium συνοδευτικά σε διάφορα πιάτα.

Σε έρευνα του USDA υποστηρίζεται ότι μπορεί να αποδοθεί προστιθέμενη αξία σε υποπροϊόντα από λιγότερο αποδεκτά τεμάχια σολομού, έπειτα από λυοφιλίωση και τεμαχισμό σε κύβους στα οποία μπορεί να αποδοθεί και ισχυρισμός διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε ω-3 λιπαρά οξέα (USDA/Agricultural Research Service, 2011). Προς το παρόν, αυτή η καινοτομία εφαρμόζεται αποκλειστικά σε «λιχουδιές» για κατοικίδια, τα λεγόμενα salmon cubes, ενώ δεν ανευρίσκονται, προς το παρόν, επιχειρηματικές ενέργειες για την εκμετάλλευση της σε προϊόντα που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία το δέρμα ελληνικής προέλευσης τσιπούρας και μαγιάτικου είναι πλούσιο σε πρωτεΐνη , οι κεφαλές πλούσιες σε λιπίδια ενώ τα πτερύγια και τα οστά σε ασβέστιο (Kandyliari et al, 2020). Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των υποπροϊόντων, διαφόρων ψαριών, κυμαίνεται μεταξύ 49,22 και 57,92% (Abbey et al, 2017; Vidotti et al, 2003). Εφόσον το διατροφικό προφίλ των υποπροϊόντων μπορεί να προσομοιάσει εκείνο των φιλέτων από το ίδιο είδος ψαριών(Kandyliari et al, 2020), τα πιλοτικά δείγματα τροφίμων της παρούσης μελέτης δίνεται να αποτελέσουν βασικό πυλώνα στην ανάπτυξη τελικών προϊόντων, τα οποία έχουν την δυνατότητα να είναι εξίσου ανταγωνιστικά στην αγορά με αντίστοιχα προϊόντα από κρέας ψαριού.

5. Συμπεράσματα

Οι υψηλές απορρίψεις τροφίμων αποτελούν ένα μείζων σύγχρονο πρόβλημα που συνδέεται άμεσα με ζητήματα που αφορούν στην οικονομία, στο περιβάλλον και στην κοινωνία. Οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις έχουν σαν αποτέλεσμα ο τομέας των τροφίμων να αντιπροσωπεύει το 30 με 31% της ενδεχόμενης παγκόσμιας υπερθέρμανσης του πλανήτη. Ετησίως, εκατομμύρια τόνοι αποβλήτων τροφίμων παράγονται εντός Ευρωπαϊκής Ένωσης. Ο όγκος αυτός μπορεί να συσχετισθεί με χρηματοοικονομικό αντίκτυπο που εκτιμάται στα 143 δις. ευρώ.

Η ανάπτυξη στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών, με την εμφάνιση περισσότερων μονάδων, επέφερε σημαντική αύξηση στον όγκο των υποπροϊόντων που απορρίπτεται από αυτές, οι τρέχουσες απορρίψεις από την παγκόσμια αλιεία αντιστοιχούν στο 25% της συνολικής παραγωγής.

Η παρούσα εργασία έχει σαν στόχο να προτείνει τρόπους για την μείωση των απορρίψεων των υποπροϊόντων υδατοκαλλιεργειών μέσω καινοτόμων προσεγγίσεων. Στην πλειοψηφία τους, τα υποπροϊόντα που απορρίπτονται προορίζονται για χρήσεις χαμηλής αγοραστικής αξίας. Ωστόσο, φαίνεται ότι μπορούν να αποτελέσουν πρώτη ύλη για την ανάπτυξη προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, με γνώμονα την αειφόρο ανάπτυξη και την πράσινη επιχειρηματικότητα. Στο πλαίσιο της εργασίας εντοπίζονται αξιόλογα παραδείγματα αυτής της τάσης.

Υστέρα από την εκτίμηση των αποτελεσμάτων του μικροβιολογικού φορτίου των δειγμάτων, λαμβάνοντας υπόψιν ότι η λυσοφιλίωση δεν προκαλεί στατιστικά σημαντική λογαριθμική μείωση του μικροβιακού φορτίου, η χρήση νωπών προϊόντων με σκοπό την προετοιμασία πούδρων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, κρίθηκε ακατάλληλη.

Ωστόσο, η επανάληψη της διαδικασίας και των ασηπτικών τεχνικών που έλαβαν χώρα κατά την δειγματοληψία και την ανάπτυξη των πούδρων που προέρχονται από βρασμένα υποπροϊόντα πιθανότατα θα οδηγήσει σε δείγματα που ενδείκνυνται, πιλοτικά, για παραγωγή σε οικιακή κλίμακα, και την υλοποίηση γευσιγνωστικών δοκιμών στα τελικά τρόφιμα. Τα αποτελέσματα αυτών των μελλοντικών δοκιμών, μπορούν να αποτελέσουν βασικό πυλώνα στην εξέταση ενδεχόμενης, βιομηχανικού επιπέδου, ανάπτυξης των προϊόντων που προτείνει η μελέτη.

Η πλειοψηφία του στατιστικού δείγματος πληθυσμού, που συμμετείχε στην διεξαγωγή της έρευνας καταναλωτών είναι θετική προς την αξιοποίηση των υποπροϊόντων ψαριών. Η αξιολόγηση της κεντρικής ιδέας που αφορά την ανάπτυξη και παραγωγή τροφίμων που περιέχουν υποπροϊόντα ψαριών εμφανίζει θετική συσχέτιση με την ευαισθησία προς την απόρριψη των τροφίμων και το πρόβλημα σπατάλης των τροφίμων. Επιπλέον, άτομα με υψηλή επιθυμία για κατανάλωση περισσότερων γευμάτων ψαριού και υψηλή συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων με ψάρι φαίνεται να αξιολογούν θετικά έως πολύ θετικά την κεντρική ιδέα της μελέτης.

Οι πούδρες, πέραν της χαρακτηριστικής γεύσεως, δύναται να συνεισφέρουν στον εμπλουτισμό τροφίμων όπως μαγιονέζα ή σάλτσα ντομάτας με πρωτεΐνη, ασβέστιο και ω-3 λιπαρά οξέα, δημιουργώντας προϊόντα ανταγωνιστικά προς τις συμβατικές μορφές τους ή ως υποκατάστατα σε προϊόντα από κρέας ψαριού.

Εν κατακλείδι η παρούσα εργασία προσεγγίζει την δυνατότητα αξιοποίησης των υποπροϊόντων από ιχθυοκαλλιέργειες τσιπούρας, προτείνοντας, σε πιλοτικό και εργαστηριακό επίπεδο, λύσεις για την βέλτιστη διαχείριση τους αξιολογώντας την δεκτικότητα των Ελλήνων καταναλωτών. Ενώ έχουν γίνει ενέργειες από οργανισμούς όπως ο FAO για ενημέρωση του ευρύτερου καταναλωτικού κοινού σε συναφή προϊόντα, αυτή η προσέγγιση απαιτεί ευρύτερη οικολογική συμπεριφορά που τελευταία ωριμάζει λόγω της ανάγκης αειφόρας και βιώσιμης ανάπτυξης.

Βιβλιογραφία

- Abbey, L. *et al.* (2017) “Nutrient content of fish powder from low value fish and fish byproducts,” *Food Science & Nutrition*, 5(3), pp. 374–379. doi: 10.1002/fsn3.402.
- Abdel-Moemin, A. (2015) “Healthy cookies from cooked fish bones. *Food Bioscience*. 12. 114-121. 10.1016/j.fbio.2015.09.003. .”
- Abeliotis, K., Lasaridi, K. and Chroni, C. (2014) “Attitudes and behaviour of Greek households regarding food waste prevention,” *Waste Management & Research*, 32(3), pp. 237–240. doi: 10.1177/0734242X14521681.
- Adams, M. R. and Moss, M. O. (2000) “Food Microbiology. Eds. The Royal Society of Chemistry, 225-232.”
- Arnesen, J. A. and Gildberg, A. (2002) “Preparation and characterisation of gelatine from the skin of harp seal (*Phoca groenlandica*). *Bioresour. Technol.*, 82: 191-194.”
- Arnesen J.A. and Gildberg, A. (2006) “Extraction of muscle proteins and gelatin from cod head. *Process Biochem.*, 41: 697-700.”
- Arnesen J.A. and Gildberg, A. (2007) “Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmon salar*) skin. *Bioresource Technol.*, 98: 53-57.”
- Arvanitoyannis, I. S. (2009) “HACCP and ISO 22000. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.”
- Barrett, E. L. and Kwan, H. S. (1985) “Bacterial reduction of trimethylamine oxide. *Annual Reviews in Microbiology*, 39: 131-149.”
- Baylis, C. L. *et al.* (2006) “*Escherichia coli* and *Shigella* spp. In Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2nd Edition. Gillespie, S.H. and Hawkey, P.M. (Eds). John Wiley & Sons Ltd., London: pp 347-365.”
- Benkajul, S. and Morrissey, M. T. (1997) “Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3423–3430.”
- Beuchat, L. *et al.* (2011) “Persistence and survival of pathogens in dry foods and dry food processing environments. *International Life Sciences Institute Europe Report Series*. 2011. 1-48. ”
- Beuchat, L. *et al.* (2013) “Low–Water Activity Foods: Increased Concern as Vehicles of Foodborne Pathogens,” *Journal of Food Protection*, 76(1), pp. 150–172. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-211.
- Beuchat, L., *et al.* (2013) “Low-Water Activity Foods: Increased Concern as Vehicles of Foodborne Pathogens. *Journal of food protection*. 76. 150-72. 10.4315/0362-028X.JFP-12-211. .”
- Beveridge, M. C. M. , (2008) “Cage Aquaculture, UK.”

Bio Intelligence Service (2010) “PREPARATORY STUDY ON FOOD WASTE ACROSS EU 27.”

Blatt, C. (1991) “Comparison of several organic amendments with a chemical fertilizer for vegetable production. *Scientia horticulture*, 177-191.”

Chen, Y. C., Tou, J. C. and Jaczynski, J. (2007) “Amino Acid, Fatty Acid, and Mineral Profiles of Materials Recovered from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Processing By-Products Using Isoelectric Solubilization/Precipitation,” *Journal of Food Science*, 72(9), pp. C527–C535. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00522.x.

Chen, Y. C., Tou, J. C. and Jaczynski, J. (2009) “Amino Acid and Mineral Composition of Protein and Other Components and Their Recovery Yields from Whole Antarctic Krill (*Euphausia superba*) Using Isoelectric Solubilization/Precipitation,” *Journal of Food Science*, 74(2), pp. H31–H39. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.01026.x.

Cherubini, F. (2010) “The biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energ. Convers. Manag.* 51, 1412–1421.”

Cho S.M. and et al (2004) “Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloid*, 18: 573-579.”

Choudhury, G. S. , and Bublitz, C. G. (1996) “Computer-based controls in fish processing industry. In G. S. Mittal (Ed.), *Computerized control systems in the food industry* (pp. 513–538). New York: Marcel Dekker Inc.”

Choudhury, G. S. and Gogoi, B. K. (1995) “Extrusion processing of fish muscle. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 4, 37–67.”

Clark, J. H. , and Deswarte, F. (2015) “Introduction to chemicals from biomass. John Wiley & Sons.”

CODEX STAN 57, 1981. CODEX STANDARD FOR PROCESSED TOMATO CONCENTRATES.

Dahiya, S. , *et al.* (2015) “Acidogenic fermentation of food waste for volatile fatty acid production with co-generation of biohydrogen. *Bioresour. Technol.* 182, 103-113.”

Duan, X., Zhang, M. and Mujumdar, A. S. (2007) “Studies on the Microwave Freeze Drying Technique and Sterilization Characteristics of Cabbage,” *Drying Technology*, 25(10), pp. 1725–1731. doi: 10.1080/07373930701591044.

Euractiv (2019) “Circular economy erected as “number one priority” of European Green Deal’.available in: <https://www.euractiv.com/section/circular-economy/news/circular-economy-is-number-one-priority-of-european-green-deal/> accessed 01.01.2020.”

European Commission and Bluemed (2015) “Research and innovation initiative for blue jobs and growth in the Mediterranean area, Strategic research and innovation agenda. The BLUEMED initiative documents goo.gl/ZbJTW.”

European Commission (DG ENV) (2010) “ (2010) Preparatory Study on Food Waste across EU 27, European Commission.”

European Parliament (2008) “Directive 2008/98/EC of 19 November 2008 on Waste and Repealing Certain Directives. OJ L312 (Article 3(1)): 3–30, European Parliament.”

European Parliament (2009) “Regulation (EC) No. 1069/2009 of the European Parliament and the Council of 21 October 2009 Laying Down Health Rules as Regards Animal By-products and Derived Products Not Intended for Human Consumption and Repealing Regulation (EC). Animal Products Regulation OJ (L300), 1–33, European Parliament.”

FAO (2000) “The state of world fisheries and aquaculture 2000. Electronic edition. Available at: <http://www.fao.org/docrep/003/x8002e/x8002e00.htm>. accessed 02.03.2020.”

FAO (2011) “ Handling of fish and fish products Fisheries and aquaculture department, Rome. Retrieved February 2017.”

FAOSTAT (2001) “FAO statistical databases, fisheries data (2001). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. Available from <http://www.fao.org> <http://www.fao.org>.”

Farakos, S. and Frank, J. (2014) *The Microbiological Safety of Low Water Activity Foods and Spices*. New York, NY: Springer New York. doi: 10.1007/978-1-4939-2062-4.

Fernandes, T. F. , M. K. L. & R. P. A. (2000) “Monitoring and regulation of marine aquaculture in Europe. Journal of Applied Ichthyology, 16, 138–143.”

GEA (2010) “Gelatin Processing Aids. Vol. 2010, GEA Group, Hudson.”

Gelin, B. G. and Broome, C. V. (1989) “Listeriosis. Jama, 261, 1313-1320.”

Gellin, B. G. *et al.* (1991) “he epidemiology of listerioses in the United States- 1986, Listeriosis Study Group. American Journal of Epidemiology, 133, 392-401.”

Gigliotti, J. C. (2007) “‘Determination of the nutritional value, protein quality and safety of krill protein concentrate isolated using an isoelectric solubilization/precipitation technique’ (2007). Graduate Theses, Dissertations, and Problem Reports. 2555.”

Goulet, V. and Marchetti, P. (1996) “Listeriosis in 225 non-pregnant patients in 1992: clinical aspects and outcome in relation to predisposing conditions. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 28, 367–374.”

Grigorakis, K. (2007) “Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review,” *Aquaculture*, 272(1–4), pp. 55–75. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.062.

Guerard, F., Guimas, L. and Binet, A. (2002) “Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation,” *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19–20, pp. 489–498. doi: 10.1016/S1381-1177(02)00203-5.

Gustavsson. *et al.* (2011) “Global food losses and FW: Extent, causes and prevention. Rome, FAO.”

Gustavsson, J. , *et al.* (2011) “GLOBAL FOOD LOSSES AND FOOD WASTE: Extent, Causes and Prevention. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. <<http://www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e00.pdf>> (accessed 05.22.12).”

Gustavsson, J. *et al.* (2011) “Global Food Losses and Food Waste, Food and Agriculture Organization of the United Nations.”

Halim, A., Khoo, TL. and Yussof, S. (2010) “Biologic and synthetic skin substitutes: An overview. *Indian J Plast Surg* 43(Suppl): S23–S28.”

Hamada, M. *et al.* (1995) “ Inorganic constituents of bone of fish. *Fish. Sci.*, 63 (3), 517–520.”

Hayat, R. *et al.* (2010) “Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiol*, 579-598.”

Herpandi, Huda, N. and Adzitey, F. (2011) “Fish Bone and Scale as a Potential Source of Halal Gelatin,” *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 6(4), pp. 379–389. doi: 10.3923/jfas.2011.379.389.

Huber, I. *et al.* (2004) “ Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *J Appl Microbiol*. 96: 117-132.”

Huda, Abdullah and Babji (1999) “Halal Issues in Processing Suimi and Surimi-Based Food Products. Vol. 5., INFOFISH, Malaysia, pp: 45-48.”

ICMSF (1998) “Micro-organisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities. London, Blackie Academic & Professional.”

ISO 4832: (2006) “Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — Colony-count technique.”

ISO 6579-1: 2002 (no date) “Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp.”

ISO 11290-1:1996/AMD 1: (2004) “Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* — Part 1: Detection method — Amendment 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data.”

ISO 16649-2: (2001) “Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — Colony-count technique.”

- Iversen, C. and Forsythe, S. (2003) “Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula,” *Trends in Food Science & Technology*, 14(11), pp. 443–454. doi: 10.1016/S0924-2244(03)00155-9.
- Jay, J. M. (2000) “Modern Food Microbiology. Gaithersberg, Maryland, Aspen Publishers Inc.”
- Jensen A. and et al. (1994) “Risk of listeriosis in Denmark, 1989-1990. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 26, 171-178.”
- Jongjareonrak, A. *et al.* (2005) “Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper. Food Chem., 93: 475-484.”
- Jónsson, A. , Ásbjörnsson, B. , and Arason, S. (2014) “Slegist um slógið. Reykjavík: Matís.”
- Kandyliari, A. *et al.* (2020) “Nutrient Composition and Fatty Acid and Protein Profiles of Selected Fish By-Products,” *Foods*, 9(2), p. 190. doi: 10.3390/foods9020190.
- Kárason, J. T. and Sveinþórsdóttir, R. (2014) “Product development of dried fish skin for human consumption. Matís Report 32-14, 14 p.”
- Karayannakidis, Panagiotis. D. and Zotos, A. (2013) “Fish Processing By-Products as a Potential Source of Gelatin: A Review.”
- Kasankala, L. M. *et al.* (2007) “Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catapharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. Bioresour. Technol., 98: 3338-3343.”
- Kim S.K, M. E. (2006) “Bioactive compounds from marine processing byproducts-A review. Food Research International. 2006; 39(4):383-93.”
- Kim, S.K. and Mendis, E. (2006) “Bioactive compounds from marine processing byproducts – A review,” *Food Research International*, 39(4), pp. 383–393. doi: 10.1016/j.foodres.2005.10.010.
- Kiran, E. U. , *et al.* (2014) “Bioconversion of FW to energy: a review. Fuel. 134, 389-399.”
- Koeth, RA. *et al.* (2013) “Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. Nat Med. 2013;19(5):576–585. doi:10.1038/nm.3145.”
- Lansdowne *et al.* (2009) “Survival of *Escherichia coli* after isoelectric solubilization/precipitation of fish. Journal of Food Protection, 72(7), 1398e1403.”
- Lansdowne, L. *et al.* (2009) “Survival of *Listeria innocua* after Isoelectric Solubilization and Precipitation of Fish Protein,” *Journal of Food Science*, 74(4), pp. M201–M205. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01144.x.
- Lekang, O. I. , (2013) “Aquaculture Engineering, USA.”
- Levin, R. , *et al.* (1988) “Preparation of fish silage with phosphoric acid and potassium sorbate. Journal of food biochemistry, 253-259.”

- Lievensse, L. C. and van't Riet, K. (1994) *Convective drying of bacteria*. doi: 10.1007/BFb0008734.
- Lin, C. S. K. , *et al.* (2013) "2013. FW as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels. Current situation and global perspective. *Energ Environ. Sci.* 6, 426–464."
- Lin, Y. K. and Liu, D. C. (2006) "Effect of pepsin digestion at different temperatures and time on properties of telopeptide-poor collagen from bird feet. *Food Chem.*, 94: 621-625."
- Liston, J. (1980) "Microbiology in Fishery Science. In: Connel, J.J., Ed., *Advances in Fishery Science and Technology*, Fishing New Books, Farnham, 138-157."
- Little, D. , and Edwards, P. , (2003) "Integrated livestock-fish farming systems, USA."
- Lorber, B. (1997) "Listeriosis. *Clinical Infectious Diseases*, 24:1."
- Magnússon, S. *et al.* (2017) "Regenerative and antibacterial properties of acellular fish skin grafts and human amnion/chorion membrane: Implications for tissue preservation in combat casualty care. *Mil Med* 182(Suppl 1): 383–8."
- Marmon, S. K., Liljelind, P. and Undeland, I. (2009) "Removal of Lipids, Dioxins, and Polychlorinated Biphenyls during Production of Protein Isolates from Baltic Herring (*Clupea harengus*) Using pH-Shift Processes," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17), pp. 7819–7825. doi: 10.1021/jf901266v.
- Martínez-Alvarez, O., Chamorro, S. and Brenes, A. (2015) "Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review," *Food Research International*, 73, pp. 204–212. doi: 10.1016/j.foodres.2015.04.005.
- Mena, C. *et al.* (2003) "Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, 213-216."
- Mishra, N. , and Chandra, R. (2012) "Development of functional cookie from soy flour and rice bran. *Int. J. Agric. Food Sci.*, 2, 14–20."
- Morgan, C. A. *et al.* (2006) "Preservation of micro-organisms by drying; A review," *Journal of Microbiological Methods*, 66(2), pp. 183–193. doi: 10.1016/j.mimet.2006.02.017.
- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B. and Duodu, K. G. (2004) "Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Nates linoticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloid*, 18: 582-591."
- Nagai, T. *et al.* (2000) "Isolation and characterization of collagen from rhizistomous jellyfish (*Rhopilema asammushi*). *Food Chem.*, 70: 205-208."
- Nagai, T. and Suzuki N. (2000) "Isolation of collagen from fish waste material - skin, bone and fins. *Food Chem.*, 68: 277-281."

- Nascimento, Maristela. *et al.* (2012) “Inactivation of Salmonella during cocoa roasting and chocolate conching. *International journal of food microbiology*. 159. 225-9. 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.017. .”
- Nataro, J. P. and Kaper, J. B. (1998) “Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11: 142-201.”
- Ockerman, H. and Hanson, C. (2000) “Animal by products processing and utilisation. Pennsylvania: Tecnomomic Publishing Company.”
- Oikonomou, I., Halatsi, K. and Kyriacou, A. (2008) “Selective PCR: a novel internal amplification control strategy for enhanced sensitivity in Salmonella diagnosis.”
- Oonaka, K. *et al.* (2010) “Powder infant formula milk contaminated with *Enterobacter sakazakii*. *Jpn J Infect Dis* 63(2):103–7.”
- Parfitt, J. & Barthel, M. & Macnaughton, S. (2010). Food Waste within Food Supply Chains: Quantification and Potential for Change to 2050. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 365. 3065-81. 10.1098/rstb.2010.0126.
- Paritosh, K. , *et al.* (2017) “FW to Energy: An Overview of Sustainable Approaches for FW Management and Nutrient Recycling. *BioMed Research International*, 2017.”
- Recital 8 (2008) “Directive 2008/98/EC, Official Journal of the European Union.”
- Regulation (EC) No 178 (2002) “ of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.”
- Regulation (EC) No 852 (2004) “of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs.”
- Robinson, J. J. (1997) “Comparative biochemical analysis of sea urchin and rat tail tendon. *Comp. Biochem. Phys. B.*, 117: 307-313.”
- Rustad, T., Storror, I. and Slizyte, R. (2011) “Possibilities for the utilisation of marine by-products,” *International Journal of Food Science & Technology*, 46(10), pp. 2001–2014. doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x.
- Ryser, E. T. and Donnelly, C. W. (2001) “ Ryser E.T. and Donnelly C.W. (2001) *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Eds. American Public Health Association, 343- 356.”
- Shahidi, F. and Janak Kamil, Y. V. A. (2001) “Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry,” *Trends in Food Science & Technology*, 12(12), pp. 435–464. doi: 10.1016/S0924-2244(02)00021-3.
- Shewan, J. M. (1977) “The Bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In *Proceedings of handling, processing and marketing of tropical fish conference*. Tropical Products Institute, London, pp 51-66. Tropical Products Institute, London.”

Shoulders, M. D. and Raines, R. T. (2009) "Collagen structure and stability. *Annu. Rev. Biochem.* 2009, 78, 929–958."

da Silva do Nascimento, M. *et al.* (2010) "Enteropathogens in cocoa pre-processing," *Food Control*, 21(4), pp. 408–411. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.06.015.

Slutsker, L. and Schuchat, A. (1999) "Listeriosis in humans. In E.T. Ryser and Marth, *Listeria listeriosis and food safety* (2nd edition, pp.75–95, New York, NY: Marcel Dekker, Inc."

Smelt, J. P. and Brul, S. (2014) "Thermal Inactivation of Microorganisms," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(10), pp. 1371–1385. doi: 10.1080/10408398.2011.637645.
Stenmarck, Å. & J. C. & Q. T. & M. Graham. (2016) "Estimates of European food waste levels. 10.13140/RG.2.1.4658.4721."

Tahergorabi, R. *et al.* (2012) "Functional food products made from fish protein isolate recovered with isoelectric solubilization/precipitation," *LWT - Food Science and Technology*, 48(1), pp. 89–95. doi: 10.1016/j.lwt.2012.02.018.

Tang, J. and Saito, T. (2015) "Biocompatibility of novel type I collagen purified from tilapia fish scale: An in vitro comparative study. *Biomed Res Int* 2015: 139476."

Taskaya, L. *et al.* (2009) "Compositional Characteristics of Materials Recovered from Whole Gutted Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Using Isoelectric Solubilization/Precipitation," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(10), pp. 4259–4266. doi: 10.1021/jf803974q.

Tidwell, J. H. & Allen, G. L. (2001) "Fish as food: aquaculture's contribution. Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. *EMBO Reports*, 21, 958–963."

Torres, J. A. *et al.* (2007) "Recovery of by-products from seafood processing streams," in *Maximising the Value of Marine By-Products*, pp. 65–90. doi: 10.1533/9781845692087.1.65.
Tuck, C. O. *et al.* (2012) "Valorization of biomass: deriving more value from waste. *Science* 337, 695–699."

USDA/Agricultural Research Service, 2011. "New freeze-dry method good for processing fish." *ScienceDaily*, 3 August 2011.
<www.sciencedaily.com/releases/2011/08/110801120345.htm>.

Venugopal, V., Chawla, S. P. and Nair P. M. (1996) "Spray dried protein powder from threadfin beam: Preparation, properties and comparison with FPC type B. *Journal of Muscle Foods*, 7, 55–58."

Vidotti, R. M., Viegas, E. M. M. and Carneiro, D. J. (2003) "Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials," *Animal Feed Science and Technology*, 105(1–4), pp. 199–204. doi: 10.1016/S0377-8401(03)00056-7.

Wilson, B., Danilowicz, B. S. and Meijer, W. G. (2008) “The Diversity of bacterial communities associated with Atlantic Cod, *Gadus morhua*. *Microb. Ecol.* 55 (3): 425-434.”

Wyatt, B. & McGourty, G. (1990) “Use of marine by-products on agricultural crops. International By- Products Conference. p187-195. Anchorage: Alaska, USA.”

Yamada S *et al.* (2014) “Potency of fish collagen as a scaffold for regenerative medicine. *Biomed Res Int* 2014: 302932.”

Zengin G and Afşar A (2011) “Use of Natural Fat Emulsions in Fatliquoring Process and Investigation of Fatty Spue Formation, *Journal of American Leather Chemists Association*, 106(3),83-91, 2011.”

Zhou, P. and Regenstein, J. M. (2004) “Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin. *J. Food Sci.*, 69: C393-C398.”

Zhou, P. and Regenstein, J. M. (2005) “Effects of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skin gelatin extraction. *J. Food Sci.*, 70: C392-C396.”

Zhou, T. *et al.* (2016) “Electrospun tilapia collagen nanofibers accelerating wound healing via inducing keratinocytes proliferation and differentiation. *Colloids Surf B Biointerfaces* 143: 415–22 .”

ΚΩΔΙΚΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΠΟΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΩΝ ΚΟΙΝΗΣ ΧΡΗΣΗΣ. ΑΡΘΡΟ 41-2 ΕΚΔΟΣΗ 4 «Μαγιονέζα-Σάλτσες και Παρεμφερή Προϊόντα», 2014. Available at <http://www.gcsf.gr/media/trofima/41-iss4.pdf> accessed 10.4.2020

Παράρτημα

Έρευνα προς τους καταναλωτές για την χρήση υποπροϊόντων ψαριών στα τρόφιμα στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής εργασίας του Στέφανου Τζέλλα Κουκά ΠΜΣ Χημεία Τροφίμων και Διατροφή, του τμήματος Επιστήμη Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

1. Φύλο
 - Άνδρας
 - Γυναίκα
 - Άλλο
2. Ηλικία.
 - 15–24
 - 25–34
 - 35–44
 - 45–54
 - 55 και άνω
3. Μορφωτικό επίπεδο
 - Λυκειακή επιμόρφωση
 - Απόφοιτος Ιδιωτικού Κολεγίου/ΙΕΚ
 - Απόφοιτος ΑΕΙ/ΤΕΙ
 - Κάτοχος μεταπτυχιακού/διδακτορικού
4. Οικογενειακή κατάσταση
 - 'Αγαμος/η '
 - Έγγαμος/η χωρίς παιδιά '
 - Έγγαμος/η με παιδιά
 - Μονογονεϊκή οικογένεια
 - Διαζευγμένος/η , Χήρος/α
5. Πόσοι ενήλικες ζουν στο νοικοκυριό σας, συμπεριλαμβάνοντας και εσάς
 - 1
 - 2
 - 3
 - 4
 - 5 ή περισσότεροι
6. Πόσα ανήλικα παιδιά ζουν στο νοικοκυριό σας (συμπεριλαμβάνοντας τον εαυτό σας, εάν είστε ανήλικος).
 - 1
 - 2
 - 3
 - 4
 - 5 ή περισσότερα

7. Ατομικό Μηνιαίο Εισόδημα
- <500€
 - 501€ - 800€
 - 801€ - 1200€
 - 1201€ - 1500€
 - >1501€
 - Δεν γνωρίζω/Δεν απαντώ
8. Χρήματα που δαπανάτε κατά μέσο όρο εβδομαδιαίως για την αγορά τροφίμων κατ' άτομο στην οικογένεια σας: (όλα τα γεύματα, φαγητό απέξω, εστιατόρια, σνακ κ.α.)
- έως 50€
 - 51-100€
 - 101-150€
 - 151-200€
 - 201- και άνω
 - Δεν γνωρίζω/ Δεν απαντώ
9. Ποιός αναλαμβάνει τα ψώνια για το σπίτι σας;
- Εγώ, πάντοτε.
 - Εγώ, τις περισσότερες φορές.
 - Άλλοτε Εγώ, Άλλοτε Άλλος (σύζυγος, γονιός, συγγάτοικος)
 - Άλλος, Τις Περισσότερες Φορές (σύζυγος, γονιός, συγγάτοικος)
 - Άλλος, Πάντοτε (σύζυγος, γονιός, συγγάτοικος)
10. Κατά την παραγωγή τροφίμων σε εργοστασιακή κλίμακα, ένα σημαντικό μέρος της πρώτης ύλης απορρίπτεται (πχ φλούδες και σπόροι από φρούτα, οστά, δέρμα και χόνδροι από σφάγια και τυρόγαλο κατά την τυροκόμηση). Πιστεύετε ότι αποτελούν πρόβλημα; (περιβάλλον, οικονομία και σιτιστικές ανισότητες.)
- Ναι, ιδιαίτερο πρόβλημα.
 - Ναι.
 - Δεν γνωρίζω.
 - Ενδεχομένως Όχι
 - Όχι
11. Θεωρείτε πως η σπατάλη των τροφίμων αποτελεί πρόβλημα; (περιβάλλον, οικονομία και σιτιστικές ανισότητες.)
- Ναι, ιδιαίτερο πρόβλημα.
 - Ναι.
 - Δεν γνωρίζω.
 - Ενδεχομένως Όχι
 - Όχι

12. Πόσο συχνά καταναλώνετε ψάρι?
- Πάνω από 3 φορές την εβδομάδα
 - 1-3 φορές την εβδομάδα
 - 1-3 φορές τον μήνα
 - Περιστασιακά
 - Ποτέ
13. Θα καταναλώνατε περισσότερο ψάρι εάν ήταν φθηνότερο είτε πιο εύκολο στην προετοιμασία και την κατανάλωση του.
- Συμφωνώ απολύτως
 - Συμφωνώ
 - Ούτε συμφωνώ/Ούτε διαφωνώ
 - Διαφωνώ
 - Διαφωνώ απολύτως
14. Θα επιλέγατε τρόφιμα τα οποία περιέχουν ψάρι ή προϊόντα ψαριού στα συστατικά τους : (πχ κόκκινη σάλτσα για μακαρόνια με γεύση ψάρι ή συνοδευτικό spread για θαλασσινά τραπέζια κ.α.)
- Συμφωνώ απολύτως
 - Συμφωνώ
 - Ούτε συμφωνώ/Ούτε διαφωνώ
 - Διαφωνώ
 - Διαφωνώ απολύτως
15. Κατά την μεταποίηση των Ψαριών προκύπτουν υποπροϊόντα (κεφάλια, οστά, δέρμα κ.α). Πιστεύετε ότι μπορούν να φανούν χρήσιμα στον άνθρωπο, ώστε να μην απορριφθούν στο περιβάλλον ;
- Ναι
 - Μάλλον ναι.
 - Ίσως, δεν γνωρίζω
 - Μάλλον όχι
 - Όχι.
16. Ποιος είναι ο σημαντικότερος παράγοντας, για εσάς, κατά την αγορά ενός τρόφιμου ;
- Τιμή
 - Γεύση, υφή κ.α οργανοληπτικά χαρακτηριστικά
 - Διατροφικά στοιχεία
 - Άλλο.

17. Θα καταναλώνετε τρόφιμο που περιέχει ή αποτελείται από τα συγκεκριμένα υποπροϊόντα ψαριών? (πχ κόκκινη σάλτσα για μακαρόνια με γεύση ψάρι ή συνοδευτικό spread για θαλασσινά τραπέζια κ.α.)
- Ναι
 - Μάλλον ναι.
 - Ίσως, δεν γνωρίζω
 - Μάλλον όχι
 - Όχι.
18. Εάν η παραπάνω απάντησή σας ήταν αρνητική, ποιος ο λόγος?(εάν ήταν θετική, προχωρήστε στην επόμενη ερώτηση)
- Δεν μου αρέσει η γεύση του ψαριού.
 - Καταναλώνω ψάρι, αλλά το προτιμώ νωπό και ολόκληρο.
 - Είμαι επιφυλακτικός/η προς νέα προϊόντα ή/και περίπλοκες συνταγές.
 - Με απωθεί η ιδέα ότι περιέχει κεφάλια, οστά κ.α.
 - Έχω αμφιβολίες για την ασφάλεια ή/και την ποιότητα αυτού του τροφίμου.
 - Άλλο
19. Εάν η παραπάνω απάντησή σας ήταν θετική, ποιος ο λόγος?(εάν ήταν αρνητική, προχωρήστε στην επόμενη ερώτηση)
- Τα θρεπτικά συστατικά που παρέχει (ω-3 λιπαρά οξέα, ασβέστιο κ.α.)
 - Η χαμηλή τιμή του σε σχέση με το ολόκληρο ψάρι.
 - Το γεγονός ότι η παραγωγή του, προωθεί την μείωση της σπατάλης τροφίμων
 - Η γεύση του σε σχέση με ένα αντίστοιχο τρόφιμο, που δεν διαθέτει γεύση ψαριού. '
 - Άλλο.
20. Πως αξιολογείτε την γενική ιδέα ενός τροφίμου(πχ σάλτσα για μακαρόνια ή συνοδευτικό spread για θαλασσινά τραπέζια κ.α.), το οποίο διαθέτει φυσική γεύση ψαριού και θρεπτικά στοιχεία(ω-3 λιπαρά οξέα, ασβέστιο κ.α) προερχόμενα από τα συστατικά του (οστά, κεφάλια, δέρμα και πτερύγια).
- Πολύ Καλή/Πολύ Ενδιαφέρουσα
 - Καλή/Ενδιαφέρουσα Αδιάφορη/Δεν γνωρίζω
 - Κακή
 - Πολύ Κακή/Απαράδεκτη