



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ & ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία

Χρήση σύγχρονων αυτοματοποιημένων μεθόδων πολυφασματικής ανάλυσης
για την εκτίμηση της αλλοίωσης του ψαριού τσιπούρα

Ισιδώρα Γ. Μιχαλιώδη

Επιβλέπων καθηγητής:

Νικόλαος Χωριανόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ, 2024

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία

Χρήση σύγχρονων αυτοματοποιημένων μεθόδων πολυφασματικής ανάλυσης
για την εκτίμηση της αλλοίωσης του ψαριού τσιπούρα

“Use of modern automated multispectral analysis methods
for the assessment of spoilage in seabream fish”

Ισιδώρα Γ. Μιχαλιώδη

Εξεταστική επιτροπή:

Νικόλαος Χωριανόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Ευστάθιος Πανάγου, Καθηγητής ΓΠΑ

Ελευθέριος Δροσινός, Καθηγητής ΓΠΑ

Χρήση σύγχρονων αυτοματοποιημένων μεθόδων πολυφασματικής ανάλυσης για την εκτίμηση της αλλοίωσης του ψαριού τσιπούρα

*ΠΜΣ Επιστήμη & Τεχνολογία Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Μικροβιολογίας & Βιοτεχνολογίας Τροφίμων*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια η ποιότητα των ιχθυρών εγείρει όλο και περισσότερο το επιστημονικό και καταναλωτικό ενδιαφέρον λόγω της γρήγορης αλλοίωσής του και των αυξανόμενων οικονομικά υποκινούμενων περιστατικών νοθείας (food adulteration). Οι ταχείες μέθοδοι εκτίμησης της ποιότητας των ιχθυρών αποτελούν πεδίο ιδιαίτερου επιστημονικού ενδιαφέροντος με τα κύρια πλεονεκτήματά τους να αφορούν στην ταχύτητα και στη μη παρεμβατική φύση τους επί των προς μελέτη δειγμάτων.

Κατά την πειραματική διαδικασία της συγκεκριμένης μελέτης, διερευνήθηκαν μικροβιολογικά, οργανοληπτικά και φασματοσκοπικά (με την τεχνική της πολυφασματικής απεικόνισης) δείγματα φιλέτου τσιπούρας της εταιρίας AVRAMAR. Ο όγκος των διερευνούντων δειγμάτων προέκυψε από τη διαφορετική προέλευσή τους (διάφορα καταστήματα λιανικής και υδατοκαλλιέργεια) καθώς και από τις διαφορετικές συνθήκες συντήρησης και θερμοκρασίας (2°C, 4°C/ αερόβιες και αναερόβιες) ενώ οι αναλύσεις πραγματοποιούνταν κατά τη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης (storage experiment). Η οργανοληπτική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε από συγκεκριμένο πάνελ ατόμων/ αξιολογητών και η πολυφασματική απεικόνιση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση δύο διαφορετικών συσκευών πολυφασματικής απεικόνισης (Videometerlab2, Videometerlite) με τα οποία λήφθηκαν εικόνες των δειγμάτων από την κάθε πλευρά της σάρκας και του δέρματος.

Τα μικροβιολογικά και πολυφασματικά δεδομένα που εξήχθησαν, αναλύθηκαν με τη μέθοδο γραμμικής παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων PLS-R με σκοπό τη δημιουργία μοντέλου ικανού να προβλέψει την ποιότητα του φιλέτου τσιπούρας (συσχέτιση μικροβιολογικών αναλύσεων και πολυφασματικών δεδομένων).

Από τα αποτελέσματα του πειράματος, ο *Pseudomonas* spp. φαίνεται να είναι ο επικρατέστερος αλλοιογόνος μικροοργανισμός της τσιπούρας. Η θερμοκρασία και οι συνθήκες αποθήκευσης των φιλέτων φαίνεται να έχουν επηρεάσει τη μικροβιακή ανάπτυξη, με τις συνθήκες skin packaging

και τη χαμηλή θερμοκρασία αποθήκευσης να λειτουργούν επιβραδυντικά στην υποβάθμιση της ποιότητας των δειγμάτων, ωστόσο τα μοντέλα πρόβλεψης φαίνεται να εμφανίζουν όχι και τόσο ικανοποιητικές αποδόσεις. Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για την απεικόνιση των δειγμάτων φαίνεται να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην απόδοση του μοντέλου πρόβλεψης, με τα δεδομένα από το Videometerlab2 να εκπαιδεύουν καλύτερα τα μοντέλα της παρούσας μελέτης. Για τα μοντέλα πρόβλεψης που αναπτύχθηκαν με τις φασματικές τιμές από τις απεικονίσεις της σάρκας συγκριτικά με του δέρματος της τσιπούρας, φαίνεται οι πρώτες να εμφανίζουν καλύτερες αποδόσεις. Πάντως, σε γενικές γραμμές η προσπάθεια συσχέτισης της μικροβιακής αλλοίωσης με τις απεικονίσεις από τις δύο συσκευές MSI φαίνεται να υπήρξε αποτελεσματική.

Επιστημονική περιοχή: Ποιότητα τροφίμων, ασφάλεια τροφίμων

Λέξεις κλειδιά: τσιπούρα, αλλοίωση, γρήγορες μέθοδοι εκτίμησης της ποιότητας

Use of modern automated multispectral analysis methods for the assessment of spoilage in seabream fish

*MSc Food Science & Technology
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Food Microbiology & Biotechnology*

ABSTRACT

Recently, the fish quality has increasingly drawn scientific and consumer interest due to its spoilage potential and the rising incidents of economically motivated food adulteration. Rapid methods for assessing fish quality have become a field of scientific interest, with speed and non-invasive nature constitute their main advantages.

During the experimental procedures of this study, microbiological, organoleptic, and spectroscopic analyses (using the multispectral imaging technique) were accomplished on seabream fillet samples from the AVRAMAR company. The volume of the investigated samples were evident from different sources (various retail stores and aquaculture), as well as from different storage temperature and conditions (2°C, 4°C/ aerobic and vaccume), while the analyses were carried out during storage (storage experiment). The organoleptic evaluation was performed by a specific panel of individuals/evaluators, and the multispectral imaging of the samples was performed using two different multispectral imaging devices (Videometerlab2, Videometerlite), which imaged the samples from both the flesh and skin sides.

The microbiological and multispectral data extracted were analyzed using the Partial Least Squares Regression (PLS-R) method to create a model capable of predicting the quality of seabream fillets (correlating microbiological analyses with multispectral results).

The experiment results showed that *Pseudomonas* spp. appeared to be the predominant spoilage microorganism in the seabream. The temperature and storage conditions of the fillets seemed to influence microbial growth, with the skin packaging and the low storage temperature working as a delaying factor in the degradation of the samples' quality. The prediction models did not exhibit particularly satisfactory performance. The device used for imaging the samples seemed to play a role in the prediction model's performance, with data from the Videometerlab2 providing better training for the models in this study. For the prediction models developed using spectral values from flesh imaging compared to skin imaging, the former showed better performance. Overall, the

attempt to correlate microbial spoilage with imaging from the two MSI devices appears to have been effective.

Scientific area: food quality, food safety

Keywords: seabream, spoilage, rapid methods for quality assessment

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή της εργασίας μου κ. Νικόλαο Χωριανόπουλο για τη μετάδοση των γνώσεων που μου πρόσφερε, την ευκαιρία που μου παρείχε να συμμετάσχω στο πρόγραμμα TMF (Trace My Fish) και για όλη τη στήριξη και κατανόησή του καθ' όλη τη διάρκεια της παρουσίας μου στο εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, αλλά και κατά τη διάρκεια της συγγραφής της διπλωματικής μου διατριβής.

Ακόμη, ευχαριστώ θερμά τον κ. Γεώργιο Ιωάννη Νυχά για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετάσχω στο πρόγραμμα TMF αλλά και να φιλοξενηθώ ερευνητικά από το εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, καθώς και για το χρόνο που μου αφιέρωσε ως υποψήφια μεταπτυχιακή φοιτήτρια.

Θα ήθελα, ακόμη, να ευχαριστήσω θερμά τους κ. Ευστάθιο Πανάγου και Ελευθέριο Δροσινό για την αποδοχή της πρόσκλησης της συμμετοχής τους ως μέλη της επιτροπής της μεταπτυχιακής μου διατριβής, για τις γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσαν καθ' όλη τη διάρκεια φοίτησής μου στο Π.Μ.Σ., αλλά και για την προθυμία με την οποία πρόσφεραν τη βοήθειά τους κατά την παρουσία και δράση μου στο εργαστήριο.

Η σημαντικότερη συνεισφορά των μεταδιδασκτόρων κ. Αναστασίας Λύτου και κ. Λεμονιάς Χριστίνας Φέγγου χρήζει θερμών ευχαριστιών. Η σθεναρή προσπάθεια μεταλαμπάδευσης των γνώσεων και τεχνογνωσιών, η παρακίνηση, η υπομονή που επέδειξαν, το ενδιαφέρον και η ευκαιρίες που μου έδωσαν είναι μόνο μερικά από τα προσφερόμενά τους, τα οποία με καταστούν ιδιαίτερα ευγνώμων.

Τέλος αποδίδω ευχαριστίες στους γονείς και τους φίλους μου για την κάθε βοήθεια που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια της φοίτησής μου αλλά ειδικά κατά τη διάρκεια της συγγραφής της παρούσας μελέτης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	i
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	v
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	xiii
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΙΧΘΥΡΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΑΓΟΡΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ	1
1.2 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΛΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΩΝ ΙΧΘΥΡΩΝ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΛΙΜΑΤΙΚΗ ΑΛΛΑΓΗ	3
1.3 ΤΟ ΨΑΡΙ ΩΣ ΠΗΓΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ.....	4
1.3.1 Οι πρωτεΐνες ως συστατικό των ιχθύων	5
1.3.2 Τα λιπαρά οξέα ως συστατικό των ιχθύων	6
1.3.3 Τα ιχνοστοιχεία και οι βιταμίνες ως συστατικά των ιχθύων	6
1.4 ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΟΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΙΧΘΥΡΩΝ	7
1.4.1 Συσσώρευση βαρέων μετάλλων στα ιχθυρά	7
1.4.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί στα ιχθυρά, ικανοί να προκαλέσουν ανθρώπινα τροφιμογενή νοσήματα.....	10
1.5 ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΙΧΘΥΡΩΝ	14
1.5.1 Παραγωγή πτητικών ενώσεων (VOCs) από τη μικροβιακή αλλοίωση των ιχθύων.....	14
1.5.2 Οι βιογενείς αμίνες ως δείκτης αλλοίωσης των ιχθύων	15
1.5.3 Η μέθοδος εκτίμησης της ποιότητας για τα ιχθυρά QIM (Quality Index Method).....	17
1.6 ΓΡΗΓΟΡΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	19
 ΣΚΟΠΟΣ.....	22
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 :ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	23
2.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	23
2.1.1 Πειραματικός σχεδιασμός	23
2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	28
2.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ pH	31
2.4 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ	32
2.5 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΠΟΛΥΦΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ (MULTISPECTRAL IMAGING).....	32
2.5.1 Οργανολογία μηχανήματος/ συσκευής πολυφασματικής απεικόνισης (MULTISPECTRAL IMAGING DEVICE)	34
2.5.2 Χαρακτηριστικά συσκευών και διαδικασίες εφαρμογής της πολυφασματικής απεικόνισης	34

2.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ – ΜΟΝΤΕΛΑ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΟΜΧ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΩΝ ΜΕΡΙΚΩΝ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ (PLS-R)	37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	39
3.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΛΑΣΣΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ	39
3.1.1 Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων των δειγμάτων τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες	39
3.1.2 Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων των δειγμάτων τσιπούρας σε συσκευασία κενού (skin packaging)	44
3.1.3 Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων ίδιων οργανισμών τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.....	50
3.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ pH	53
3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ	61
3.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΟΛΥΦΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ (MSI).....	64
3.4.1 Διαγραμματική παρουσίαση της ανάλυσης MSI από τη χρήση της συσκευής Videometerlab2 και σχολιασμός των αποτελεσμάτων.....	64
3.4.2 Διαγραμματική παρουσίαση της ανάλυσης MSI από τη χρήση της συσκευής Videometerlite .	70
3.4.3 Οπτικοποιημένη τάση αλλοίωσης της τσιπούρας με τη χρήση δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τον ίδιο οργανισμό (individual fish experiment) και συσχέτιση με το μικροβιακό τους φορτίο.....	74
3.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ ΜΕΡΙΚΩΝ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ (PLS-R)	78
3.5.1 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυση δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης	79
3.5.2 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυση δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε συνθήκες συντήρησης skin packaging (vacume)	83
3.5.3 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυση δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης	86
3.5.4 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυση δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας.....	90
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	94
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	96

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 3.1: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης.	40
Διάγραμμα 3.2: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης.	41
Διάγραμμα 3.3: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.	42
Διάγραμμα 3.4: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.	43
Διάγραμμα 3.5: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης.	45
Διάγραμμα 3.6: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης.	46
Διάγραμμα 3.7: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.	47
Διάγραμμα 3.8: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.	48
Διάγραμμα 3.9: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για ίδια δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης.	50
Διάγραμμα 3.10: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για ίδια δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια.	51
Διάγραμμα 3.11: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από καταστήματα λιανικής, αποθηκευμένα σε αερόβιες συνθήκες στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.	61
Διάγραμμα 3.12: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από καταστήματα λιανικής, αποθηκευμένα σε συσκευασία κενού στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.	62
Διάγραμμα 3.13: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια, αποθηκευμένα σε αερόβιες συνθήκες στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.	62
Διάγραμμα 3.14: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια, αποθηκευμένα σε συσκευασία κενού στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.	63

Διάγραμμα 3.15: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες από τη μεριά της σάρκας και του δέρματος.....	64
Διάγραμμα 3.16: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες και skin packaging.	65
Διάγραμμα 3.17: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής (SM) και από την υδατοκαλλιέργεια (AQC).	66
Διάγραμμα 3.18: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.	67
Διάγραμμα 3.19: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.	68
Διάγραμμα 3.20: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε skin packaging (vaccume).....	69
Διάγραμμα 3.21: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες από τη μεριά της σάρκας και του δέρματος.....	71
Διάγραμμα 3.22: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες και skin packaging.	71
Διάγραμμα 3.23: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής (SM) και από την υδατοκαλλιέργεια (AQC).	72
Διάγραμμα 3.24: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.	72
Διάγραμμα 3.25: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.	73
Διάγραμμα 3.26: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε skin packaging (vaccume).....	73
Διάγραμμα 3.27: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (1) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.....	79
Διάγραμμα 3.28: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.	80
Διάγραμμα 3.29: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (5) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα της σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.....	81
Διάγραμμα 3.30: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.	82
Διάγραμμα 3.31: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (2) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging.....	83
Διάγραμμα 3.32: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.	84

Διάγραμμα 3.33: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (6) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging.....	85
Διάγραμμα 3.34: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.....	85
Διάγραμμα 3.35: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (3) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.....	87
Διάγραμμα 3.36: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.....	87
Διάγραμμα 3.37: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (7) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.....	89
Διάγραμμα 3.38: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.....	89
Διάγραμμα 3.39: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (3) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες αποθήκευσης.	91
Διάγραμμα 3.40: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.....	91
Διάγραμμα 3.41: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (8) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες αποθήκευσης.	92
Διάγραμμα 3.42: Προβλεπόμενες τιμές OMX (Ypredicted) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.....	93

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Οπτικοποίηση της μόλυνσης των βορειοανατολικών μεσογειακών υδάτων με βαρέα μέταλλα (Özbay, 2023).....	8
Εικόνα 1.2: Εντεροπαθογόνα βακτήρια <i>Vibrio</i> (Facon & Desforjes, 2021).....	11
Εικόνα 1.3: Το βακτήριο του γένους <i>Salmonella</i> (Holbert et al., 2024).....	12
Εικόνα 1.4: Το βακτήριο <i>Clostridium botulinum</i> σε απεικόνιση 3D (Mckenzie, 2018).	14
Εικόνα 1.5: Μηχανισμοί σχηματισμού νιτρωδών αλάτων που προκύπτουν από την αντίδραση νίτρωσης των αμινών των ιχθυρών (Bulushi et al., 2009).....	16
Εικόνα 1.6: Ο αισθητηριακός τροχός QIM, με τα χαρακτηριστικά αξιολόγησης και την ορολογία που χρησιμοποιείται όσον αφορά στα ιχθυρά (Freitas et al., 2021).	19
Εικόνα 2.1: Απεικόνιση της ποικιλίας προμήθειας των δειγμάτων για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.	23
Εικόνα 2.2: Φιλεταρισμένη τσιπούρα σε skin packaging προμηθευόμενη από τη λιανική πώληση.	24
Εικόνα 2.3: Απεικόνιση σχεδιαγράμματος του πειραματικού σχεδιασμού για το Πείραμα 1.	24
Εικόνα 2.4: Συσκευασία τσιπούρας που ανοίχτηκε και φιλεταρίστηκε εντός του εργαστηρίου την ημέρα 0 του πειράματος.	25
Εικόνα 2.5: Φιλεταρισμένη τσιπούρα σε skin packaging προμηθευόμενη από την υδατοκαλλιέργεια.	26
Εικόνα 2.6: Δείγματα τσιπούρας προς πολυφασματική απεικόνιση στα μηχανήματα Videometer lab2 και Videometer lite.	27
Εικόνα 2.7: Απεικόνιση σχεδιαγράμματος του πειραματικού σχεδιασμού για το Πείραμα 3.	27
Εικόνα 2.8: Προμήθεια δειγμάτων τσιπούρας από το θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας.	28
Εικόνα 2.9: Χρήση συσκευής Stomacher προς ομογενοποίηση.	29
Εικόνα 2.10: Η όψη του πάγκου εργασίας πριν τον εμβολιασμό στα θρεπτικά υλικά της OMX.	29
Εικόνα 2.11: Καταμέτρηση αποικιών θειοπαραγωγικών βακτηρίων σε θρεπτικό υλικό IRON AGAR.	31
Εικόνα 2.12: Η συσκευή πολυφασματικής απεικόνισης Videometer lab2 που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.	32
Εικόνα 2.13: Η φορητή συσκευή πολυφασματικής απεικόνισης Videometer lite.	33
Εικόνα 2.14: Η διαδικασία της απεικόνισης δείγματος φιλέτου τσιπούρας τη χρονική στιγμή πριν την περίκλειση του δείγματος στη σφαίρα της συσκευής προς απεικόνιση. Για τη διαδικασία της απεικόνισης ως φόντο χρησιμοποιούνταν μπλε χρώματος δισκίο ενώ για τη βαθμονόμηση, δισκίο χρώματος λευκού.	33
Εικόνα 2.15: Οργανολογία συσκευής πολυφασματικής απεικόνισης. Για τα ανάλογα αριθμημένα σημεία που υποδεικνύονται στην εικόνα, η λειτουργία του κάθε μέρους του οργάνου είναι: 102: ηλεκτρονική κάμερα, 105: μέσο κατανομής της ακτινοβολίας του φωτός, 106: κοιλότητα/σφαίρα ενσωμάτωσης της ακτινοβολίας, 107: εσωτερικό τοίχωμα σφαίρας επιστρωμένο με υλικό αντανάκλασης φωτός, 109: οπή της κοιλότητας για την κάμερα/ θύρα κάμερας, 110: οπή της κοιλότητας για το προς απεικόνιση αντικείμενο/ θύρα αντικειμένου, 104: πηγή φωτός, 120: λάμπα φωτεινής ακτινοβολίας, 114: συνδεδεμένος ηλεκτρονικός υπολογιστής με τη συσκευή, 115: βραχίονας στερέωσης, 111: κινητήρας ενεργειακής τροφοδότησης, 112: επίπεδο τοποθέτησης του	

φορέα, 103: φορέας του προς απεικόνιση αντικειμένου, 113: αντικείμενο προς απεικόνιση (www.videometer.com) (Carstensen & Hansen, 2006a).....	34
Εικόνα 2.16: Απεικόνιση του εσωτερικού της σφαίρας της συσκευής Videometer lab. Η εικόνα υποδεικνύει την τοποθέτηση των διαφορετικών διόδων της φωτεινής ακτινοβολίας για τα διάφορα μηκη κύματος και τη λευκή εσωτερική επίστρωση της κοιλότητας (Carstensen et al., 2006b). ..	35
Εικόνα 3.1: Χρωματικές εικόνες σε inverse jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (Α) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.....	75
Εικόνα 3.2: Χρωματικές εικόνες σε jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (Α) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.....	75
Εικόνα 3.3: Χρωματικές εικόνες σε inverse jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (Β) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.....	76
Εικόνα 3.4: Χρωματικές εικόνες σε jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (Β) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.....	76

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Αναφορά των 5 κορυφαίων χωρών παραγωγής υδατοκαλλιέργειας μαζί με την κατανάλωση ιχθυρών (Thilsted et al., 2014).	2
Πίνακας 1.2: Κύρια συστατικά της βιοχημικής σύνθεσης των μυών των ιχθυρών (Maurya et al., 2018).	5
Πίνακας 1.3: Συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων για τον <i>Sparus Aurata</i> των θαλάσσιων υδάτων της Μεσογείου και του Αιγαίου Πελάγους (Bat & Arici, 2018).	10
Πίνακας 3.1: Σύνοψη κρίσιμων μικροβιολογικών τιμών για την OMX του πειράματος σε αερόβιες συνθήκες.	44
Πίνακας 3.2: Σύνοψη κρίσιμων μικροβιολογικών τιμών για την OMX του πειράματος σε συνθήκες skin packaging.	49
Πίνακας 3.3: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.	53
Πίνακας 3.4: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 4°C σε αερόβιες συνθήκες.	53
Πίνακας 3.5: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 2°C σε συσκευασία κενού.	54
Πίνακας 3.6: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 4°C σε συσκευασία κενού.	54
Πίνακας 3.7: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.	55
Πίνακας 3.8: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 4°C σε αερόβιες συνθήκες.	56
Πίνακας 3.9: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 2°C σε συσκευασία κενού.	57
Πίνακας 3.10: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 4°C σε συσκευασία κενού.	58
Πίνακας 3.11: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προερχόμενα από τον ίδιο οργανισμό, προμηθευόμενα από διάφορα σημεία λιανικής κι αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.	59
Πίνακας 3.12: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προερχόμενα από τον ίδιο οργανισμό, προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια κι αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.	60
Πίνακας 3.13: Πορεία μικροβιακού πληθυσμού OMX με το πέρασ της διάρκειας αποθήκευσης του απεικονιζόμενου ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.	77
Πίνακας 3.14: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (1) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.	80
Πίνακας 3.15: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (5) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlite.	82
Πίνακας 3.16: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (2) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.	84
Πίνακας 3.17: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (6) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.	86

Πίνακας 3.18: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (3) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα του δέρματος φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.	88
Πίνακας 3.19: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (7) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlite.	90
Πίνακας 3.20: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (4) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες συντήρησης με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.	92
Πίνακας 3.21: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (8) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες συντήρησης με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlite.	93

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΙΧΘΥΡΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΑΓΟΡΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Οι ιχθύες αποτελούν βασικό διατροφικό στοιχείο για περισσότερους από 3 δισεκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως, με την κατά κεφαλήν κατανάλωση να αυξάνεται από περίπου 9 κιλά ετησίως τη δεκαετία του 1960 σε σχεδόν 20 κιλά το 2017 (FAO, 2020). Ως τρόφιμο το ψάρι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο όσον αφορά στην παροχή θρεπτικών συστατικών σε πολλά ζώα αλλά και στους ανθρώπους κι έχει υψηλή διατροφική αξία. Μια από τις βασικές θετικές επιδράσεις της καθημερινής κατανάλωσης ψαριού είναι η πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων (Chrysohoou et al., 2007; Balami et al., 2019).

Λόγω της υψηλής θρεπτικής αξίας των ψαριών, η αλιεία θεωρείται ολοένα και περισσότερο θεμελιώδες στοιχείο για την αντιμετώπιση των παγκόσμιων διατροφικών ελλείψεων που οδηγούν σε υποανάπτυξη της γνωστικής λειτουργίας, ασθένειες και θανάτους (Rockström et al., 2019; Murray et al., 2017; Golden et al., 2016). Μάλιστα, η κατανάλωση ιχθυρών στις αναπτυγμένες χώρες προωθείται για την πρόληψη χρόνιων ασθενειών προκαλούμενων από δίαιτες χαμηλής διατροφικής ποιότητας και κατανάλωση επεξεργασμένων τροφίμων (FAO, 2018; Murray et al., 2017). Ιδιαίτερα κρίσιμη είναι η συμβολή της αλιείας στην ανθρώπινη υγεία στις αναπτυσσόμενες χώρες και χώρες χαμηλού εισοδήματος, με τον υποσιτισμό να πλήττει περίπου το 13% του πληθυσμού προκαλώντας καθυστέρηση στην ανάπτυξη των παιδιών, μειωμένη ανάπτυξη και υψηλά ποσοστά θνησιμότητας σε όλες τις ηλικίες (FAO, 2018; Vianna et al., 2020). Σε αυτές τις περιοχές, όπου τα θρεπτικά συστατικά είναι αδύνατο να εξασφαλιστούν από άλλες διατροφικές πηγές, η τοπική αλιεία αποτελεί την κύρια πηγή παροχής βασικών θρεπτικών συστατικών για τους εγχώριους πληθυσμούς (Golden et al., 2016; FAO, 2018, Vianna et al., 2020).

Σύμφωνα με τον FAO (2014) για περισσότερους από 3,1 δισεκατομμύρια ανθρώπους η κατανάλωση ψαριών τους εξασφαλίζει τουλάχιστον το 20% της συνολικής πρόσληψης ζωικής πρωτεΐνης, ενώ σύμφωνα με τους Thilsted et al. (2014), παγκοσμίως αντιπροσωπεύουν περίπου το 17% της πρόσληψης ζωικών πρωτεϊνών. Ωστόσο, αυτό το ποσοστό ξεπερνά το 50% σε πολλές χώρες. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει, επίσης, η κατανάλωσή του από μέλλουσες μητέρες, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος των νεογνών. Σε παγκόσμιο επίπεδο τα ιχθυρά καλύπτουν τις αυξημένες μητρικές διατροφικές ανάγκες, διαδραματίζοντας καθοριστικό

ρόλο στην μελλοντική ανάπτυξη του βρέφους την κρίσιμη περίοδο της ανάπτυξής του (το λεγόμενο «παράθυρο των 1000 ημερών») (FAO, 2014).

Εκτός από τα διατροφικά οφέλη της κατανάλωσης αλιευτικών ιχθυρών, η βιομηχανία αλιείας απασχολεί παγκοσμίως εκατομμύρια ανθρώπους, οι περισσότεροι εκ των οποίων αφορούν αναπτυσσόμενες χώρες συμπεριλαμβανομένου ενός μεγάλου αριθμού γυναικών σε μονάδες επεξεργασίας. Το 2014 (Thilsted et al.) απασχολούσε 45 εκατομμύρια ανθρώπους με το εισόδημα από την αλιεία να αποτελεί σημαντική οικονομική συμβολή βιοποριστικά αλλά και διατροφικά.

Σύμφωνα με τον FAO (2014), οι μισοί από τους καταναλωθέντες αλιευτικούς πόρους προέρχονται από την ιχθυοκαλλιέργεια.

Πίνακας 1.1: Αναφορά των 5 κορυφαίων χωρών παραγωγής υδατοκαλλιέργειας μαζί με την κατανάλωση ιχθυρών (Thilsted et al., 2014).

Χώρα	Παγκόσμια κατάταξη παραγωγής υδατοκαλλιέργειας	Ετήσιο ποσοστό % ανάπτυξης των υδατοκαλλιεργειών εντός του 1990-2011	Ιχθυρά καταναλώμενα Kg/κεφάλι/χρόνο (2011)
Κίνα	1	8.9	33.5
Ινδία	2	7.4	5.2
Βιετνάμ	3	14.7	33.6
Ινδονησία	4	8.4	28.9
Μπαγκλαντές	5	10.4	19.7

Ενδεχομένως, τα επίσημα στοιχεία που αφορούν στην κατανάλωση ιχθυρών στις αναπτυσσόμενες χώρες να υποτιμούνται, καθώς η ποσότητα ψαριών που αγοράζονται σε μικρές αγορές ή αλιεύονται από μέλη του νοικοκυριού, παρότι δεν είναι ευκαταφρόνητη, δεν καταγράφεται (Thilsted et al., 2014).

Σύμφωνα με στοιχεία από τον FAO (2024) η υδατοκαλλιέργεια στην Ελλάδα θεωρείται από τις σημαντικότερες οικονομικές δραστηριότητες με την παραγωγή ψαριών εκτροφής να υπερβαίνει την ελεύθερη αλιεία από τις αρχές της νέας χιλιετίας. Στο μεσοδιάστημα 1990- 2000 η παραγωγή

υδατοκαλλιέργειας αυξήθηκε εννέα φορές και έφτασε τους 95000 τόνους. Το 2022 η παραγωγή προϊόντων υδατοκαλλιέργειας υπολογίστηκε σε 140000 τόνους, αποτελούμενη κυρίως από τσιπούρα (70 τόννοι), ευρωπαϊκό λαβράκι (47100 τόννοι) και μεσογειακό μύδι (10700 τόννοι). Η Ελλάδα παρήγαγε το 60 τοις εκατό της τσιπούρας και το 50 τοις εκατό του ευρωπαϊκού λαβρακιού που εκτρέφεται από όλες τις χώρες της ΕΕ το 2022. Περίπου το 80 τοις εκατό της ελληνικής παραγωγής υδατοκαλλιέργειας εξάγεται, κυρίως στην Ιταλία και την Ισπανία και η κατά κεφαλήν κατανάλωση ψαριών και αλιευτικών προϊόντων ήταν περίπου 21,3 κιλά (2019). Το 2023, οι εισαγωγές ψαριών και αλιευτικών προϊόντων αποτιμήθηκαν σε 985 εκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ, ενώ οι εξαγωγές ανήλθαν σε 1 037 εκατομμύρια δολάρια, αριθμοί που επικυρώνουν την Ελλάδα ως χώρα εξαγωγέα αλιευτικών προϊόντων.

1.2 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΛΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΩΝ ΙΧΘΥΡΩΝ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΛΙΜΑΤΙΚΗ ΑΛΛΑΓΗ

Ένα από τα κύρια εμπόδια στην αύξηση της κατανάλωσης ψαριών είναι η αδυναμία εξασφάλισης της διαθεσιμότητάς τους σε τιμές προσιτές για τα χαμηλά εισοδήματα. Η αύξηση του πληθυσμού και της ζήτησης έχει οδηγήσει σε αύξηση των τιμών των ψαριών, και παρόλο που η υδατοκαλλιέργεια έχει συμβάλει στη γεφύρωση αυτού του κενού, το κόστος των ψαριών που παράγονται μέσω υδατοκαλλιέργειας είναι συνήθως υψηλότερο από εκείνο των μικρών, χαμηλής αξίας ειδών που παραδοσιακά καταναλώνονται από τα φτωχότερα κοινωνικά στρώματα. Παρόλα αυτά, είναι ευρέως αναγνωρισμένο ότι ακόμη και μικρές ποσότητες ψαριών μπορούν να βελτιώσουν σημαντικά την ποιότητα των διατροφών των φτωχών κοινοτήτων.

Ο διαρκής αυξανόμενος όγκος των απωλειών των ιχθυρών (food waste) φτάνει έως και το 25% σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες. Αυτές οι απώλειες οφείλονται σε ποικίλους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των οικονομικών προκλήσεων (όπως η ανεπαρκής υποδομή) και της περιορισμένης γνώσης (χαμηλό επίπεδο εκπαίδευσης). Φυσικές απώλειες προκύπτουν από τον ανεπαρκή χειρισμό αποθήκευσης ενώ πρόσθετες απώλειες προκύπτουν όταν τα απόβλητα της επεξεργασίας δεν μετατρέπονται σε βρώσιμα υποπροϊόντα, ή όταν η θρεπτική αξία των ψαριών μειώνεται λόγω υποβάθμισης της ποιότητάς τους κατά την αποθήκευση και επεξεργασία. Επιπλέον, τα παρεμπίπτοντα αλιεύματα και τα απόβλητα μη εμπορικών ειδών που προκύπτουν από τις αλιευτικές δραστηριότητες συμβάλλουν σε σημαντικές απώλειες τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες (Thilsted et al., 2014).

Η κλιματική αλλαγή έχει ήδη σημαντικές επιπτώσεις στην αλιεία, μεταβάλλοντας τη βιοποικιλότητα, την κατανομή, την αφθονία και τη βιολογία των ιχθυοπληθυσμών (Rogers et al., 2019; Cheung & Pauly, 2016). Οι αλλαγές αυτές προκαλούν σημαντικές μετατοπίσεις στη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών, μειώνοντας και ανακατανέμοντας γεωγραφικά την αλιευτική παραγωγικότητα (Hicks et al., 2019; Rogers et al., 2019). Σε παγκόσμιο επίπεδο, προβλέπεται η μείωση των αλιευτικών απολαβών κατά 3 εκατομμύρια τόνους για κάθε 1°C αύξησης της παγκόσμιας θερμοκρασίας, με τα είδη να μετακινούνται απομακρυνόμενα από τις τροπικές περιοχές (Cheung et al., 2010). Η μετανάστευση ορισμένων ειδών ιχθυρών εκτός των αλιευτικών ζωνών ενδεχομένως επιτάσσει της μετατόπιση του αλιευτικού ενδιαφέροντος σε διαφορετικά είδη (Rogers et al., 2019; Pinsky et al., 2018), γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε ελλείψεις βασικών μικροθρεπτικών συστατικών (Golden et al., 2016; Hicks et al., 2019). Αυτό θα αποτελέσει σημαντική πρόκληση για τις μικρές κλίμακας αλιευτικές δραστηριότητες, οι οποίες είναι κρίσιμες για την ασφάλεια τροφίμων και θρεπτικών συστατικών σε χώρες με χαμηλό εισόδημα, καθώς διαθέτουν περιορισμένη κινητικότητα, πόρους και προσαρμοστικότητα στις νέες συνθήκες (Rogers et al., 2019). Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη και η εφαρμογή στρατηγικών διαχείρισης της αλιείας ευαισθητοποιημένες ως προς την κλιματική αλλαγή είναι απαραίτητη για την ενίσχυση της ανθεκτικότητας στις παγκόσμιες μεταβολές και την διασφάλιση της ασφάλειας τροφίμων και ποιότητας των θρεπτικών συστατικών για τους πληθυσμούς που εξαρτώνται από τους θαλάσσιους πόρους (Vianna et al., 2020).

1.3 ΤΟ ΨΑΡΙ ΩΣ ΠΗΓΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

Τα ψάρια αποτελούν σημαντική πηγή απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, ιδιαίτερα μικροθρεπτικών (Golden et al., 2016; Thrilsted et al., 2016). Είναι πλούσια σε απαραίτητα λιπαρά οξέα, βιοδιαθέσιμα μέταλλα και βιταμίνες, με τις συγκεντρώσεις τους να ποικίλλουν ανάλογα με το είδος και τα χαρακτηριστικά του κάθε οργανισμού ψαριού (Hicks et al., 2019; Bene et al., 2015). Πολλά ψάρια αλμυρού νερού, ειδικά τα μικρά πελαγίσια είδη όπως οι σαρδέλες και οι ρέγγες, είναι πλούσια σε απαραίτητα λιπαρά οξέα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως τα ωμέγα-3, και παρουσιάζουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις κορεσμένων λιπαρών συγκριτικά με άλλες πηγές ζωικής πρωτεΐνης, όπως το κόκκινο κρέας από βοδινό (Willett et al., 2019; Domingo et al., 2016). Τα παραπάνω θρεπτικά συστατικά είναι ζωτικής σημασίας για την υποστήριξη της νευρολογικής λειτουργίας και την υγεία του καρδιαγγειακού συστήματος, μειώνοντας την αρτηριακή πίεση και

τον κίνδυνο καρδιακών παθήσεων (Vianna et al., 2020; Murray et al., 2017; Bene et al., 2015; Domingo et al., 2016).

Τα αλιευμένα ιχθυρά αποτελούν βασική πηγή απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, όπως το ασβέστιο, ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος, που είναι ζωτικής σημασίας για την υγεία. Τα ψάρια, ιδιαίτερα τα μικρά πελαγίσια είδη, είναι επίσης εξαιρετικές πηγές βιταμινών Α, Β12 και D (Bogard et al., 2015; Hicks et al., 2019). Με ορισμένα είδη να παρέχουν τουλάχιστον διπλάσια ποσότητα βιταμίνης Α με σημαντικά καλύτερη βιοδιαθεσιμότητα συγκριτικά με τις πηγές βιταμίνης Α των φυτικών τροφίμων (Hicks et al., 2019; Black et al., 2013). Επιπλέον, το σελήνιο, που βρίσκεται στα ελεύθερης αλίευσης θαλάσσια ψάρια, είναι σημαντικό ιχνοστοιχείο για την υγιή μεταβολική λειτουργία και την προστασία από το οξειδωτικό στρες (Vianna et al., 2020).

Η βιοχημική σύνθεση των ιχθυρών παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1.2: Κύρια συστατικά της βιοχημικής σύνθεσης των μυών των ιχθυρών (Maurya et al., 2018).

Υγρασία	66-71%
Πρωτεΐνη	16-21%
Λιπαρά οξέα	0.2-25%
Τέφρα (Μέταλλα)	1.2-1.5%

1.3.1 Οι πρωτεΐνες ως συστατικό των ιχθυρών

Σε σύγκριση με άλλες πηγές πρωτεΐνης, όπως το κοτόπουλο, το πρόβειο κρέας, το χοιρινό και το βοδινό, τα ψάρια είναι μια πιο οικονομική επιλογή πρόσληψής της. Τα ιχθυρά παρέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα, συμπεριλαμβανομένων των αμινοξέων που περιέχουν θείο, όπως η κυστεΐνη και η μεθειονίνη, τα οποία απουσιάζουν από τις φυτικές πρωτεΐνες (Mohanty, 2015; Pal et al., 2018). Αποτελούν σημαντική πηγή ζωικής πρωτεΐνης και προσφέρουν μεγαλύτερο αίσθημα κορεσμού σε σχέση με άλλες πηγές όπως το κοτόπουλο ή το βοδινό (Mohanty, 2015). Επιπλέον, οι μύες των ψαριών χωνεύονται πιο εύκολα από άλλες ζωικές πρωτεΐνες, λόγω του χαμηλότερου περιεχομένου τους σε συνδετικό ιστό (Venkatraman & Chezhian, 2015). Η πεπτικότητα των πρωτεϊνών των ψαριών είναι εξαιρετικά υψηλή, κυμαινόμενη από 85% έως 95% (Pal et al., 2018).

Οι πρωτεΐνες των ψαριών διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην οικοδόμηση και την επιδιόρθωση των μυϊκών ιστών, την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και τη βελτίωση της ποιότητας του αίματος. Επιπλέον, οι ανοσοσφαιρίνες στις πρωτεΐνες των ψαριών βοηθούν στην άμυνα έναντι βακτηριακών και ιογενών λοιμώξεων και συμβάλλουν στη διατήρηση της ισορροπίας των ηλεκτρολυτών και του νερού στο σώμα (Balami et al., 2019). Οι πρωτεΐνες που προέρχονται από τα ψάρια επίσης βοηθούν στη ρύθμιση πολλών σωματικών λειτουργιών (Sujatha et al., 2013).

1.3.2 Τα λιπαρά οξέα ως συστατικό των ιχθύων

Η σύνθεση των λιπαρών οξέων στα ψάρια διαφέρει ανάλογα με παράγοντες όπως το είδος του οργανισμού, η διατροφή καθώς και περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η αλατότητα, η θερμοκρασία, η εποχή αλίευσης, η γεωγραφική τοποθεσία, καθώς και η ελεύθερη ή εκτρεφόμενη προέλευσή τους (Tasbozan & Gokce, 2017). Τα λίπη των ψαριών είναι πλούσια σε μακράς αλυσίδας ωμέγα-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), ειδικά εικοσιπεντανοϊκό οξύ (EPA) και δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA). Τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα παρέχουν πολλαπλά οφέλη για την υγεία, όπως μείωση του κινδύνου εμφράγματος του μυοκαρδίου (Bucher et al., 2002), μείωση της αρτηριακής πίεσης και της συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων στο αίμα (Harris et al., 1997; Balami et al., 2019). Επιπλέον, τα λιπίδια των ψαριών έχουν δείξει θετική επίδραση στην πρόληψη ασθενειών όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις (Simopoulos et al., 2007). Τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα που βρίσκονται στα λιπαρά ψάρια είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των παιδιών και συμβάλλουν στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου (Abraha et al., 2018). Το DHA είναι σημαντικό για τη βέλτιστη ανάπτυξη του εγκεφάλου και του νευρικού συστήματος στα παιδιά, ενώ το EPA βοηθά στη βελτίωση της καρδιαγγειακής υγείας (Mozaffarian & Rimm, 2006). Κατά την εγκυμοσύνη και την περίοδο λοχείας, η παροχή μακρών αλυσίδων ωμέγα-3 PUFA είναι εξαιρετικά σημαντική στα βρέφη, καθώς είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματός τους (James, 2013). Τα λιπίδια και τα λιπαρά οξέα παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο σε διαδικασίες που σχετίζονται με τις κυτταρικές μεμβράνες, όπως η ωσμορύθμιση, η αφομοίωση θρεπτικών συστατικών και η μεταφορά τους (Sujatha et al., 2013).

1.3.3 Τα ιχνοστοιχεία και οι βιταμίνες ως συστατικά των ιχθύων

Τα ψάρια αποτελούν σημαντική πηγή μικροθρεπτικών συστατικών σε μεγάλη βιοδιαθεσιμότητα συγκριτικά με άλλες πηγές (Balami et al., 2019). Το ασβέστιο βρίσκεται στους ιχθύες και ιδιαίτερα στα κόκαλά τους που αποτελούν καλή πηγή του συγκεκριμένου ιχνοστοιχείου, μάλιστα με απορρόφηση συγκρίσιμη με εκείνη του άπαχου γάλακτος (Mozaffarian & Rimm, 2006). Η

πρόσληψή του είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της οστικής πυκνότητας κι επιπρόσθετα τα ιόντα ασβεστίου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε αρκετές μεταβολικές διεργασίες του ανθρώπινου οργανισμού. Μέταλλα όπως το ιώδιο και το σελήνιο βρίσκονται σε μεγάλη περιεκτικότητα στα ιχθυρά (Holben & Smith, 1999; Balami et al., 2019). Τα Μικρά Ιθαγενή Είδη (SIS), τα οποία καταναλώνονται ολόκληρα με τα κεφάλια και τα κόκαλα, μπορούν να αποτελέσουν εξαιρετική πηγή πολλών μετάλλων όπως το ιώδιο, το σελήνιο, ο ψευδάργυρος, ο σίδηρος, το ασβέστιο, ο φώσφορος και το κάλιο (FAO, 2002; Balami et al., 2019). Το σελήνιο, αν και τοξικό σε μεγάλες δόσεις για τον άνθρωπο, είναι ένα σημαντικό μικροθρεπτικό συστατικό, το οποίο λειτουργεί με τη μορφή σεληνοπρωτεϊνών ως συνένζυμο για τη μείωση των αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του θυρεοειδούς αδένος. Τα χαμηλά επίπεδα σεληνίου έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να αυξήσουν τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου, το ποσοστό θανάτου από καρδιαγγειακά νοσήματα και έχουν επίσης συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου και νεφρικής νόσου (Holick, 2008). Τα ψάρια, τέλος, αποτελούν σημαντική πηγή βιταμινών Α και D, καθώς και αρκετών βιταμινών του συμπλέγματος Β (Holic et al., 2008; FAO, 2002).

1.4 ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΟΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΙΧΘΥΡΩΝ

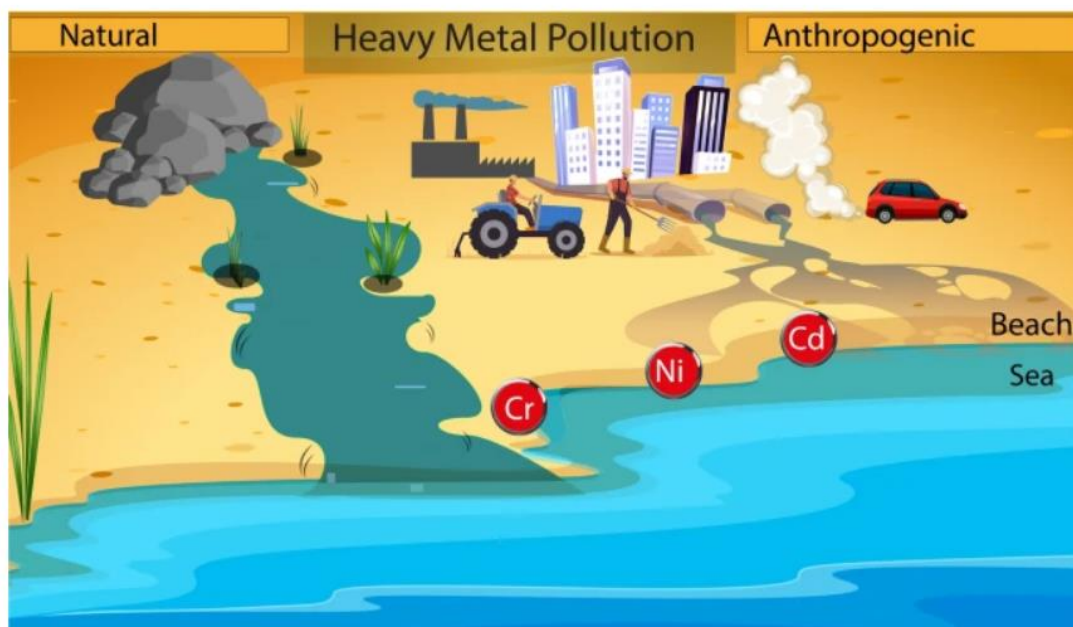
Τα τελευταία χρόνια οι πιθανοί κίνδυνοι που προκύπτουν από την κατανάλωση ιχθυρών προβληματίζουν αυξανόμενα τους καταναλωτές και την επιστημονική κοινότητα και σχετίζονται με χημικούς ρύπους ή τροφιμογενείς ασθένειες που μεταδίδονται λόγω κακής υγιεινής ή ανεπαρκούς ελέγχου ή χειρισμού του συγκεκριμένου τροφίμου (Thilsted et al., 2014).

1.4.1 Συσσώρευση βαρέων μετάλλων στα ιχθυρά

Τα τελευταία χρόνια, η μόλυνση των θαλάσσιων οικοσυστημάτων από βαρέα μέταλλα έχει εξελιχθεί σε παγκόσμιο πρόβλημα. Τα βαρέα μέταλλα μπορεί να εισέλθουν στα θαλάσσια περιβάλλοντα από φυσικές και ανθρωπογενείς πηγές, όπως τα βιομηχανικά ή οικιακά απόβλητα, η χρήση φυτοφαρμάκων και ανόργανων λιπασμάτων, η αλιεία, η ναυτιλία και οι λιμενικές δραστηριότητες, η απορροή μέσω των ποταμών, η έκπλυση από χώρους υγειονομικής ταφής, η γεωλογική διάβρωση του φλοιού της γης και η ατμοσφαιρική απόθεση (Εικόνα 1.1) (Bat, 2014; Bat and Özkan, 2015; Bellinger and Benham, 1978; Bryan, 1984).

Τα βαρέα μέταλλα είναι γνωστά για την εξαιρετικά τοξική τους δράση εδώ και πολλά χρόνια. Απορροφώνται εύκολα μέσω της τροφής αλλά δεν αποβάλλονται εύκολα από τον οργανισμό, οδηγώντας σε συσσώρευση, ακόμη και σε οργανισμούς που βρίσκονται χαμηλότερα στην τροφική αλυσίδα. Όσο ψηλότερα βρίσκεται ένα είδος στην τροφική αλυσίδα, ειδικά αν έχει μακρά διάρκεια ζωής, τόσο περισσότερη ρύπανση συσσωρεύει. Θηρευτές όπως τα ψάρια μπορούν να συσσωρεύσουν βαρέα μέταλλα σε επίπεδα εκατομμύρια φορές υψηλότερα από αυτά που βρίσκονται στο νερό. Αυτό μπορεί να έχει ως συνέπεια ή τη θανάτωσή τους ή την μείωση της ικανότητάς τους για αντιμετώπιση ασθενειών. Ως αποτέλεσμα, οι τοπικοί πληθυσμοί που καταναλώνουν ψάρια ή θαλασσινά είναι κι εκείνοι δέκτες της συσσώρευσης σε τοξικά επίπεδα βαρέων μετάλλων. Μάλιστα, τα επίπεδα βαρέων μετάλλων στα θαλασσινά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση του επιπέδου μόλυνσης των υδάτινων οικοσυστημάτων (Rashed, 2001).

Για να εξισορροπηθούν τα οφέλη της κατανάλωσης ψαριών και θαλασσινών με τις αρνητικές συνέπειες των μετάλλων, ιδίως των μη απαραίτητων στοιχείων, έχει προταθεί περιορισμός στις μερίδες ψαριών ή άλλων θαλασσινών που καταναλώνονται εβδομαδιαίως (Bat & Arici, 2018).



Εικόνα 1.1: Οπτικοποίηση της μόλυνσης των βορειοανατολικών μεσογειακών υδάτων με βαρέα μέταλλα (Özbay, 2023).

Η τοξικότητα των μετάλλων καδμίου (Cd), μολύβδου (Pb), υδραργύρου (Hg), χαλκού (Cu), σιδήρου (Fe) και ψευδαργύρου (Zn) είναι γνωστή για τους θαλάσσιους οργανισμούς (Bat & Arici, 2018). Λόγω της τοξικολογικής τους δράσης και της συσσώρευσής τους σε ζωντανούς οργανισμούς, η εύρεση των επιπέδων βαρέων μετάλλων στα εμπορικά θαλασσινά έχει προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον στην Τουρκία και στις ευρωπαϊκές χώρες. Το ενδιαφέρον αυτό αποσκοπεί στη διασφάλιση της υγείας της αλυσίδας των θαλασσινών και στην ελαχιστοποίηση της ενδεχόμενης επικινδυνότητας για την ανθρώπινη υγεία.

Τα στοιχεία Cd, Pb και Hg, δε διαδραματίζουν κάποιο μεταβολικό ρόλο, ωστόσο η καταστροφική τους επίδραση στην ανθρώπινη υγεία είναι γνωστή (Förstner και Wittmann, 1983; Phillips, 1980). Σύμφωνα με την ευρωπαϊκή νομοθεσία (Commission Regulation (EC), 2006; Council of Europe, 2001), η μέγιστες επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις για τα μέταλλα Hg, Pb και Cd είναι αντίστοιχα 0.5, 0.30 και 0.05 mg/kg υγρού βάρους ιστού. Αντίθετα, στοιχεία όπως ο Cu, ο Fe και ο Zn είναι απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς αποτελούν συστατικά ορισμένων μεταλλο-ενζύμων και είναι απαραίτητα για τη σύνθεση αιμοσφαιρίνης και την καταλυτική δράση της μεταβολικής οξειδωσης. Παρ' όλα αυτά όταν ξεπερνούν ορισμένες συγκεντρώσεις, η επίδρασή τους γίνεται τοξική και συνεπώς επιδρούν τοξικά για την ανθρώπινη υγεία (Underwood, 1977).

Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων συνδέονται με τις διατροφικές συνήθειες των βενθικών και πελαγικών ειδών ψαριών (Bustamante et al., 2003). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα βενθικά ψάρια τείνουν να συσσωρεύουν υψηλότερες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων σε σχέση με τα πελαγικά ψάρια (Bustamante et al., 2003). Από την άλλη πλευρά, ο Topping (1973) απέδειξε ότι τα ψάρια που τρέφονται κυρίως με πλαγκτόν έχουν πολύ υψηλότερα επίπεδα βαρέων μετάλλων σε σύγκριση με εκείνα που τρέφονται από τον βυθό. Επίσης, τα σαρκοφάγα ψάρια, που διαθέτουν υψηλό μεταβολικό ρυθμό, συγκεντρώνουν περισσότερα βαρέα μέταλλα στους ιστούς τους σε σύγκριση με τα φυτοφάγα και τα παμφάγα (Jakimska et al., 2011).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Bat & Arici (2018) οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στους βρώσιμους ιστούς για τα μεσογειακά είδη ιχθυρών που διερευνήθηκε, τα επίπεδα των μετάλλων ακολούθησαν την εξής κατάταξη: Fe > Zn > Cu > Pb > Cd > Hg. Για την τσιπούρα *Sparus Aurata* των θαλάσσιων υδάτων της Μεσογείου και του Αιγαίου Πελάγους οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων εκφρασμένες σε μg μετάλλου/ g υγρού βάρους του ιστού του οργανισμού φαίνονται στον Πίνακα 1.3.

Πίνακας 1.3: Συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων για τον *Sparus Aurata* των θαλάσσιων υδάτων της Μεσογείου και του Αιγαίου Πελάγους (Bat & Arici, 2018).

Είδος ιχθύος	Sparus Aurata				
Είδος μετάλλου	Cd	Pb	Cu	Fe	Zn
συγκεντρώσεις (μg μετάλλου/ g υγρού βάρους του ιστού)	0.02-1.14	0.04-267	0.02-5.21	0.92-65.05	0.17-54.65

Οι συγκεντρώσεις τοξικών στοιχείων στα διάφορα είδη ψαριών επηρεάζονται, εκτός από την ανθρώπινη δραστηριότητα κι από παράγοντες όπως το φύλο και η ηλικία των ψαριών, καθώς και από την εποχή αλίευσης και τη γεωγραφική τοποθεσία. Ωστόσο η ρύπανση των υδάτων από ανθρωπογενείς δραστηριότητες αποτελεί κύριο παράγοντα για την υποβάθμιση της θαλάσσιας ζωής και τη διατάραξη των τροφικών αλυσίδων. Για να προληφθεί και να μετριαστεί η απώλεια θαλάσσιων οργανισμών, είναι απαραίτητο να εφαρμοστούν προηγμένες τεχνολογίες που παράγουν χαμηλότερα επίπεδα ρύπανσης από βαρέα μέταλλα στο περιβάλλον (Ali et al., 2014).

1.4.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί στα ιχθυρά, ικανοί να προκαλέσουν ανθρώπινα τροφιμογενή νοσήματα

Η κατά κεφαλήν αύξηση της κατανάλωσης των ιχθυρών στην Ευρώπη και η έντονη ανάπτυξη της βιομηχανίας και της γεωργίας μπορεί να οδηγήσει σε μόλυνση των φυσικών και υδάτινων οικοσυστημάτων επηρεάζοντας όχι μόνο την υγεία των ψαριών, αλλά και την ασφάλειά τους ως τρόφιμα προς ανθρώπινη κατανάλωση. Τα ιχθυρά, καθότι σχετίζονται συχνά με τροφιμογενείς ασθένειες στον άνθρωπο, θα πρέπει να αποτελέσουν αιτία διασφάλισης της ασφάλειας των προϊόντων του και των υδάτινων οικοσυστημάτων όπου ζουν. Εξ' άλλου η μικροβιολογική αξιολόγηση των ψαριών παρέχει πληροφορίες για την υγιεινή του υδάτινου περιβάλλοντος (θάλασσες, λίμνες, υδατοκαλλιέργειες) (Novoslavskij et al., 2015).

***Vibrio* spp.**

Διάφορα είδη του γένους *Vibrio* (Εικόνα 1.2) έχουν εντοπιστεί ως αιτία τροφιμογενών ασθενειών. Το γένος *Vibrio* περιλαμβάνει Gram-αρνητικά, ραβδοειδή, καμπυλωτά, μη σπορογόνα, κινητά και προαιρετικά αναερόβια βακτήρια. Είναι πιο συχνά παρόντα σε εκβολές ποταμών και παράκτιες

περιοχές, όπου ζουν ελεύθερα στο νερό, στα ιζήματα, στο πλαγκτόν και σε μεγάλο μέρος της χλωρίδας και πανίδας που συναντάται σε αυτά τα περιβάλλοντα (Normanno et al., 2006; Parisi et al., 2004; Scharer et al., 2011). Τα πιο πιθανά παθογόνα είδη για τον άνθρωπο είναι τα *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* και *V. cholerae*, τα οποία αποτελούν σημαντικούς κινδύνους για τη δημόσια υγεία, προκαλώντας ασθένειες που σχετίζονται με την κατανάλωση μολυσμένων, ωμών ή μη επαρκώς μαγειρεμένων θαλασσινών (Scallan et al., 2011).

Η κατανάλωση μολυσμένων θαλασσινών μπορεί επίσης να οδηγήσει σε λοίμωξη από *V. vulnificus*, το οποίο ευθύνεται για το 1% των θανάτων που σχετίζονται με τρόφιμα παγκοσμίως (Giltner et al., 2012; Miyoshi, 2006).

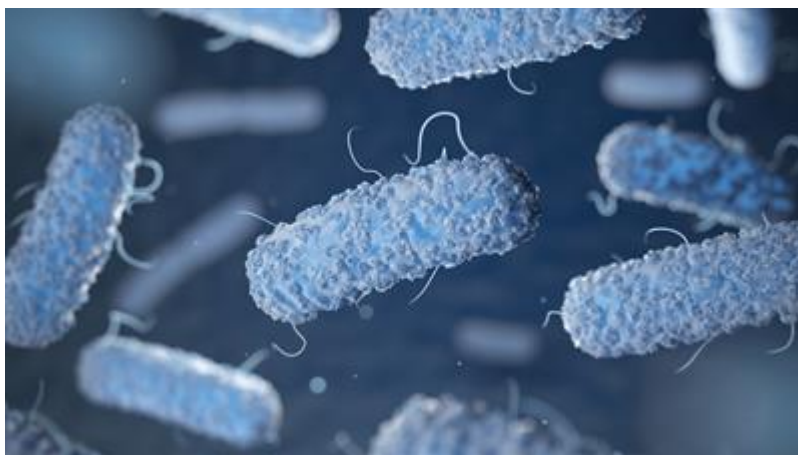


Εικόνα 1.2: Εντεροπαθογόνα βακτήρια *Vibrio* (Facon & Desforges, 2021).

***Salmonella* spp.**

Τα *Salmonella* (Εικόνα 1.2) είναι ραβδωτά, προαιρετικά αναερόβια, Gram-αρνητικά βακτήρια. Συνήθως είναι κινητά και διαθέτουν εξωτερικό τρίχωμα και μπορούν να προκαλέσουν μέτρια έως σοβαρή φλεγμονή του εντέρου και διάρροια, με τα συμπτώματα να εκδηλώνονται 12-72 ώρες μετά την κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου. Είναι βακτήρια που συνήθως βρίσκονται σε γαστρεντερικά όργανα ζώων, όπως πτηνά, βοοειδή και ερπετά. Ωστόσο, η κατανάλωση ωμών ή ανεπαρκώς μαγειρεμένων ψαριών είναι ικανή να προκαλέσει σαλμονέλωση. Παράγοντες όπως η ποιότητα του νερού είναι σημαντικοί για την εμφάνιση σαλμονέλας στα ψάρια και ενδέχεται να θέσουν σε κίνδυνο άτομα που καταναλώνουν ψάρια από μολυσμένα νερά χωρίς υγειονομικό έλεγχο (Amagliani et al., 2012; Thompson et al., 2017).

Η σαλμονέλωση αποτελεί παγκόσμια απειλή για τη δημόσια υγεία και αναγνωρίζεται ως κύρια αιτία εκρήξεων που σχετίζονται με θαλασσινά. Είναι η δεύτερη πιο συχνή αιτία τροφιμογενούς νόσου στις Ηνωμένες Πολιτείες (McCoy et al., 2011; Scallan et al., 2011). Η μόλυνση θαλασσινών με *Salmonella* θεωρείται μια από τις πιο σοβαρές απειλές για τη δημόσια υγεία στο εμπόριο θαλασσινών (Heinitz et al., 2000). Υψηλά ποσοστά *Salmonella* έχουν παρατηρηθεί και σε χώρες της Ασίας και ιδιαίτερα σε τροπικές περιοχές (Phan et al., 2005).



Εικόνα 1.3: Το βακτήριο του γένους *Salmonella* (Holbert et al., 2024).

Listeria monocytogenes

Πολλές επιδημίες έχουν συνδεθεί με την κατανάλωση μολυσμένων θαλασσινών που προέρχονται από το *L. monocytogenes*. Από το 1981, η λιστερίωση θεωρείται σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας και ασφάλειας τροφίμων. Στον παγκόσμιο χάρτη, το *L. monocytogenes* ευθύνεται για την απόσυρση προϊόντων σε 4% των περιπτώσεων, (Gudmundsdottir et al., 2006; Huss et al., 2000; Miettinen and Wirtanen, 2006) με τις μολύνσεις του να οδηγούν σε ανακλήσεις προκαλώντας σημαντικές οικονομικές ζημίες (Wan Norhana et al., 2010).

Το συγκεκριμένο βακτήριο έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται ακόμα και σε θερμοκρασίες ψυγείου και να επιβιώνει σε χαμηλές περιεκτικότητες υγρασίας (Ghanbari et al., 2013; Vongkamjan et al., 2015). Τα τελευταία είκοσι χρόνια, σε πολλές χώρες όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες, η Αυστραλία, η Νέα Ζηλανδία και χώρες της Ευρώπης, έχουν καταγραφεί επιδημίες λιστερίωσης από θαλασσινά. Οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν έτοιμα προς κατανάλωση (RTE) προϊόντα που αποθηκεύονται στο ψυγείο και τρόφιμα που καταναλώνονται χωρίς να μεσολαβεί θερμική κατεργασία (Cartwright et al., 2013; Rocourt et al., 2003).

Η κατανάλωση RTE ψαριών είναι πιο διαδεδομένη στις σκανδιναβικές χώρες, γεγονός που έχει οδηγήσει σε υψηλότερα ποσοστά λιστερίωσης (Lambertz et al., 2012, 2013). Οι επιδημίες λιστερίωσης έχουν σχετιστεί με την κατανάλωση μυδιών, καπνιστών ιχθυρών και ελαφρώς μαγειρεμένου ψαριού (Barrett et al., 2017; Brett et al., 1998, Miya et al., 2010). Διάφορα στελέχη του *L. monocytogenes* έχουν απομονωθεί από κιμά τόνου ενώ σημαντική μόλυνση έχει παρατηρηθεί και σε σε φρέσκα ψάρια που εισάγονται στις Η.Π.Α. από το εξωτερικό (Pagadala et al., 2011, 2012; Ali et al., 2020).

Staphylococcus aureus

Η μόλυνση των ιχθυρών από το εντεροτοξινογόνο *Staphylococcus aureus* οφείλεται σε μεγαλύτερο βαθμό από ανθρώπινη μόλυνση λόγω κακής υγιεινής κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας (Ali et al., 2020). Οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες, που παράγονται από το συγκεκριμένο βακτήριο, ευθύνονται για την παθογένεια και τη λοιμογόνο δράση του, θέτοντας σε κίνδυνο την ασφάλεια των τροφίμων και οι παραγόμενες εντεροτοξίνες μπορούν να προκαλέσουν γαστρεντερίτιδα, η οποία συχνά συνοδεύεται από εμετό στους ασθενείς (Argudin et al., 2010; Fisher et al., 2018).

Clostridium botulinum

Η νευροτοξίνη που παράγεται από το *Clostridium botulinum* (Εικόνα 1.4) είναι υπεύθυνη για τη νόσο της αλλαντίασης, η οποία προκαλείται κυρίως από την κατανάλωση ακατάλληλα επεξεργασμένων θαλασσινών. Το βακτήριο παράγει διάφορες τοξίνες, με τους τύπους A, B, E και F να ευθύνονται για την τροφική δηλητηρίαση στον άνθρωπο (Iwamoto et al., 2010). Οι κύριοι παράγοντες που συμβάλλουν σε ξεσπάσματα αλλαντίασης περιλαμβάνουν την αδυναμία ελέγχου θερμοκρασίας, τις ανεπαρκείς μεθόδους συντήρησης και την αποθήκευση χωρίς παρουσία οξυγόνου (π.χ. συσκευασία κενού, κονσερβοποίηση) (Elbashir et al., 2018; Walton et al., 2014). Οι επιδημίες αλλαντίασης έχουν συνδεθεί κυρίως με την κατανάλωση παραδοσιακών τροφίμων, προϊόντων που έχουν υποστεί οικιακού επιπέδου κονσερβοποίηση, παστών ή ζυμωμένων ψαριών και άλλων θαλασσινών. Ποικίλα ψάρια, όπως λευκά ψάρια, γλώσσες, καπνιστά ψάρια, μπακαλιάροι και πετρόψαρα, έχουν βρεθεί μολυσμένα με σπόρους και τοξίνες του τύπου E του *C. botulinum* (Iwamoto et al., 2010). Σημειώνεται ότι ο τύπος E του *C. botulinum*, που συνδέεται συχνότερα με υδάτινα περιβάλλοντα, μπορεί να αναπτυχθεί και να απελευθερώσει νευροτοξίνη σε θερμοκρασίες ψυγείου έως και 3,3°C (Horowitz, 2010; Leclair et al., 2017; Walton et al., 2014).



Εικόνα 1.4: Το βακτήριο *Clostridium botulinum* σε απεικόνιση 3D (Mckenzie, 2018).

Τα βακτήρια *Shigella spp.* και *Aeromonas spp.* έχουν συνδεθεί και αυτά με τροφιμογενή νοσήματα μέσω της κατανάλωσης ιχθυρών, ωστόσο σε μικρότερο βαθμό (Ali et al., 2020).

1.5 ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΙΧΘΥΡΩΝ

1.5.1 Παραγωγή πτητικών ενώσεων (VOCs) από τη μικροβιακή αλλοίωση των ιχθυρών

Είναι γνωστό ότι τη αλλοίωση των φρέσκων ιχθυρών είναι αποτέλεσμα μικροβιακής δραστηριότητας των Ειδικών Αλλοιογόνων Μικροοργανισμών (SSO) (Gram & Dalgaard, 2002; Gram & Huss, 1996; Parlapani et al., 2016). Η αλλοίωση των ψαριών συμβαίνει κυρίως λόγω της μικροβιολογικής δραστηριότητας, των χημικών οξειδώσεων και της αντίδρασης της αυτόλυσης (Gram & Huss, 1996). Η αποθήκευση ψαριών σε χαμηλές θερμοκρασίες είναι η πιο κοινή μέθοδος αποθήκευσης που χρησιμοποιείται σήμερα για την καθυστέρηση της αλλοίωσης των φρέσκων ψαριών, ωστόσο ο μικροοργανισμός *Pseudomonas spp.* σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αποτελεί τον κύριο μικροοργανισμό αλλοίωσης των ιχθύων μεσογειακής προέλευσης που αποθηκεύεται σε αερόβιες συνθήκες και σε θερμοκρασίες ψυγείου (Parlapani et al., 2015; Parlapani et al., 2013). Οι SSOs περιγράφονται ως ένα μικρό κλάσμα της αρχικής μικροχλωρίδας που κυριαρχεί επί των υπόλοιπων μικροοργανισμών, παράγοντας μεταβολίτες που ευθύνονται για διάφορες δυσάρεστες γεύσεις και οσμές, οδηγώντας τελικά στην αισθητηριακή απόρριψη του ψαριού (Dalgaard, 2003; Olafsdottir et al., 1997).

Πτητικές οργανικές ενώσεις (VOCs) όπως αλκοόλες, κετόνες, αλδεΐδες, θειούχες ενώσεις, αμίνες, εστέρες και οργανικά οξέα παράγονται κατά την αποθήκευση ψαριών/θαλασσινών (Herbert et al., 1971; Shewan & Murray, 1979). Ο μικροοργανισμός *Pseudomonas spp.* παράγει πολυάριθμες πτητικές αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες και σουλφίδια (Casaburi et al., 2015; Edwards et al., 1987).

Το *Pseudomonas fluorescens* θεωρείται ένα από τα σημαντικότερα είδη συμβάλλοντας στην αερόβια αλλοίωση της εκσπλαχνισμένης τσιπούρας. Η παρουσία του σε αφθονία τόσο σε φρέσκα όσο και σε αλλοιωμένα ψάρια είναι ενδεικτική του σημαντικού ρόλου που διαδραματίζει ως στη μικροχλωρίδα της αλλοίωσης του συγκεκριμένου ψαριού (Parlapani et al., 2015).

Σύμφωνα με τον Jay (1986), τα χαρακτηριστικά των μεταβολιτών για την αξιολόγηση της αλλοίωσης είναι: αρχικά απουσία των μεταβολιτών ή ύπαρξη σε χαμηλά επίπεδα, η παραγωγή τους από τους κυρίαρχους αλλοιογόνους μικροοργανισμούς, η αύξηση κατά την αποθήκευση του τροφίμου και η άμεση συσχέτιση με τη μικροβιακή ανάπτυξη και την οργανοληπτική αξιολόγηση του τροφίμου. Οι πτητικές οργανικές ενώσεις έχουν μελετηθεί ως πιθανά CSIs (Chemical Spoilage Indices) για την αξιολόγηση της φρεσκάδας των θαλασσινών, καθώς μεταβάλλονται σημαντικά με τη πάροδο του χρόνου αποθήκευσης και της χρονικής στιγμής απόρριψής του (Parlapani et al., 2015).

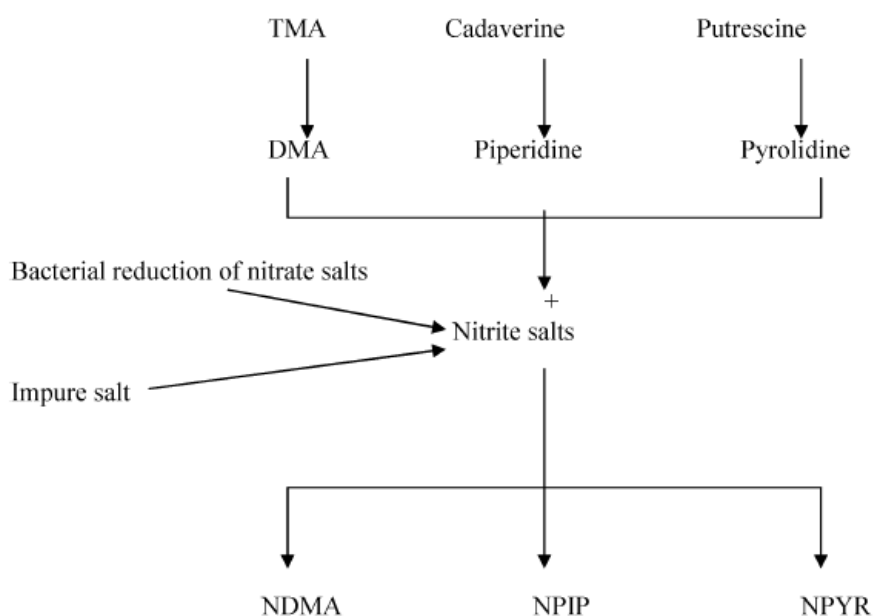
1.5.2 Οι βιογενείς αμίνες ως δείκτης αλλοίωσης των ιχθυρών

Οι βιογενείς αμίνες είναι μη πτητικές αλειφατικές, αλεικυκλικές και ετεροκυκλικές οργανικές βάσεις χαμηλού μοριακού βάρους, που παράγονται στους οργανισμούς των ιχθύων από βακτήρια μέσω της αποκαρβοξυλίωσης των ελεύθερων αμινοξέων (Rice et al., 1976; Fernandez-Salguero και Mackie, 1979; Niven et al., 1981; Taylor και Speckhard, 1983; Karolus et al., 1985; Yamani και Untermann, 1985; Ababouch et al., 1991; Halasz et al., 1994). Οι πιο ευρέως μελετημένες βιογενείς αμίνες είναι η ισταμίνη, η καδαβερίνη και η πουτρεσκίνη. Η ισταμίνη παράγεται από την αποκαρβοξυλίωση της ιστιδίνης, η καδαβερίνη από την αποκαρβοξυλίωση της λυσίνης και η πουτρεσκίνη από την αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης (Basavakumar et al., 1992). Παρόλο που η καδαβερίνη και η πουτρεσκίνη έχει βρεθεί ότι ενισχύουν την τοξικότητα της ισταμίνης, η ασφάλεια των ψαριών έχει αξιολογηθεί καθαρά με βάση την περιεκτικότητα σε ισταμίνη στις περισσότερες μελέτες (El Marrakchi et al., 1990; Joseph et al., 1992; Shakila et al., 2003), ενώ πολλές μελέτες έχουν επιχειρήσει να βρουν μια σχέση μεταξύ των βιογενών αμινών και άλλων δεικτών αλλοίωσης (Chytiri et al., 2004; Paleologos et al., 2004). Αυτή η σχέση, ωστόσο, δεν έχει διασαφηνιστεί πλήρως επειδή σημαντικοί παράγοντες που την επηρεάζουν δεν έχουν ληφθεί υπόψη. Σύμφωνα με

τη βιβλιογραφία (Mietz, 1977; Yamanaka et al., 1989; Duflos et al., 1999), οι δείκτες βιογενών αμινών είναι ενδεικτικοί του βαθμού αλλοίωσης των ψαριών, ωστόσο η ακρίβεια αυτών των δεικτών δεν έχει αξιολογηθεί (Bulushi et al., 2009).

Αρκετοί ψυχρότροφοι οργανισμοί όπως ο *Pseudomonas* έχουν την ικανότητα να αποσυνθέτουν την ισταμίνη σε χαμηλές θερμοκρασίες. Το *Pseudomonas putida* διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αποσύνθεση της ισταμίνης σε χαμηλές θερμοκρασίες, καθώς αποτελεί τον υπεύθυνο μικροοργανισμό για το 80-100% της αποσύνθεσης της ισταμίνης μέχρι τη μείωση και τελικά την εξάλειψη του μορίου της ισταμίνης (Sato et al., 1995; Bulushi et al., 2009).

Νιτροσαμίνες (καρκινογόνες ενώσεις) έχουν βρεθεί σε αλατισμένα και αποξηραμένα ψάρια (Zou et al., 1994; Lee et al., 2003). Η χρησιμότητα των βιογενών αμινών ως δείκτες αλλοίωσης των ψαριών και η ανάδειξή τους ως συμμετέχοντα μόρια στο σχηματισμό καρκινογόνων νιτροζαμινών έχει εξηγηθεί από τους Bulushi et al., 2009 (Εικόνα 1.5), ενώ σύμφωνα με τον κώδικα της Ευρωπαϊκής Νομοθεσίας (E.C., No 2073/2005, 2013), η επιτρεπόμενη συγκέντρωση ισταμίνης για προϊόντα πώλησης ιχθύων απαγορεύεται να υπερβαίνει τα 100mg/kg καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος.



NDMA: nitrosodimethylamine, NPIP: nitrosopiperidine, NPYR: nitrosopyrrolidine

Εικόνα 1.5: Μηχανισμοί σχηματισμού νιτροδών αλάτων που προκύπτουν από την αντίδραση νίτρωσης των αμινών των ιχθυρών (Bulushi et al., 2009).

1.5.3 Η μέθοδος εκτίμησης της ποιότητας για τα ιχθυρά QIM (Quality Index Method)

Η QIM αναπτύχθηκε αρχικά από τη Μονάδα Έρευνας Τροφίμων της Τασμανίας. Πρόκειται για μια γρήγορη, απλή και μη καταστροφική, περιγραφική μέθοδο για την αξιολόγηση της φρεσκάδας θαλασσινών. Παρέχει σε όλους τους χρήστες κατά μήκος της αλυσίδας εφοδιασμού μια τυποποιημένη και αξιόπιστη αισθητηριακή μέτρηση της φρεσκάδας των προϊόντων. Η τυποποίησή της υποστηρίζεται από τους κανόνες ISO, οι οποίοι είναι σημαντικοί για την ανάπτυξη νέων σχημάτων και την καθιέρωση κοινών κανόνων για έρευνα ή βιομηχανική εφαρμογή (Hyldig et al., 2010; Martinsdóttir, 2010; Nollet, 2012). Επιτρέπει τη συλλογή συγκεκριμένων πληροφοριών σχετικά με την κατάσταση των ψαριών κατά την αποθήκευση, λαμβάνοντας υπόψη τις διαφορές μεταξύ των ειδών ψαριών. Η QIM είναι μια αντικειμενική μέθοδος, κατάλληλη για την εκπαίδευση, διδασκαλία, παρακολούθηση και αξιολόγηση των νέων ή έμπειρων μελών του πάνελ αξιολογητών (Freitas, Vaz-Pires, & Câmara, 2019; Martinsdóttir et al., 2001).

Η αποδόμηση των προϊόντων ψαριών σχετίζεται με τρεις κύριες μεταθανάτιες διεργασίες, υπεύθυνες για τις κύριες αισθητηριακές τους αλλαγές: οξείδωση, μικροβιακή αποδόμηση και αυτόλυση. Οι παραπάνω βιοχημικές αντιδράσεις είναι υπεύθυνες για την αποικοδόμηση των οργανισμών και για την ανάπτυξη συγκεκριμένων ουσιών που συμβάλλουν στην αλλοίωσή τους (Ghaly et al., 2010; Prabhakar et al., 2020).

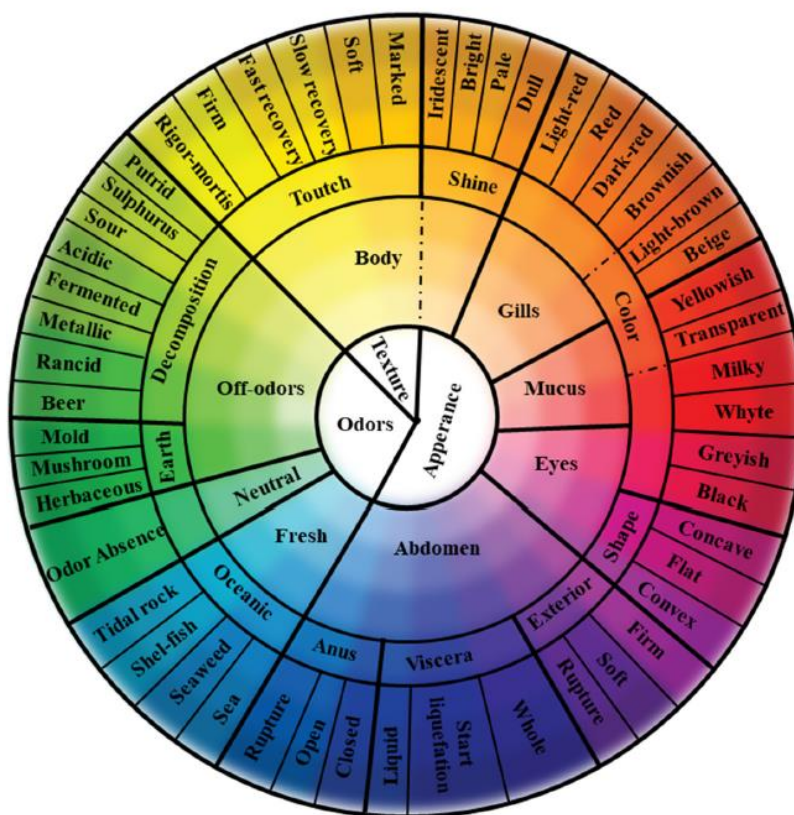
Η κλασική άποψη για την οργανοληπτική/ αισθητηριακή ανάλυση είναι ότι μπορεί να συσχετιστεί με αντικειμενικές αισθητηριακές ερωτήσεις που σχηματίζονται από τις διαδικασίες της βιομηχανίας τροφίμων, και από την έρευνα καταναλωτών, η οποία ασχολείται με υποκειμενικές παραμέτρους ποιότητας (Lahne, 2016). Ωστόσο, έχει ως στόχο να βρει απαντήσεις σε συγκεκριμένα ερωτήματα που σχετίζονται με την αντίληψη της ποιότητας του προϊόντος. Το θέμα αυτό έχει συζητηθεί, όσον αφορά στην εφαρμογή του σε συγκεκριμένους τομείς και στην καταλληλότητα των μεθοδολογιών για τα καθορισμένα αντικείμενα μελέτης (Iannario, Manisera, Piccolo, & Zuccolotto, 2012; Lawless & Heymann, 2010; Stone, Bleibaum, & Thomas, 2012; Varela & Ares, 2012).

Συχνά χρησιμοποιούμενοι όροι στις μεθόδους αισθητηριακής ανάλυσης ή ελέγχου ποιότητας θαλασσινών είναι η κλιμάκωση, η κατάταξη και η βαθμολόγηση. Στην κλιμάκωση χρησιμοποιείται μια διατακτική κλίμακα για να τεθεί σε σειρά η ένταση/ο βαθμός ενός χαρακτηριστικού (π.χ. το χρώμα του καπνιστού σολομού), ωστόσο υπάρχουν προβληματισμοί ως προς την καταλληλότητα του συγκεκριμένου όρου για εφαρμογή στον έλεγχο ποιότητας στη βιομηχανία (Carabante &

Prinyawiwatkul, 2018). Η κατάταξη τονίζει τις διαφορές και τους βαθμούς αλλαγής, που είναι συνήθως πάνω από το όριο που έχει τεθεί. Μια συγκεκριμένη προσέγγιση είναι η κλιμάκωση κατηγορίας, όπου ζητείται από τα μέλη του πάνελ να αξιολογήσουν την ένταση του ερεθίσματος, εκπαιδευόμενα με πρότυπα διαφορετικών εντάσεων (από την ανυπαρξία έως την υπερβολή). Η βαθμολόγηση είναι η εφαρμογή μιας κατηγορικής τιμής σε μια παρτίδα ή ομάδα προϊόντων. Στην αισθητηριακή βαθμολόγηση, ο αξιολογητής πρέπει να ενσωματώσει διαφορετικές αντιλήψεις, καλούμενος να αξιολογήσει τη συνδυασμένη επίδραση των αρνητικών και θετικών χαρακτηριστικών, την ανάμειξη ή ισορροπία μεταξύ τους και να συγκρίνει τα προϊόντα με φυσικά ή γραπτά πρότυπα (δομημένη κλιμάκωση). Τα συμπεράσματα επιβεβαιώνονται με τη συσχέτιση μετρήσιμων χημικών ή φυσικών ιδιοτήτων με στατιστική ανάλυση. Το πλεονέκτημα της βαθμολόγησης είναι ότι επιτρέπει την επιλογή προϊόντων για διαφορετικές «ποιότητες» (Lawless & Heymann, 2010; Rehbein & Oehlenschläger, 2009).

Τα κύρια μειονεκτήματα που συνδέονται συνήθως με τη μέθοδο είναι η υποκειμενικότητα που συνδέεται με την αισθητηριακή ανάλυση, ο χρόνος που απαιτείται για την εκπαίδευση του προσωπικού αξιολόγησης και η ανάπτυξη διαφορετικών σχημάτων για κάθε συγκεκριμένο είδος ή προϊόν ψαριού. Πάντως, η συγκεκριμένη μέθοδος αισθητηριακής αξιολόγησης διαθέτει καλά καθορισμένο πρωτόκολλο για την αξιολόγηση προϊόντων και την ανάπτυξη σχημάτων (Freitas et al., 2021).

Παρακάτω φαίνεται ο αισθητηριακός τροχός QIM (Εικόνα 1.6), με τα χαρακτηριστικά αξιολόγησης και την ορολογία που χρησιμοποιείται όσον αφορά στα ιχθυρά. Ο τροχός συνοψίζει τα σχήματα που έχουν δημιουργηθεί από την επιστημονική βιβλιογραφία του εύρους των ετών 2012-2019 από τη βάση δεδομένων QIM-EUROFISH.



Εικόνα 1.6: Ο αισθητηριακός τροχός QIM, με τα χαρακτηριστικά αξιολόγησης και την ορολογία που χρησιμοποιείται όσον αφορά στα ιχθυρά (Freitas et al., 2021).

Σε γενικές γραμμές, με το χρονικό πέρας των πιο κοστοβόρων βημάτων (ανάπτυξη και επικύρωση) της μεθόδου QIM, η τελευταία είναι ικανή να δώσει μια κατάλληλη απάντηση στην ποιότητα των τροφίμων, με σχετική απλότητα και αρκετή ακρίβεια για τη βιομηχανία, όπου πρέπει να ληφθούν γρήγορες και οικονομικά αποδοτικές αποφάσεις (Borresen, 2008).

1.6 ΓΡΗΓΟΡΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Λόγω της συχνότητας των οικονομικά υποκινούμενων νοθειών (EMA), οι ταχείες τεχνολογίες ανάλυσης για τα τρόφιμα επιτάσσονται ως σημαντικό εργαλείο για τη βελτίωση της τρέχουσας κατάστασης στο κομμάτι της εξασφάλισης της αυθεντικότητας των τροφίμων (Zhang et al., 2024).

Πρόσφατα, τεχνικές όπως η φασματοσκοπία, φασματοσκοπία μάζας, η τεχνολογία ηλεκτρονικών αισθητήρων και η τεχνολογία DNA έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην ανάλυση τροφίμων. Οι γρήγορες και μη καταστροφικές μέθοδοι ανάλυσης που χαρακτηρίζουν τις φασματοσκοπικές τεχνικές και το χαμηλό αναλυτικό κόστος καθώς και η υψηλή αναλυτική αποδοτικότητα των

τεχνικών ηλεκτρονικών αισθητήρων είναι συμβατές με τις τεχνολογικές ανάγκες στον κλάδο αυθεντικότητας των τροφίμων και έχουν χρησιμοποιηθεί σε μια ευρεία γκάμα τροφίμων για την αναγνώρισή της (Kharbach et al., 2023; Tan and Xu, 2020).

Η φασματοσκοπία μάζας και η ανάλυση DNA πλεονεκτούν όσον αφορά στην υψηλή ευαισθησία και εύρος φασμάτων εφαρμογής (Huang et al., 2010; Scarano and Rao, 2014). Ωστόσο, τα δεδομένα που συλλέγονται μέσω αυτών των τεχνικών συχνά χαρακτηρίζονται από μεγάλους όγκους, υψηλές διαστάσεις και πολύπλοκες δομές, καθιστώντας την επιλογή μεθόδου χημειομετρίας ιδιαίτερα σημαντική για την υποβοήθηση της ανάλυσης της αυθεντικότητας (Agriopoulou et al., 2022). Οι πιο σύγχρονες τεχνικές ερευνητικής προόδου στις μεθόδους ταχείας ανάλυσης αναφέρονται παρακάτω.

Τεχνολογία φασματοσκοπίας

Η φασματοσκοπική τεχνολογία, βασισμένη στις οπτικές μεταβολές, χρησιμοποιείται ευρέως στην ανάλυση τροφίμων για την μη καταστροφική προσδιορισμό της αυθεντικότητας των τροφίμων, λόγω της υψηλής ακρίβειας, της γρήγορης ικανότητας μέτρησης, της σταθερότητας και των διαισθητικών αποτελεσμάτων (Dong, 2017). Οι εφαρμογές ποικίλλουν ανάλογα με τις αρχές και τις χαρακτηριστικές διαφορές, επηρεάζοντας παραμέτρους όπως η διείσδυση, η ακρίβεια, η αναλυτική ταχύτητα και η ανάλυση οργανικής ύλης. Μερικές από αυτές τις τεχνικές φασματοσκοπίας είναι: η μέση υπέρυθρη (MIR), η εγγύς υπέρυθρη (NIR), η φασματοσκοπία Raman και ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR) που χρησιμοποιούνται συχνά για τον έλεγχο ταυτότητας τροφίμων, ενώ η υπερφασματική απεικόνιση (HSI) χρησιμοποιείται συχνά για τον προσδιορισμό φυλών ή ειδών και γεωγραφικής προέλευσης (Zhang et al., 2024).

Φασματομετρία μάζας με ιονισμό περιβάλλοντος

Η φασματομετρία μάζας με ιονισμό περιβάλλοντος (AIMS) έχει την ικανότητα να αναλύει γρήγορα καθαρά δείγματα σε ατμοσφαιρικές συνθήκες, συχνά με ελάχιστη ή καθόλου προετοιμασία δείγματος, και έχει το μοναδικό πλεονέκτημα της άμεσης ανάλυσης ακεραίων ουσιών (Huang et al., 2010). Κερδίζει σταδιακά δημοτικότητα μεταξύ των ειδικών σε διάφορους τομείς λόγω της γρήγορης ανάλυσης ενώ διασφαλίζει χημική ευαισθησία και ακρίβεια. Αντιπροσωπευτικές τεχνολογίες AIMS για την ανάλυση της αυθεντικότητας τροφίμων περιλαμβάνουν κυρίως την άμεση ανάλυση σε πραγματικό χρόνο φασματομετρία μάζας (DART-MS), τη φασματομετρία μάζας με γρήγορη εξάτμιση ιονισμού (REIMS), τη φασματομετρία μάζας

με διάθεση λέιζερ υποβοηθούμενου πλέγματος (MALDI-MS). Οι παραπάνω τεχνικές χρειάζονται δευτερόλεπτα έως λεπτά για να επιτύχουν ανάλυση σε ζωντανό χρόνο, ελαχιστοποιώντας το χρόνο ανάλυσης και ικανοποιώντας τις απαιτήσεις της αγοράς για αυθεντικοποίηση (Zhang et al., 2024).

Ηλεκτρονικοί αισθητήρες

Οι ηλεκτρονικοί αισθητήρες περιλαμβάνουν τη συσκευή ηλεκτρονικής μύτης (E-nose) και τη συσκευή ηλεκτρονικής γλώσσας (E-tongue). Μια E-nose είναι ένα τεχνητό οσφρητικό σύστημα, ενώ μια E-tongue είναι ένα τεχνητό γευστικό σύστημα. Αποτελούνται από ένα σύστημα επεξεργασίας δειγμάτων, έναν χημικό αισθητήρα και ένα σύστημα αναγνώρισης προτύπων. Η E-nose χρησιμοποιεί αισθητήρες αερίων για να αναγνωρίζει γρήγορα τα συστατικά της οσμής και αποκτά τις συνολικές πληροφορίες αποτυπώματος των πτητικών συστατικών σε ένα δείγμα (Gonzales et al., 2011). Ο προεπεξεργαστής δείγματος της E-tongue ισοδυναμεί με τους γευστικούς υποδοχείς του ανθρώπου. Μετατρέπει τα αφηρημένα χαρακτηριστικά των υγρών δειγμάτων σε οπτικά ηλεκτρονικά σήματα που αντιδρούν στο δοκιμαζόμενο υγρό μέσω του πίνακα αισθητήρων με χαμηλή επιλεκτικότητα, μη ειδικότητα και διαδραστική ευαισθησία. Τα δεδομένα σήματος εξόδου μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απόκτηση πληροφοριών σχετικά με τα γευστικά χαρακτηριστικά του εξεταζόμενου δείγματος. Οι ηλεκτρονικοί αισθητήρες έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για την αυθεντικοποίηση τροφίμων (Zhang et al., 2024).

Τεχνολογία βασισμένη στο DNA

Το DNA είναι ένας από τους καλύτερους δείκτες για την ανάλυση αυθεντικότητας και ιχνηλασιμότητας των τροφίμων, διότι παραμένει πλήρως συνεπής σε διαφορετικά μέρη των οργανισμών και παρουσιάζει βέλτιστη σταθερότητα και θερμική αντοχή καθ' όλη τη διάρκεια ζωής των ζώων και των φυτών, από το αγρόκτημα μέχρι το τραπέζι (Scarano and Rao, 2014). Μετά το σκάνδαλο του αλογίσιου κρέατος στην Ευρώπη το 2003, η τεχνολογία DNA άρχισε σταδιακά να χρησιμοποιείται στον τομέα της αυθεντικότητας των τροφίμων, κυρίως για την ανάλυση συστατικών που προέρχονται από διάφορα είδη σε τρόφιμα. Οι τεχνολογίες DNA που χρησιμοποιούνται σήμερα για γρήγορη ανάλυση αυθεντικότητας τροφίμων περιλαμβάνουν κυρίως την ισοθερμική ενίσχυση μέσω βρόγχου (LAMP), την ενίσχυση πολυμεράσης ρεκομβινάσης (RPA), τη μέθοδο τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM), την αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS) και την τεχνολογία DNA barcoding. Η τεχνολογία που βασίζεται στο DNA χρησιμοποιείται κυρίως για να διακρίνει φυλές ή είδη οργανισμών ή φυτών (Zhang et al., 2024).

ΣΚΟΠΟΣ

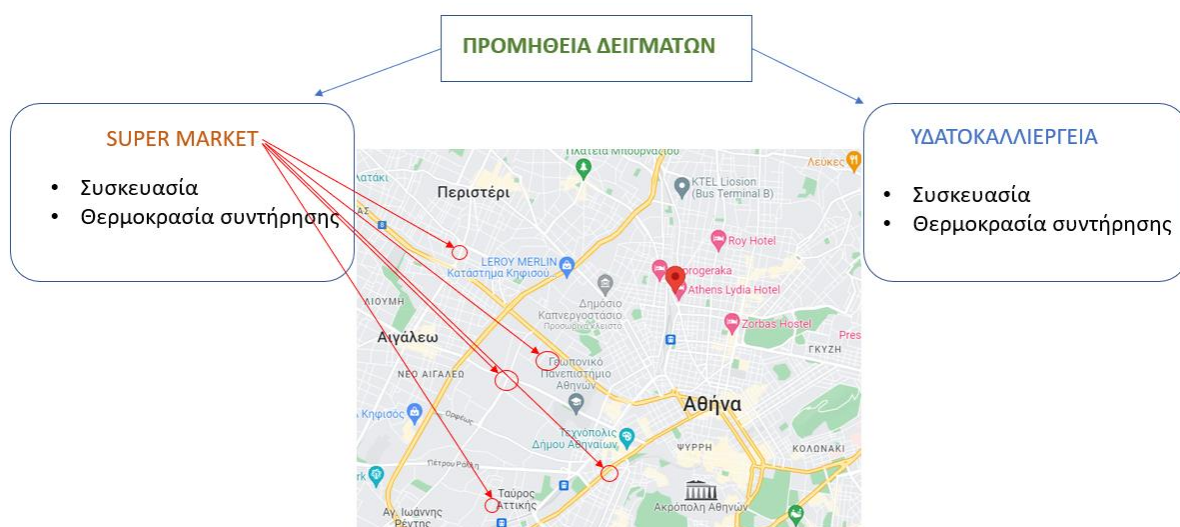
Η παρούσα διπλωματική διατριβή έχει ως κύριο στόχο τη συσχέτιση των μικροβιολογικών τιμών (microbiological analysis) αλλοίωσης της τσιπούρας κατά τη διάρκεια την αποθήκευσής της με τις τιμές πολυφασματικής απεικόνισης (MSI analysis), με απώτερο σκοπό τη γρήγορη ανίχνευση της μικροβιολογικής ποιότητας του φιλέτου τσιπούρας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 :ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

2.1.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Για την παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν τρία πειράματα και δύο επιπλέον παράλληλα πειράματα μικρότερου όγκου που αφορούσαν στη μικροβιακή, πολυφασματική και οργανοληπτική διερεύνηση των δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας (*Sparus aurata*) σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (θερμοκρασιακές και αερόβιες/ αναερόβιες). Όλα τα δείγματα προερχόταν από την υδατοκαλλιέργεια AVRAMAAR και προμηθεύτηκαν είτε από ίδια την υδατοκαλλιέργεια είτε από διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης (super markets).



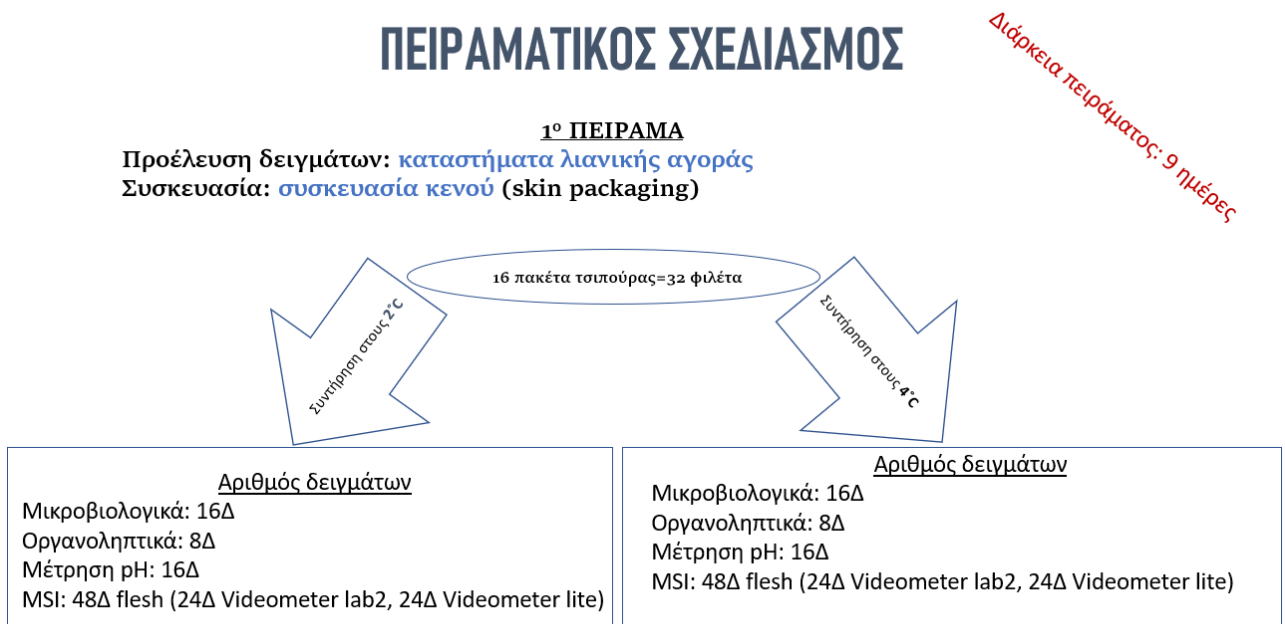
Εικόνα 2.1: Απεικόνιση της ποικιλίας προμήθειας των δειγμάτων για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Το πρώτο πείραμα αφορούσε σε συσκευασμένα δείγματα φιλεταρισμένου ψαριού τσιπούρας που προμηθεύτηκαν από διαφορετικά καταστήματα λιανικής πώλησης (supermarkets). Τα δείγματα ήταν συσκευασμένα σε κενό (skin packaging) (Εικόνα 2.2) και η διερεύνηση των δειγμάτων διήρκησε 9 ημέρες όπου για κάθε χρονική στιγμή αναλύονταν ένα διαφορετικό δείγμα από τον όγκο δειγμάτων για κάθε συνθήκη. Μελετήθηκαν 16 πακέτα τσιπούρας, δηλαδή 32 φιλέτα όπου ο μισός αριθμός δειγμάτων (16 φιλέτα) διερευνήθηκε σε συνθήκες αποθήκευσης 2°C και ο άλλος μισός (16 φιλέτα) σε συνθήκες αποθήκευσης 4°C. Το πλήθος των δειγμάτων που διερευνήθηκαν για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη ήταν:

- 16 δείγματα για μικροβιακή διερεύνηση
- 8 δείγματα για οργανοληπτική αξιολόγηση
- 16 δείγματα για μέτρηση της τιμής του pH
- 48 δείγματα για την πολυφασματική απεικόνιση της σάρκας του ιχθυού



Εικόνα 2.2: Φιλεταρισμένη τσιπούρα σε skin packaging προμηθευόμενη από τη λιανική πώληση.



Εικόνα 2.3: Απεικόνιση σχεδιαγράμματος του πειραματικού σχεδιασμού για το Πείραμα 1.

Το 2^ο πείραμα αφορούσε σε δείγματα τσιπούρας που προμηθεύτηκαν από διαφορετικά καταστήματα λιανικής πώλησης και συντηρήθηκαν σε αερόβιες συνθήκες σε δύο θερμοκρασιακά προφίλ: 2° C και 4° C με διάρκεια πειράματος 9 ημέρες. Οι συσκευασίες ψαριών περιείχαν το ψάρι σε δύο φιλέτα ή ολόκληρο το ψάρι. Οι συσκευασίες του φιλεταρισμένου ψαριού ανοίχτηκαν την ημέρα 0 του πειράματος και τοποθετήθηκαν σε σκάφη πολυστερίνης (φελιζόλ) σε ασηπτικές συνθήκες και τυλίχτηκαν με μεμβράνη πολυαιθυλενίου. Οι συσκευασίες που περιείχαν ολόκληρο το ψάρι (μη φιλεταρισμένο) ανοίχτηκαν την ημέρα 0 του πειράματος (Εικόνα 2.4). Το ψάρι κόπηκε σε δυο φιλέτα εντός του εργαστηρίου με συγκεκριμένη μέθοδο σε ασηπτικές συνθήκες και τοποθετήθηκε σε σκάφη πολυστερίνης που τυλίχτηκαν με μεμβράνη. Ο συνολικός αριθμός ψαριών που συμμετείχε στο πείραμα ήταν 20 τσιπούρες, δηλαδή 40 φιλέτα. Το συνολικό πλήθος των δειγμάτων που μελετήθηκε ήταν:

Μικροβιολογική διερεύνηση: 40 δείγματα

Οργανοληπτική αξιολόγηση: 20 δείγματα

Μέτρηση τιμής pH: 40 δείγματα

Πολυφασματική απεικόνιση (MSI): 320 δείγματα όπου τα 160 από το Videometer lab2 και τα 160 από το Videometer lite (80 δείγματα από τη μεριά του δέρματος και 80 δείγματα από τη μεριά της σάρκας)

20 τσιπούρες → 40 φιλέτα εκ των οποίων τα 20 μελετήθηκαν σε συνθήκες αποθήκευσης 2° C και τα 20 μελετήθηκαν σε συνθήκες αποθήκευσης 4° C (τα 6 φιλέτα από αυτά προέκυψαν από φιλετάρισμα εντός του εργαστηρίου).



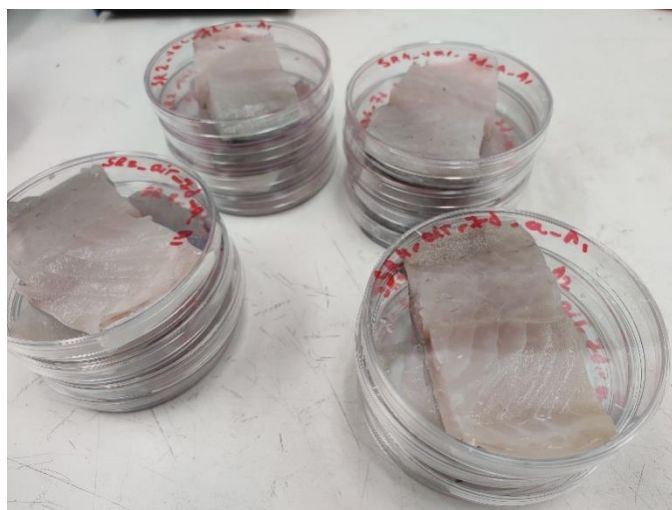
Εικόνα 2.4: Συσκευασία τσιπούρας που ανοίχτηκε και φιλεταρίστηκε εντός του εργαστηρίου την ημέρα 0 του πειράματος.

Παράλληλα με το 2^ο πείραμα διεξήχθη κι ένα επιπλέον μικρό πείραμα από τον ίδιο προμηθευτή που αφορούσε στη διερεύνηση ίδιου δείγματος ψαριού (ίδιος οργανισμός) (individual fish storage experiment). Το πείραμα διήρκεσε 9 ημέρες όπου διερευνούνταν το ίδιο δείγμα ψαριού μικροβιολογικά και πολυφασματικά. Πρόκειται για 2 ψάρια που φιλεταρίστηκαν στο εργαστήριο με συγκεκριμένη μέθοδο την ημέρα 0 και ο αριθμός δειγμάτων που αναλύονταν τις ημέρες των πειραμάτων ήταν 4 δείγματα προς μικροβιολογική ανάλυση και 16 δείγματα προς ανάλυση της πολυφασματικής απεικόνισης από τη μεριά της σάρκας του ψαριού για τα μηχανήματα Videometer lab2 και Videometer lite. Η θερμοκρασιακή συνθήκη της αποθήκευσης των δειγμάτων ήταν 2° C.

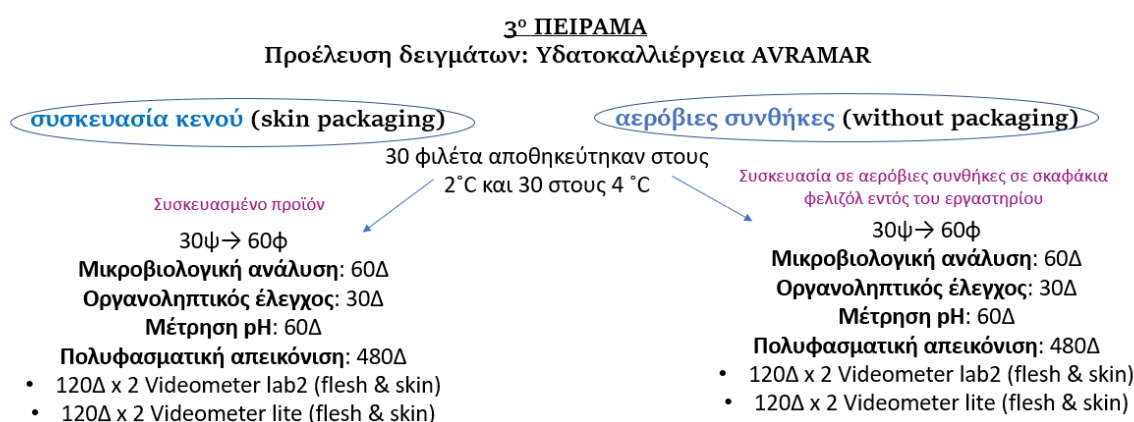
Στο 3^ο πείραμα η προέλευση των δειγμάτων αφορούσε αποκλειστικά ψάρια προερχόμενα απευθείας από την υδατοκαλλιέργεια ABRAMAAR όπου μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο σε πολυστερίνη τοποθετημένα μέσα σε πάγο. Συνολικά πρόκειται για 120 φιλέτα τσιπούρας. Τα 60 φιλέτα ήταν σε συσκευασία κενού (Εικόνα 2.5) και μελετήθηκαν σε συνθήκες αποθήκευσης 2° C. Τα υπόλοιπα 60 φιλέτα την ημέρα 0 του πειράματος τοποθετήθηκαν σε σκάφη φελιζόλ, τυλίχτηκαν με μεμβράνη πολυαιθυλενίου και αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες συντήρησης 4° C. Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε εντός μίας ώρας στο εργαστήριο και η διάρκεια του πειράματος ήταν 10 ημέρες. Για την ανάλυση MSI η απεικόνιση των δειγμάτων έγινε από τη μεριά του δέρματος και από τη μεριά της σάρκας για όλα τα δείγματα.



Εικόνα 2.5: Φιλεταρισμένη τσιπούρα σε skin packaging προμηθευόμενη από την υδατοκαλλιέργεια.



Εικόνα 2.6: Δείγματα τσιπούρας προς πολυφασματική απεικόνιση στα μηχανήματα Videometer lab2 και Videometer lite.



Εικόνα 2.7: Απεικόνιση σχεδιαγράμματος του πειραματικού σχεδιασμού για το Πείραμα 3.

Παράλληλα με το 3^ο πείραμα, πραγματοποιήθηκε κι ένα επιπλέον μικρότερο πείραμα που αφορούσε στη μικροβιολογική και πολυφασματική διερεύνηση του ίδιου δείγματος ψαριού σε συνθήκες αερόβιας αποθήκευσης 2° C. Τέσσερα ψάρια που προήλθαν από την υδατοκαλλιέργεια φιλεταρίστηκαν εντός του εργαστηρίου, τοποθετήθηκαν σε σκάφη φελιζόλ και αναλύονταν όλα τα δείγματα κάθε 24 ώρες. Την ημέρα πρόκειται για 8 φιλέτα ψαριού, δηλαδή 8 δείγματα μικροβιολογικής ανάλυσης, και 32 δείγματα MSI με την απεικόνιση από τη μεριά της σάρκας και για τα δύο μηχανήματα (Videometer lab2 και Videometer lite).

2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Για την πραγματοποίηση των μικροβιολογικών αναλύσεων η προετοιμασία του διαλύματος προς εμβολιασμό την εκάστοτε μέρα της ανάλυσης πραγματοποιούνταν ως εξής:

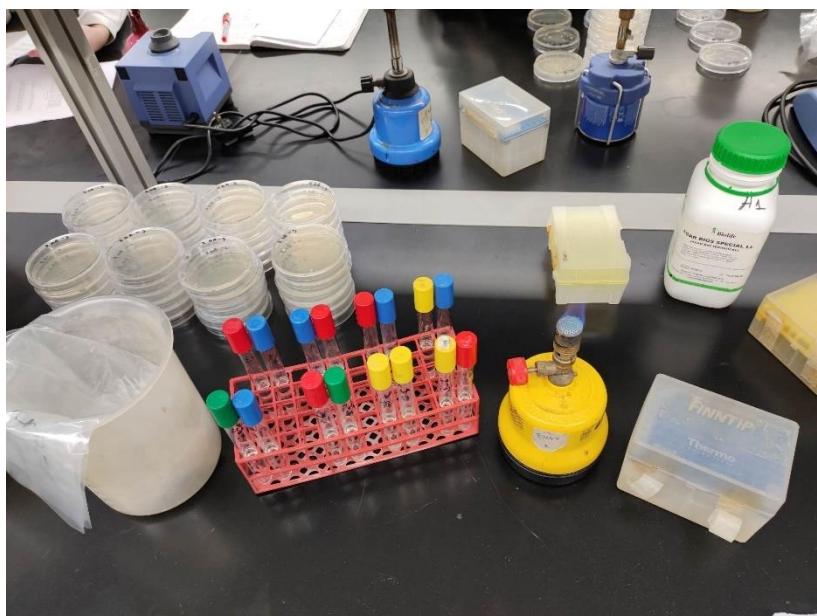
Αρχικά τα δείγματα αφαιρούνταν από τους θαλάμους σταθερής θερμοκρασίας 2° C και 4° C, όπου ήταν αποθηκευμένα (Εικόνα 2.8), 15 λεπτά πριν από τη δειγματοληψία. Σε ασηπτικές συνθήκες με τη χρήση λύχνου Buncen και τη χρήση λαβίδας και νυστεριού, η συσκευασία του δείγματος ανοιγόταν ασηπτικά και 25g δείγματος ζυγίζονταν σε αποστειρωμένη σακούλα ομογενοποίησης (Baglight, INTERSCIENCE, France). Ακολουθούσε αραιώση 1/10 με την προσθήκη 225ml αλατούχου διαλύματος Ringer (LAB M Limited, Lancashire, U.K.) και η σακούλα τοποθετούνταν σε συσκευή Stomacher (Lab Blender 400, Seward Medical, London) προς ομογενοποίηση για 60 δευτερόλεπτα (Εικόνα 2.9). Οι διαδοχικές αραιώσεις πραγματοποιούνταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες και ακολουθούσε ο εμβολιασμός στα θρεπτικά υλικά μέσα σε petri τρυβλία (Εικόνα 2.10). Η μικροβιολογική διερεύνηση πραγματοποιούνταν για την Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) και τους μικροοργανισμούς *Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta*, Sulfur producing bacteria, βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae, Yeasts/ Moulds και οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB).



Εικόνα 2.8: Προμήθεια δειγμάτων τσιπούρας από το θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας.



Εικόνα 2.9: Χρήση συσκευής Stomacher προς ομογενοποίηση.



Εικόνα 2.10: Η όψη του πάγκου εργασίας πριν τον εμβολιασμό στα θρεπτικά υλικά της OMX.

Τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των παραπάνω μικροοργανισμών στα δείγματα ψαριού ήταν τα εξής:

- ✚ Plate Count Agar (Tryptic Glycose Yeast Agar PCA, Ref. 4021452, Biolife, Italiana, S.r.l, Milano, Italy) για την καταμέτρηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης. Η επώαση των τρυβλίων πραγματοποιούνταν στους 30° C για 48 ώρες
- ✚ Marine Agar 1059 (Condalab, Madrid, Spain) για την καταμέτρηση της OMX με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης. Η επώαση των τρυβλίων πραγματοποιούνταν στους 30° C για 48 ώρες.

- ✚ Pseudomonas Agar Base (LAB108, LAB M., U.K.) με την προσθήκη του αντιβιοτικού Ceftrimide-Fusidin-Cephaloridine (CFC) (Modified C.F.C X108, LAB M, UK) για την καταμέτρηση των *Pseudomonas* spp. με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης. Η επώαση των τρυβλίων πραγματοποιούνταν στους 25° C για 48 ώρες.
- ✚ Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Ref. 4021862, Biolife, Italiana S.r.l, Milano, Italy) για την καταμέτρηση των Enterobacteriaceae με την τεχνική της ενσωμάτωσης. Η επώαση των τρυβλίων πραγματοποιούνταν στους 37° C για 24 ώρες.
- ✚ Streptomycin Thallous Acetate-Actidone Agar Base (STAA) (Ref. 4020792, Biolife, Italiana S.r.l, Milano, Italy) με την προσθήκη αντιβιοτικού (Ref. 4240052, Biolife, Italiana S.r.l, Milano, Italy) για την καταμέτρηση του *B. Thermosphacta* με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης. Η επώαση των τρυβλίων πραγματοποιούνταν στους 25° C για 48 ώρες.
- ✚ De Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS) (Ref.401728S2, Biolife, Italiana S.r.l, Milano, Italy) για την καταμέτρηση των LAB με την τεχνική της ενσωμάτωσης. Η επώαση των τρυβλίων πραγματοποιούνταν στους 30° C για 72 ώρες.
- ✚ Iron Agar (IA) (2% peptone (Difco); 0.3% Lab lemco powder (Oxoid); 0.3% yeast extract (Difco), 0.03% ferric citrate; 0.03% sodium thiosulphate; 0.5% NaCl; 1.2% agar, ρύθμιση του pH στο 7.4) για την καταμέτρηση οργανισμών που παράγουν H₂S με την τεχνική της ενσωμάτωσης. Η επώαση των τρυβλίων πραγματοποιούνταν στους 30° C για 48 ώρες.
- ✚ Rose Bengak Chloramphenicol Agar (RBC) (Lab M Limited) για την καταμέτρηση των ζυμών και μυκήτων με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης. Η επώαση γινόταν στους 25° C για 72 ώρες.

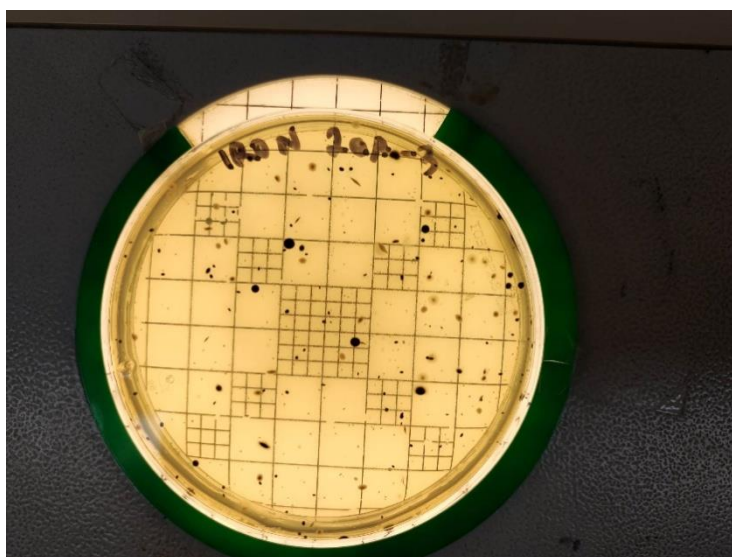
Για τα θρεπτικά υλικά Marine Agar, PCA, Pseudomonas Agar Base, RBC, και STAA, όπου ακολουθήθηκε η μέθοδος της **επιφανειακής επίστρωσης**, η διαδικασία πειραματικά ήταν:

Αρχικά εμβολιασμός 0.1 ml αραιωμένου δείγματος στα αποστειρωμένα θρεπτικά υλικά που βρίσκονταν σε petri τρυβλία κι αμέσως μετά διασπορά του εμβολίου με μεταλλικό τριγωνάκι υπό ασηπτικές συνθήκες.

Για τα θρεπτικά υλικά IRON AGAR, VRBGA, MRS ακολουθήθηκε η τεχνική της **ενσωμάτωσης**, κατά την οποία 1 ml από το αραιωμένο δείγμα τοποθετούνταν σε αποστειρωμένα τρυβλία petri με ακολουθούμενη ρίψη του εκάστοτε υλικού και ήπιες κυκλικές κινήσεις του τρυβλίου προς την ομοιογενή μεταφορά μάζας. Μετά τη στερεοποίηση του μίγματος θρεπτικού υλικού- εμβολίου

δείγματος, ακολουθούσε περαιτέρω ρίψη του υλικού (δεύτερη στρώση) προς τη δημιουργία αναερόβιων συνθηκών και αναμονή για στερεοποίηση.

Μετά τον εμβολιασμό στα θρεπτικά υλικά πραγματοποιούνταν η επώαση των τρυβλίων σε θαλάμους σταθερής θερμοκρασίας στις απαραίτητες θερμοκρασιακές και χρονικές συνθήκες (όπως αναφέρονται παραπάνω) για κάθε θρεπτικό υλικό. Με το πέρας του απαραίτητου διαστήματος καταμετρίονταν οι αποικίες των μικροοργανισμών (Εικόνα 11) και πραγματοποιούνταν αναγωγή στο αρχικό δείγμα. Για την OMX η μικροβιολογική διερεύνηση γινόταν για κάθε δειγματοληψία ενώ η διερεύνηση των υπόλοιπων μικροοργανισμών γινόταν σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές. Τέλος, ακολουθούσε ο υπολογισμός των μέσων όρων $\log \text{CFU/g}$ και οι τυπικές αποκλίσεις τους.



Εικόνα 2.11: Καταμέτρηση αποικιών θειοπαραγωγικών βακτηρίων σε θρεπτικό υλικό IRON AGAR.

2.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ pH

Μετά την πραγματοποίηση των μικροβιολογικών αναλύσεων πραγματοποιούνταν, στο αραιωμένο δείγμα που είχε ομογενοποιηθεί από τη συσκευή Stomacher, η μέτρηση της τιμής του pH (RL150, Russel pH, Cork, Ireland) με τη χρήση γυάλινου ηλεκτροδίου (Metrohm AG, Herisau, Switzerland). Η μέτρηση γινόταν αφού είχε προηγηθεί βαθμονόμηση του οργάνου.

2.4 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Για κάθε δείγμα ψαριού που διερευνούταν, πραγματοποιούνταν ταυτόχρονη οργανοληπτική αξιολόγηση που περιλάμβανε την εκτίμηση της οσμής και της όψης των ιχθύων για κάθε χρονική στιγμή της δειγματοληψίας. Για τις ανάγκες της αξιολόγησης συγκροτήθηκε στο εργαστήριο ομάδα 6 διαφορετικών ατόμων/ οργανοληπτών, οι οποίοι βαθμολογούσαν σε κλίμακα βαθμολογίας 1-5 για την εκτίμηση της όψης και της οσμής των ιχθύων. Ο αριθμός των δειγμάτων που αξιολογούνταν οργανοληπτικά αντιστοιχεί στον αριθμό ιχθύων που διερευνούνταν κάθε φορά. Η βαθμολογία (1-5) αντιστοιχούσε (εικόνα και όψη) στους παρακάτω χαρακτηρισμούς:

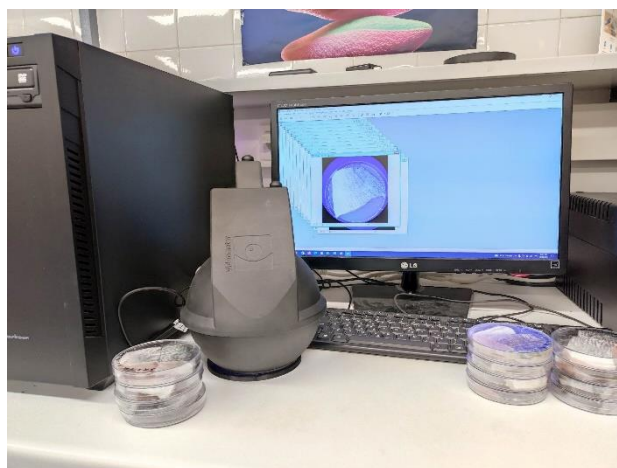
- 1 → φρέσκο (πλήρως αποδεκτό)
- 2 → ημιφρέσκο (αποδεκτό)
- 3 → στο όριο της αλλοίωσης (οριακά αποδεκτό)
- 4 → αλλοιωμένο (μη αποδεκτό)
- 5 → αρκετά αλλοιωμένο (απαράδεκτο)

2.5 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΠΟΛΥΦΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ (MULTISPECTRAL IMAGING)

Όπως προαναφέρθηκε, για την παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν δύο εργαλεία/ μηχανήματα πολυφασματικής απεικόνισης το **Videometer lab2** (Εικόνα 2.12) και **Videometer lite** (Εικόνα 2.13, Εικόνα 2.14).



Εικόνα 2.12: Η συσκευή πολυφασματικής απεικόνισης Videometer lab2 που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

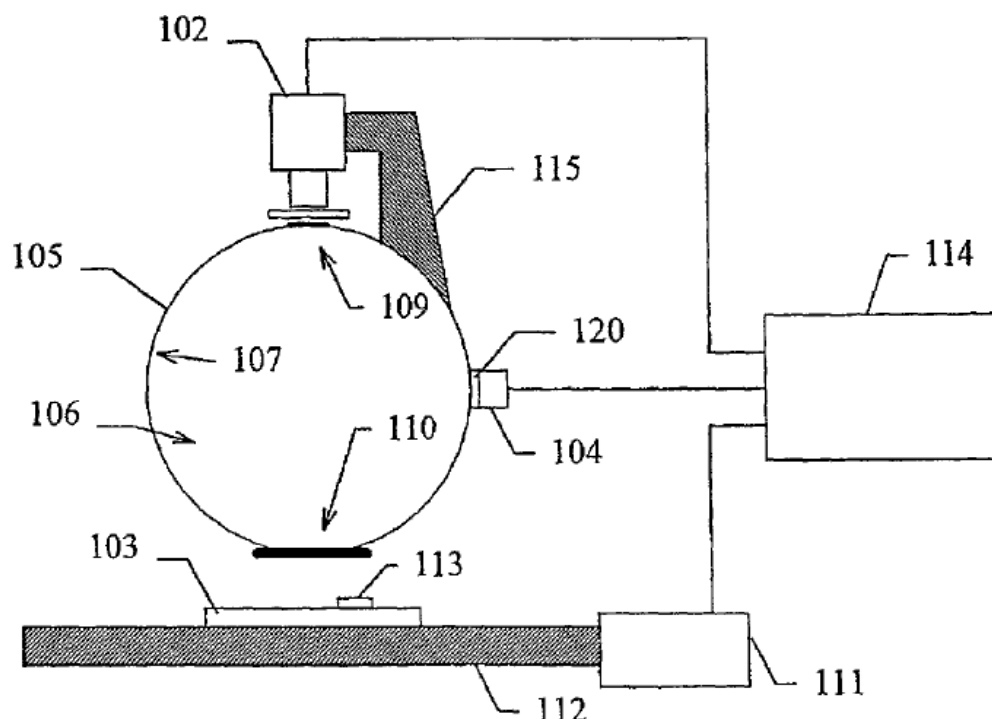


Εικόνα 2.13: Η φορητή συσκευή πολυφασματικής απεικόνισης Videometer lite.



Εικόνα 2.14: Η διαδικασία της απεικόνισης δείγματος φιλέτου τσιπούρας τη χρονική στιγμή πριν την περικύλιση του δείγματος στη σφαίρα της συσκευής προς απεικόνιση. Για τη διαδικασία της απεικόνισης ως φόντο χρησιμοποιούνταν μπλε χρώματος δισκίο ενώ για τη βαθμονόμηση, δισκίο χρώματος λευκού.

2.5.1 Οργανολογία μηχανήματος/ συσκευής πολυφασματικής απεικόνισης (MULTISPECTRAL IMAGING DEVICE)



Εικόνα 2.15: Οργανολογία συσκευής πολυφασματικής απεικόνισης. Για τα ανάλογα αριθμημένα σημεία που υποδεικνύονται στην εικόνα, η λειτουργία του κάθε μέρους του οργάνου είναι: 102: ηλεκτρονική κάμερα, 105: μέσο κατανομής της ακτινοβολίας του φωτός, 106: κοιλότητα/σφαίρα ενσωμάτωσης της ακτινοβολίας, 107: εσωτερικό τοίχωμα σφαίρας επιστρωμένο με υλικό αντανάκλασης φωτός, 109: οπή της κοιλότητας για την κάμερα/ θύρα κάμερας, 110: οπή της κοιλότητας για το προς απεικόνιση αντικείμενο/ θύρα αντικείμενου, 104: πηγή φωτός, 120: λάμπα φωτεινής ακτινοβολίας, 114: συνδεδεμένος ηλεκτρονικός υπολογιστής με τη συσκευή, 115: βραχίονας στερέωσης, 111: κινητήρας ενεργειακής τροφοδότησης, 112: επίπεδο τοποθέτησης του φορέα, 103: φορέας του προς απεικόνιση αντικείμενου, 113: αντικείμενο προς απεικόνιση (www.videometer.com) (Carstensen & Hansen, 2006a).

2.5.2 Χαρακτηριστικά συσκευών και διαδικασίες εφαρμογής της πολυφασματικής απεικόνισης

Για την απεικόνιση ενός δείγματος (113), το δείγμα τοποθετήθηκε επάνω στο φορέα (103) και μετακινώντας το επίπεδο τοποθέτησης του φορέα (112) πραγματοποιήθηκε εστίαση της κάμερας (102) στο δείγμα προς απεικόνιση.

Οι εικόνες που καταγράφηκαν κατά την πειραματική διαδικασία έχουν πολυφασματικές εικόνες σε 18 διαφορετικά μήκη κύματος που κυμαίνονται από 405 nm έως 970 nm Σύμφωνα με την ευρεσιτεχνία που αναπτύχθηκε από τους Carstensen & Hansen (2006a), το οργανολογικό σύστημα καταγράφει τις ανακλάσεις των μονοχρωματικών ακτινοβολιών για τις μπάντες των μηκών

κύματος (18 μπάντες μονοχρωματικής ακτινοβολίας για το εύρος 405 nm έως 970 nm). Ειδικότερα, η συγκεκριμένη συσκευή πλαισιώνει την επιφανειακή ανάκλαση δειγμάτων από 18 διαφορετικά μονοχρωματικά μήκη κύματος και συγκεκριμένα: 405, 435, 450, 470, 520, , 570, 590, 630, 645, 660, 700, 850, 870, 890, 910, 940 και 970 nm. που προκύπτουν από την προσπίπτουσα ακτινοβολία στο δείγμα (Spyrelli et al., 2021). Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε petri τρυβλία κι έπειτα στο φορέα του αντικειμένου προς απεικόνιση. Η σφαίρα Ulbricht διαθέτει εσωτερική λευκή επίστρωση ώστε να επιτευχθεί ομοιογενής κατανεμημένη διάχυση φωτός σε ολόκληρο τον κοίλο χώρο (Panagou et al., 2014; Carstensen & Hansen, 2006a). Στο χείλος της σφαίρας, οι δίοδοι εκπομπής φωτός (λάμπες LED) για την κάθε φασματική κατανομή τοποθετούνται το ένα δίπλα στο άλλο ώστε να κατανέμονται ομοιόμορφα (Εικόνα 2.16). Με τη λήψη μιας εικόνας τα LED ανάβουν διαδοχικά και η ανάκλαση για το κάθε συγκεκριμένο μήκος κύματος καταγράφεται από την κάμερα που βρίσκεται επάνω (Panagou et al., 2014).



Εικόνα 2.16: Απεικόνιση του εσωτερικού της σφαίρας της συσκευής Videometer lab. Η εικόνα υποδεικνύει την τοποθέτηση των διαφορετικών διόδων της φωτεινής ακτινοβολίας για τα διάφορα μήκη κύματος και τη λευκή εσωτερική επίστρωση της κοιλότητας (Carstensen et al., 2006b).

Όσον αφορά στη συσκευή Videometer lite, πρόκειται για ένα φορητό όργανο πολυφασματικής απεικόνισης που υπολογίζει την ανάκλαση από την πρόσπτωση ακτινοβολίας 7 μηκών κύματος από 405nm – 850 nm και πιο συγκεκριμένα τα μήκη κύματος είναι 405 nm (Violet), 460 nm (Blue), 525 nm (Cyan), 590 nm (Amber), 621 nm (Red), 660 nm (Red), 850 nm (Near Infrared-NIR). Η συγκεκριμένη συσκευή ενδείκνυται για ταχείες μεθόδους ανάλυσης, καθώς η απεικόνιση διαρκεί

μόλις 7-10 δευτερόλεπτα και υπάρχει η δυνατότητα σύνδεσης με το λογισμικό VideometerLab (Lytou et al., 2024).

Πριν τη διαδικασία απεικόνισης προηγούνται η διαδικασία ευθυγράμμισης/ βαθμονόμησης (calibration) στο όργανο φασματοσκοπικής απεικόνισης και αυτή περιλάμβανε τη γεωμετρική βαθμονόμηση (geometrical calibration) και την φασματική βαθμονόμηση (spectral calibration) (Carstensen & Hansen, 2006a). Η πρώτη βαθμονόμηση, για τη συσκευή Videometer lab2, καθίστατο με την απεικόνιση 3^{ων} δισκίων προς calibration: ένα χρώματος ανοιχτό γκρι, ένα σκούρου χρώματος κι ένα σκούρο με λευκές βούλες σε ομοιόμορφη κατανομή. Η παραπάνω διαδικασία βαθμονόμησης πραγματοποιούνταν καθημερινά πριν τη χρήση του οργάνου. Η δεύτερη διαδικασία βαθμονόμησης αφορούσε στην 0 ημέρα του πειράματος, και συμπεριλάμβανε την απεικόνιση ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος τσιπούρας τοποθετημένο σε petri τρυβλίο. Η απεικόνιση αυτή αποθηκευόταν ως light set up και χρησιμοποιούταν σε όλη τη διάρκεια του εκάστοτε πειράματος μέχρι τη λήξη του. Η διαδικασία αυτόματου φωτισμού είναι γνωστή ως autologht (Fengou et al., 2019).

Για τη συσκευή Videometer lite η 1^η βαθμονόμηση που πραγματοποιούνταν καθημερινά αφορούσε στην απεικόνιση ενός κυκλικού επιπέδου λευκού χρώματος που περικλειόταν στη βάση του ανοίγματος της σφαίρας. Η 2^η πραγματοποιούταν την 0 ημέρα κάθε πειράματος, αφορούσε την απεικόνιση ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος τσιπούρας και αποθηκευόταν ως light set up για συνεχόμενη χρήση μέχρι τη λήξη του πειράματος, όπως ακριβώς και για το Videometer lab2 (Fengou et al., 2019).

Προς τη διασφάλιση μη συμπίληψης του περιβάλλοντος του δείγματος (petri τρυβλίο και χώρος ανάμεσα σε αυτό και το δείγμα) καθώς και ανεπιθύμητων πληροφοριών πχ περιμετρικά κομμάτια δέρματος που ενδεχομένως εξείχαν, πραγματοποιήθηκε μια διαδικασία προεπεξεργασίας με σκοπό την απομόνωση του τμήματος της εικόνας που περιείχε αμιγώς τις πληροφορίες από τον ιστό της σάρκας ή δέρματος (ανάλογα με το αντικείμενο απεικόνισης). Για την αφαίρεση των πληροφοριών αυτών πραγματοποιήθηκε η κατάτμηση (segmentation) της εικόνας χρησιμοποιώντας το λογισμικό συστήματος VideometerLab (έκδοση 2.12.39). Έπειτα, μεγιστοποιώντας την αντίθεση μεταξύ του υλικού του δείγματος και των άλλων άσχετων αντικειμένων/ υλικών προέκυψε μια λειτουργία κατωφλίου κι έτσι διασφαλίστηκε η απομόνωση της περιοχής ενδιαφέροντος (κομμάτι δέρματος ή σάρκας του οργανισμού). Η κανονική ανάλυση διάκρισης (CDA) χρησιμοποιήθηκε ως μέθοδος εποπτευόμενου μετασχηματισμού για την κατάτμηση των εικόνων σε περιοχές ενδιαφέροντος

(ROI). Μετά τον μετασχηματισμό με τη χρήση CDA, ο διαχωρισμός επιθυμητού και μη επιθυμητού δείγματος ενδιαφέροντος καθίστατο εφικτός και μέσω της διαδικασίας προέκυπτε η εικόνα με το απομονωμένο δείγμα σάρκας ή δέρματος ως κύρια περιοχή ενδιαφέροντος (ROI). Από τη χρήση αυτής της εικόνας γινόταν η εξαγωγή των φασματικών δεδομένων, τα οποία έπειτα χρησιμοποιήθηκαν για την στατιστική ανάλυση. Για την κάθε περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) στην εικόνα υπολογίστηκε το μέσο του φάσματος ανάκλασης με τον μέσο όρο της έντασης των pixels (Panagou et al., 2014) μαζί με τις τυπικές τους αποκλίσεις χρησιμοποιώντας το λογισμικό VideometerLab (έκδοση 2.12.39) που ελέγχει τη λειτουργία του οργάνου (Fengou et al., 2019).

2.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ – ΜΟΝΤΕΛΑ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ OMX ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΩΝ ΜΕΡΙΚΩΝ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ (PLS-R)

Η ανάλυση δεδομένων για την παρούσα έρευνα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού ανάλυσης δεδομένων The Unscrambler© έκδοση 9.7 (CAMO Software AS, Oslo, Norway). Με την παλινδρόμηση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) έγινε συσχέτιση μεταξύ των φασματικών δεδομένων και των μικροβιακών αποτελεσμάτων για την Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα των δειγμάτων όπου τα παραπάνω αξιοποιήθηκαν ως x (ανεξάρτητες) μεταβλητές τα φασματικά δεδομένα και ως y (εξαρτημένες) μεταβλητές τα μικροβιολογικά αποτελέσματα της OMX.

Για τη διαδικασία βαθμονόμησης και της εσωτερικής επικύρωσης (calibration, cross-validation) χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα από τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (train set) ενώ για την εξωτερική επικύρωση (prediction) χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα από τα δείγματα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set). Παράλληλα πραγματοποιήθηκε τεστ αβεβαιότητας προκειμένου να αποφευχθεί ο κίνδυνος υπερπροσαρμογής και να διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα πρόγνωσης του μοντέλου (Manthou et al., 2020; Wold et al, 2001).

Αναλυτικότερα, στόχος της ανάλυσης PLS είναι η συσχέτιση του συνόλου των προγνωστικών μεταβλητών X και Y . Με τη συγκεκριμένη μέθοδο πραγματοποιείται προβολή των αρχικών δεδομένων εισόδου-εξόδου σε έναν λανθάνοντα χώρο, εξάγοντας μια σειρά από στοιχεία γνωστά ως λανθάνουσες μεταβλητές (LVs), οι οποίες έχουν ορθογώνια δομή και καταγράφουν το μεγαλύτερο μέρος της διακύμανσης στα αρχικά δεδομένα. Ο βέλτιστος αριθμός των LV προσδιορίζεται με τη βοήθεια των υπολειπόμενων διακυμάνσεων ώστε να εξαλειφθεί η

υπερπροσαρμογή των δεδομένων (over-fitting). Η ποσοτική ανάλυση (PLS-R) εκτιμήθηκε ως ικανή για πρόβλεψη βάσει των συντελεστών συσχέτισης, των σφαλμάτων RMSE, και των λανθανόντων μεταβλητών (LVs) (Brereton, 2000; Panagou et al., 2014). Ομοίως οι τιμές a , b και R^2 που εξήχθησαν από το μοντέλο, αξιολογήθηκαν κι αυτές για την εκτίμηση της ικανότητας πρόβλεψης του μοντέλου. Οι παραπάνω αντιστοιχούν στην εξίσωση συσχέτισης των μεταβλητών της μορφής $y = ax + b$ όπου a η κλίση της ευθείας. Οι βέλτιστες αποδόσεις του μοντέλου αντιστοιχούν σε τιμές: $\alpha \rightarrow 1$, $\beta \rightarrow 0$, $RMSE \rightarrow 0$, $R^2 \rightarrow 1$.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΛΑΣΣΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

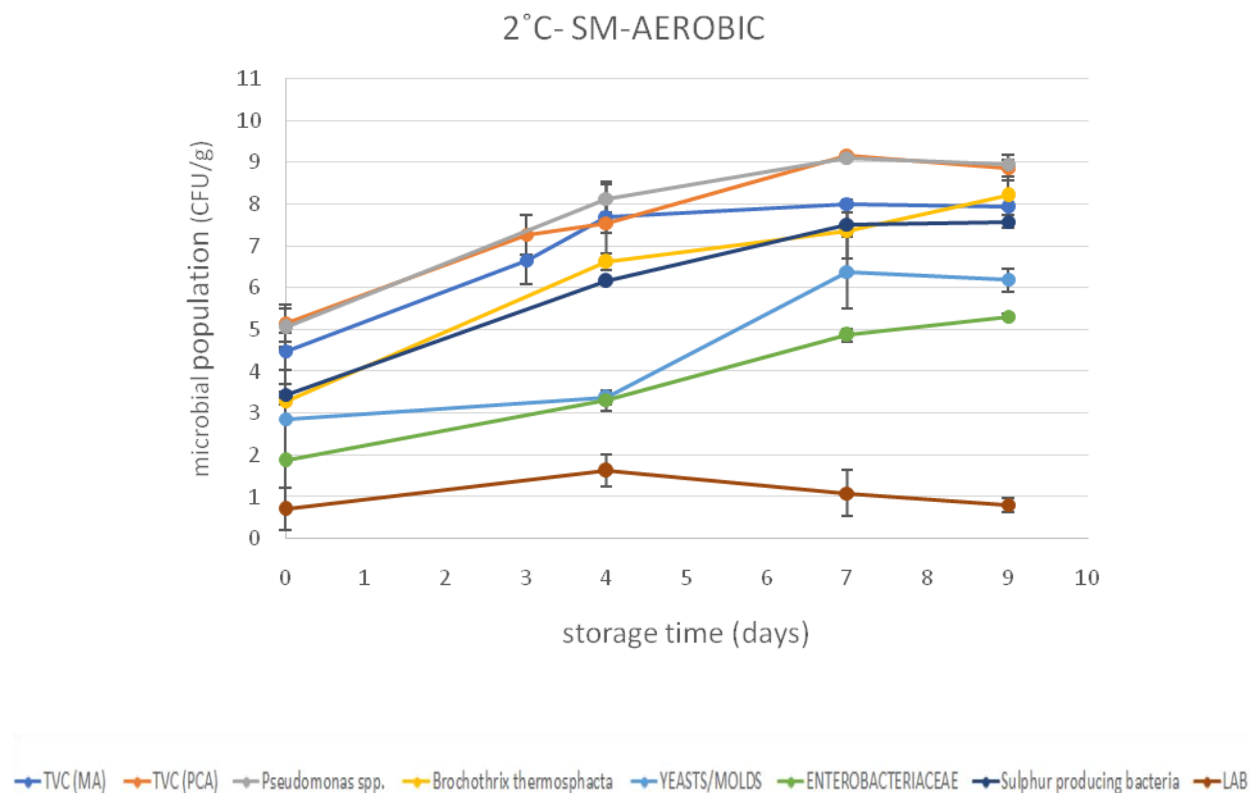
Η μικροβιολογική διερεύνηση πραγματοποιήθηκε για την Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) με τη χρήση δύο θρεπτικών υλικών (Marine Agar, PCA), καθώς και για τους αλλοιογόνους μικροοργανισμούς *Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta*, ζύμες-μήκυτες, θειοπαραγωγικά βακτήρια, βακτήρια της οικογένειας *Enterobacteriaceae* και Lactic Acid Bacteria. Τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των μικροοργανισμών παρατίθενται στην παράγραφο 2.2.

3.1.1 Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων των δειγμάτων τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες

Για τα δύο θερμοκρασιακά προφίλ αποθήκευσης των δειγμάτων (2°C, 4°C), κατά τη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης, τα μικροβιολογικά αποτελέσματα έδειξαν ως κύριο αλλοιογόνο μικροοργανισμό τον *Pseudomonas* spp. Ο αμέσως επόμενος επικρατέστερος μικροοργανισμός της χλωρίδας της τσιπούρας φαίνεται να ήταν τα βακτήρια παραγωγής H₂S, ενώ τα LAB παρουσίασαν τις χαμηλότερες αριθμητικά μετρήσεις σε όλα τα δείγματα. Η σειρά επικρατέστερων μικροοργανισμών στη μικροχλωρίδα της τσιπούρας (*Sparus aurata*) που ανιχνεύτηκε στα περισσότερα διεξαχθέντα πειράματα επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία (Koutsoumanis & Nychas, 2000; Parlapani & Bozaris 2016) για το συγκεκριμένο είδος αλλοιογόνων μικροοργανισμών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία ο κύριος αλλοιογόνος μικροοργανισμός για ιχθυρά αποθηκευμένα σε χαμηλές θερμοκρασίες σε αερόβιες συνθήκες είναι ο *Pseudomonas* spp. (Alvarez et al., 2008; Koutsoumanis et al., 1999; Koutsoumanis and Nychas, 1999, 2000; Tryfinopoulou et al., 2002, 2007). Παρακάτω παρατίθενται τα διαγράμματα μικροβιακής ανάπτυξης κατά τη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης σε αερόβιες συνθήκες για τα δείγματα τσιπούρας που προμηθεύτηκαν από καταστήματα λιανικής πώλησης (super market) και από την υδατοκαλλιέργεια.

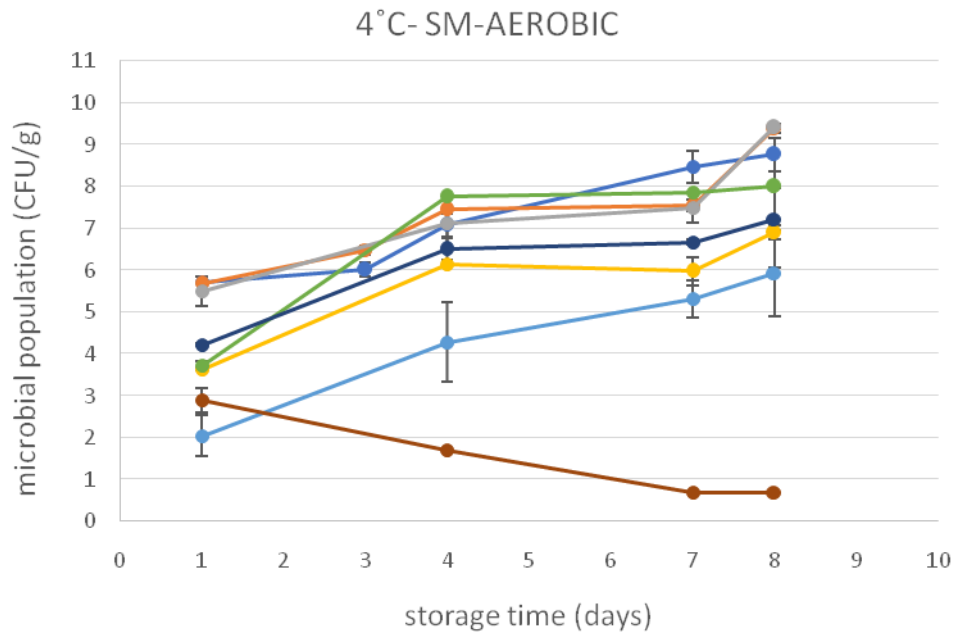
Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης που αποθηκεύτηκαν στους 2°C ξεκίνησε από 4.84 λογαρίθμους (logCFU/g) την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.1). Την 3^η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφάνισαν αλλοίωση σε μη αποδεκτό επίπεδο (7.27 λογάριθμοι), με μέγιστο αλλοιογόνο πληθυσμό τους 9.20 λογαρίθμους (7^η ημέρα αποθήκευσης). Ο μικροοργανισμός *Pseudomonas* spp., φαίνεται να ήταν ο επικρατέστερος,

με αμέσως επόμενους τους *Brochothrix thermosphacta*, και θειοπαραγωγικά βακτήρια που κινούνταν ανταγωνιζόμενοι στους ίδιους ρυθμούς ανάπτυξης. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν των LAB.



Διάγραμμα 3.1: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης.

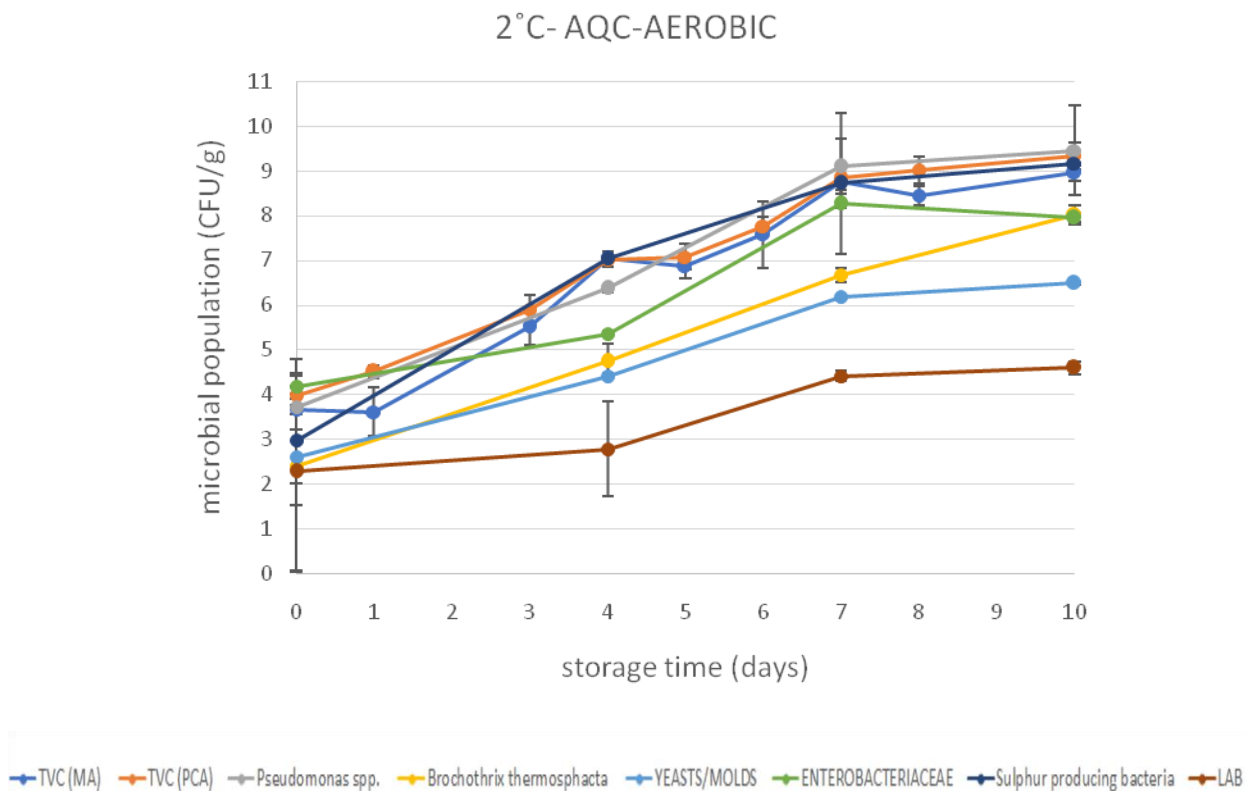
Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης που αποθηκεύτηκαν στους 4°C ξεκίνησε στους 4.5 λογαρίθμους την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.2). Την 3^η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφάνισαν αλλοίωση σε μη αποδεκτό επίπεδο (8.10 λογάριθμοι), με μέγιστο αλλοιογόνο πληθυσμό τους 10.00 λογαρίθμους (7^η ημέρα αποθήκευσης). Τα βακτήρια της οικογένειας *Enterobacteriaceae* φαίνεται να επικρατούν πληθυσμιακά και ο μικροοργανισμός *Pseudomonas* spp., είναι ο αμέσως μετά επικρατέστερος. Η παρουσία και επικράτηση των *Enterobacteriaceae* ενδεχομένως υποδηλώνει μόλυνση κατά τη διαδικασία επεξεργασίας (postprocess contamination), καθώς η παρουσία τους είναι ενδεικτική της τήρησης των GMPs (Eden, 2014). Την 9^η ημέρα αποθήκευσης τελικά επικράτησε ο μικροοργανισμός *Pseudomonas* spp. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν για τα LAB.



— TVC(MA) — TVC(PCA) — *Pseudomonas* spp. — *Brochothrix thermosphacta* — YEASTS/MOLDS — ENTEROBACTERIACEAE — Sulphur producing bacteria — LAB

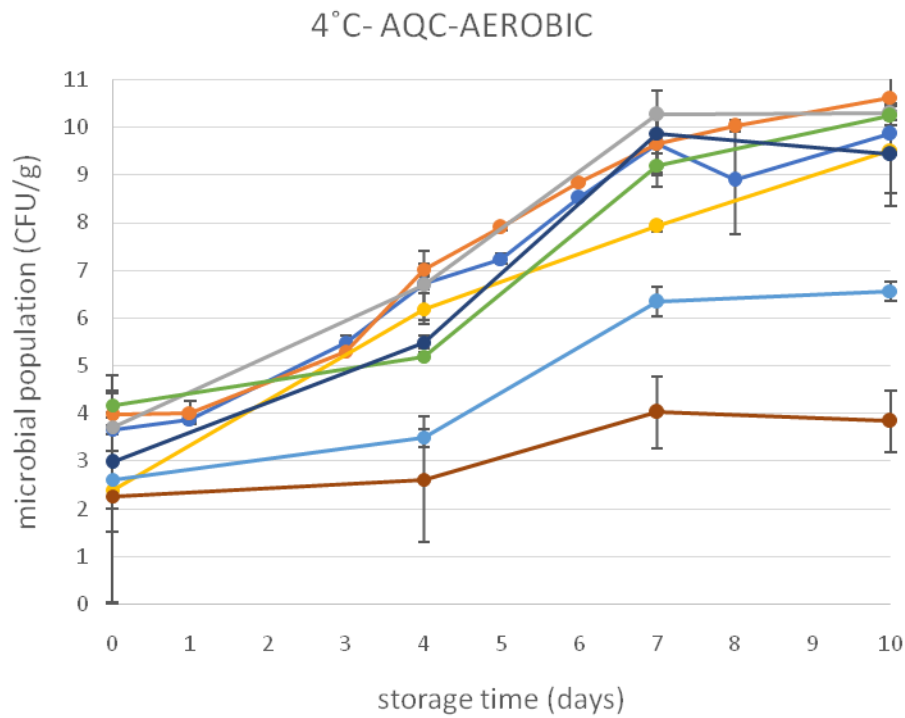
Διάγραμμα 3.2: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης.

Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια που αποθηκεύτηκαν στους 2°C ξεκίνησε από 4.00 λογαρίθμους την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.3). Την 4^η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφανίζουν αλλοίωση σε μη αποδεκτό επίπεδο (7.00 λογάριθμοι), με μέγιστο αλλοιογόνο πληθυσμό τους 9.30 λογαρίθμους (10^η ημέρα αποθήκευσης). Οι μικροοργανισμοί *Pseudomonas* spp., και τα θειοπαραγωγικά βακτήρια φάνηκε να κινούνται ανταγωνιζόμενοι με ίδιους ρυθμούς ανάπτυξης. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν των LAB.



Διάγραμμα 3.3: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.

Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια που αποθηκεύτηκαν στους 4°C ξεκίνησε από 4.00 λογαρίθμους την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.4). Την 4^η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφάνισαν αλλοίωση σε μη αποδεκτό επίπεδο (7.00 λογάριθμοι), με μέγιστο αλλοιογόνο πληθυσμό τους 10.60 λογαρίθμους (10^η ημέρα αποθήκευσης). Επικρατέστερος μικροοργανισμός ήταν ο *Pseudomonas* spp., και πληθυσμιακά ακολούθησαν τα θειοπαραγωγικά βακτήρια και ο *Brochothrix thermosphacta*. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν των LAB.



Διάγραμμα 3.4: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C σε αερόβιες συνθήκες για δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.

Τα μικροβιολογικά αποτελέσματα για την OMX συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα όπου επιδεικνύεται για την εκάστοτε συνθήκη αποθήκευσης ο αρχικός, κρίσιμος (ενδεικτικός αλλοίωσης) και τελικός πληθυσμός σε αερόβιες συνθήκες.

Πίνακας 3.1: Σύνοψη κρίσιμων μικροβιολογικών τιμών για την OMX του πειράματος σε αερόβιες συνθήκες.

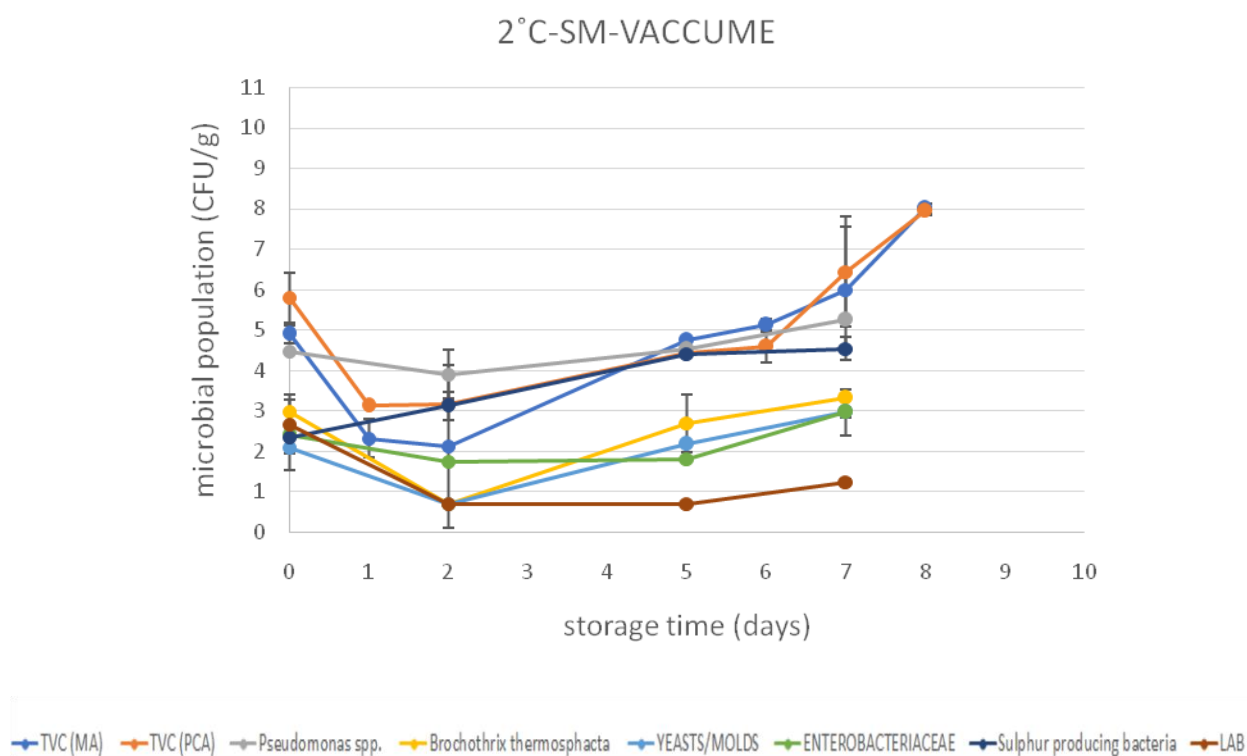
Προέλευση δειγμάτων τσιπούρας	T (θερμοκρασία αποθήκευσης)	t (χρόνος αποθήκευσης σε ημέρες)	OMX (Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα): logCFU/g με τις τυπικές αποκλίσεις
διάφορα σημεία λιανικής πώλησης	2°C	D0	4.84 ± 0.10
		D3	7.27 ± 0.23
		D7	9.20 ± 0.39
	4°C	D0	4.50 ± 0.03
		D3	8.10 ± 0.05
		D7	10.00 ± 0.30
υδατοκαλλιέργεια	2°C	D0	4.00 ± 0.10
		D4	7.00 ± 0.02
		D7	9.30 ± 0.51
	4°C	D0	4.00 ± 0.18
		D4	7.00 ± 0.20
		D7	10.60 ± 0.60

3.1.2 Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων των δειγμάτων τσιπούρας σε συσκευασία κενού (skin packaging)

Για τα δύο θερμοκρασιακά προφίλ αποθήκευσης των δειγμάτων (2°C, 4° C) κατά τη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης τα μικροβιολογικά αποτελέσματα δείχνουν ως κύριο αλλοιογόνο μικροοργανισμό τον *Pseudomonas* spp. Ο αμέσως επόμενος επικρατέστερος μικροοργανισμός της χλωρίδας της τσιπούρας φαίνεται να είναι τα βακτήρια παραγωγής H₂S, ενώ τα LAB παρουσίασαν τις χαμηλότερες αριθμητικά μετρήσεις σε όλα τα δείγματα. Οι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί των οποίων ευνοήθηκε η ανάπτυξη, φαίνεται να έχει ίδια συμπεριφορά ως προς το είδος με εκείνη των αερόβιων συνθηκών αποθήκευσης. Παρακάτω φαίνονται τα διαγράμματα μικροβιακής ανάπτυξης κατά τη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης σε συσκευασία κενού (skin packaging) για τα δείγματα

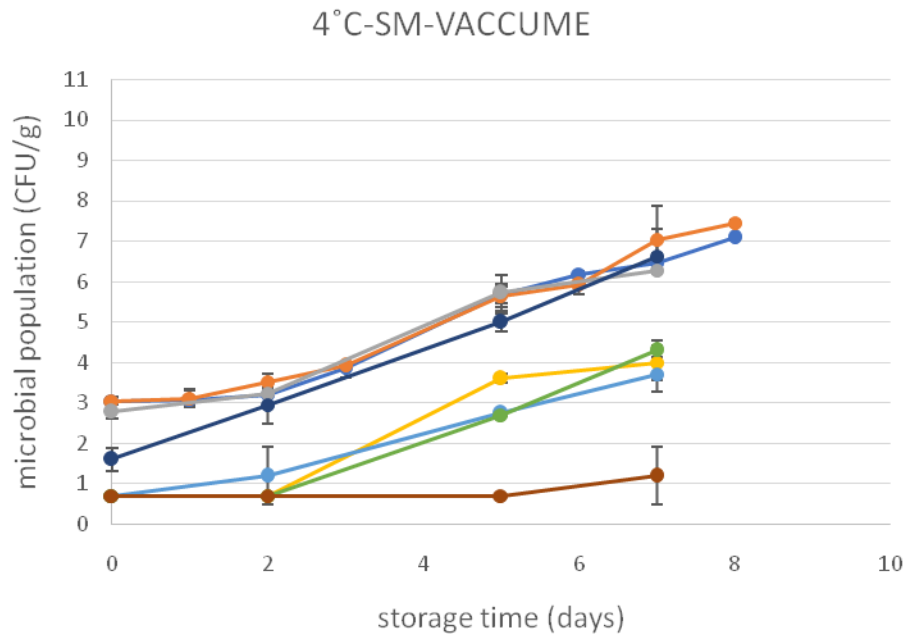
τσιπούρας που προμηθεύτηκαν από καταστήματα λιανικής πώλησης (super market) και από την υδατοκαλλιέργεια.

Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης που αποθηκεύτηκαν στους 2°C ξεκίνησε από 5.80 λογαρίθμους την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.5). Την 8η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφάνισαν αλλοίωση σε μη αποδεκτό επίπεδο (7.90 λογάριθμοι) όπου ήταν και ο μέγιστος πληθυσμός. Ο μικροοργανισμός *Pseudomonas* spp., φαίνεται να ήταν ο επικρατέστερος με αμέσως επόμενο τα θειοπαραγωγικά βακτήρια. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν των LAB.



Διάγραμμα 3.5: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης.

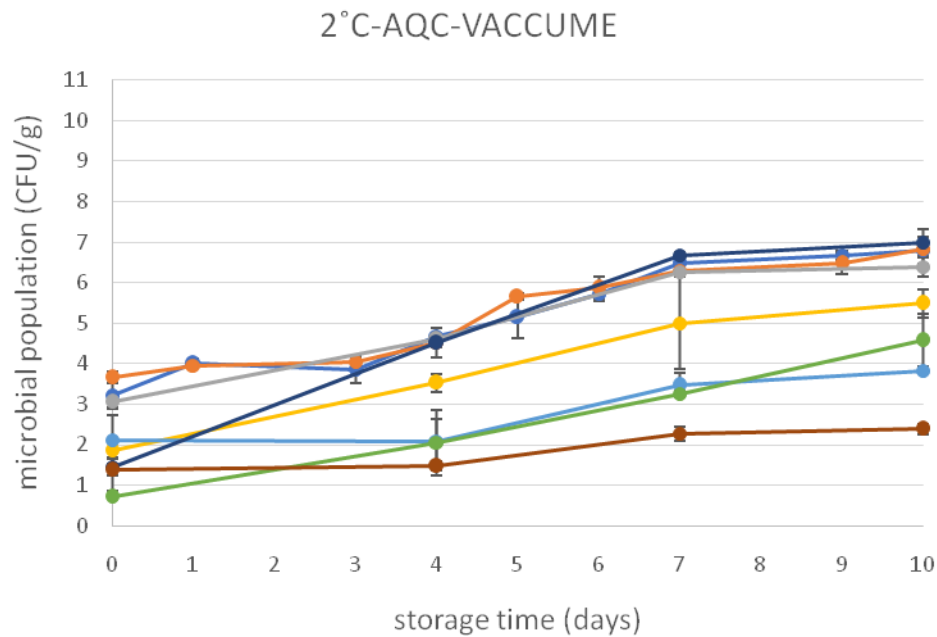
Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης που αποθηκεύτηκαν στους 4°C ξεκίνησε από 3.65 λογαρίθμους την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.6). Την 7^η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφάνισαν αλλοίωση σε μη αποδεκτό επίπεδο (7.00 λογάριθμοι) και ο μέγιστος πληθυσμός ήταν της 8^{ης} ημέρας αποθήκευσης (7.40 λογάριθμοι). Ο μικροοργανισμός *Pseudomonas* spp., φαίνεται να ήταν ο επικρατέστερος με αμέσως επόμενο τα θειοπαραγωγικά βακτήρια. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν των LAB.



— TVC(MA) — TVC(PCA) — *Pseudomonas* spp. — *Brochothrix thermosphacta* — YEASTS/MOLDS — ENTEROBACTERIACEAE — Sulphur producing bacteria — LAB

Διάγραμμα 3.6: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης.

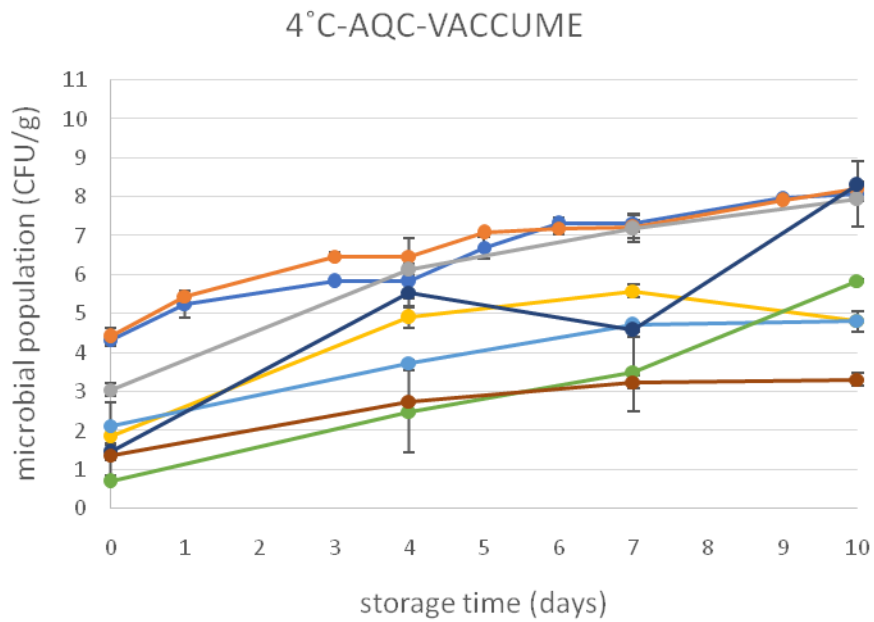
Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια που αποθηκεύτηκαν στους 2°C ξεκίνησε από 3.65 λογαρίθμους την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.7). Τη 10^η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφάνισαν αλλοίωση κοντά στο μη αποδεκτό επίπεδο (6.84 λογάριθμοι) όπου ήταν και ο μέγιστος πληθυσμός. Ο μικροοργανισμός *Pseudomonas* spp., φαίνεται να ήταν ο επικρατέστερος με αμέσως επόμενο τα θειοπαραγωγικά βακτήρια. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν των LAB.



— TVC(MA) — TVC(PCA) — Pseudomonas spp. — Brochothrix thermosphacta — YEASTS/MOLDS — ENTEROBACTERIACEAE — Sulphur producing bacteria — LAB

Διάγραμμα 3.7: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.

Η διερεύνηση των δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια που αποθηκεύτηκαν στους 4°C ξεκίνησε από 4.40 λογαρίθμους την ημέρα 0 του πειράματος (Διάγραμμα 3.8). Την 5^η ημέρα αποθήκευσης τα δείγματα εμφάνισαν αλλοίωση σε μη αποδεκτό επίπεδο (7.10 λογάριθμοι) με μέγιστο πληθυσμό τους 8.10 λογαρίθμους (ημέρα 10). Ο μικροοργανισμός *Pseudomonas* spp., φαίνεται να ήταν ο επικρατέστερος με αμέσως επόμενο τα θειοπαραγωγικά βακτήρια. Ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης ήταν των LAB.



Διάγραμμα 3.8: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C για δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε συσκευασία κενού προμηθευόμενης από την υδατοκαλλιέργεια.

Πίνακας 3.2: Σύνοψη κρίσιμων μικροβιολογικών τιμών για την OMX του πειράματος σε συνθήκες skin packaging.

προέλευση δειγμάτων τσιπούρας	T (θερμοκρασία αποθήκευσης)	t (χρόνος αποθήκευσης σε ημέρες)	OMX (Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα): logCFU/g με τις τυπικές αποκλίσεις
διάφορα σημεία λιανικής πώλησης	2°C	D0	5.80 ± 0.62
		D8	7.90 ± 0.09
	4°C	D0	3.00 ± 0.10
		D7	7.00 ± 0.84
υδατοκαλλιέργεια	2°C	D8	7.40 ± 0.08
		D0	3.65 ± 0.23
	4°C	D10	6.84 ± 0.54
		D0	4.40 ± 0.39
		D5	7.10 ± 0.04
		D10	8.10 ± 0.09

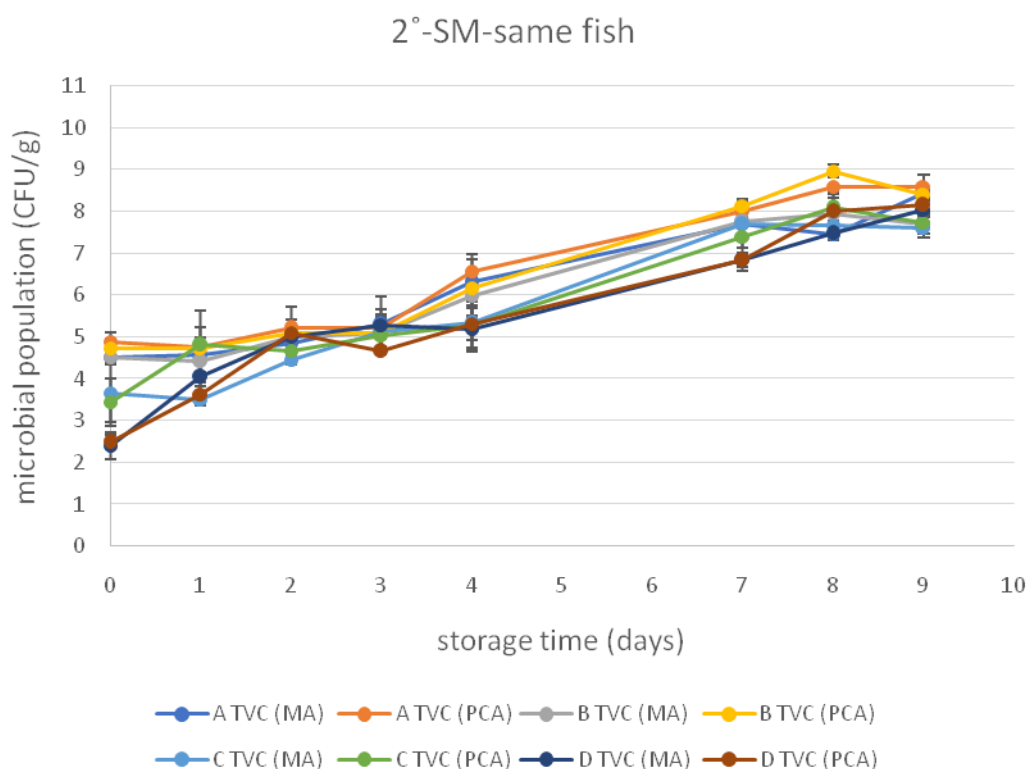
Τα δύο θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη μικροβιολογική διερεύνηση της OMX των δειγμάτων της τσιπούρας (MA, PCA) παρουσιάζουν μικρές αποκλίσεις ($<0.5 \log$ στις περισσότερες μετρήσεις με μέγιστη απόκλιση περίπου $1 \log$) με το Marine Agar να υποτιμάται αριθμητικά στην πλειονότητα των μετρήσεων. Όσον αφορά, λοιπόν, στην αποτελεσματικότητα των δύο θρεπτικών υλικών, το PCA φαίνεται να είναι πιο αντιπροσωπευτικό των πληθυσμιακών μετρήσεων των αποικιών συγκριτικά με το Marine Agar, λόγω της κοντινότερης του αριθμητικά σχέσης με τον εκάστοτε επικρατέστερο μικροοργανισμό. Σύμφωνα με τους (Broekaert et al., 2009) ορισμένα είδη ψευδομονάδας, μεταξύ αυτών και το *Pseudomonas* spp. δυσκολεύονται να αναπτυχθούν στο περιβάλλον του Marine Agar. Ίσως αυτό εξηγεί την αριθμητική υπεροχή των αποικιών στο υλικό PCA, μιας και ο επικρατέστερος αλλοιογόνος μικροοργανισμός στην πλειονότητα των

διεξαχθέντων πειραμάτων ήταν ο *Pseudomonas* spp. Για το λόγο αυτό, το PCA ήταν το υλικό από το οποίο χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές OMX προς την κατασκευή του μοντέλου πρόβλεψης.

3.1.3 Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων ίδιων οργανισμών τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες

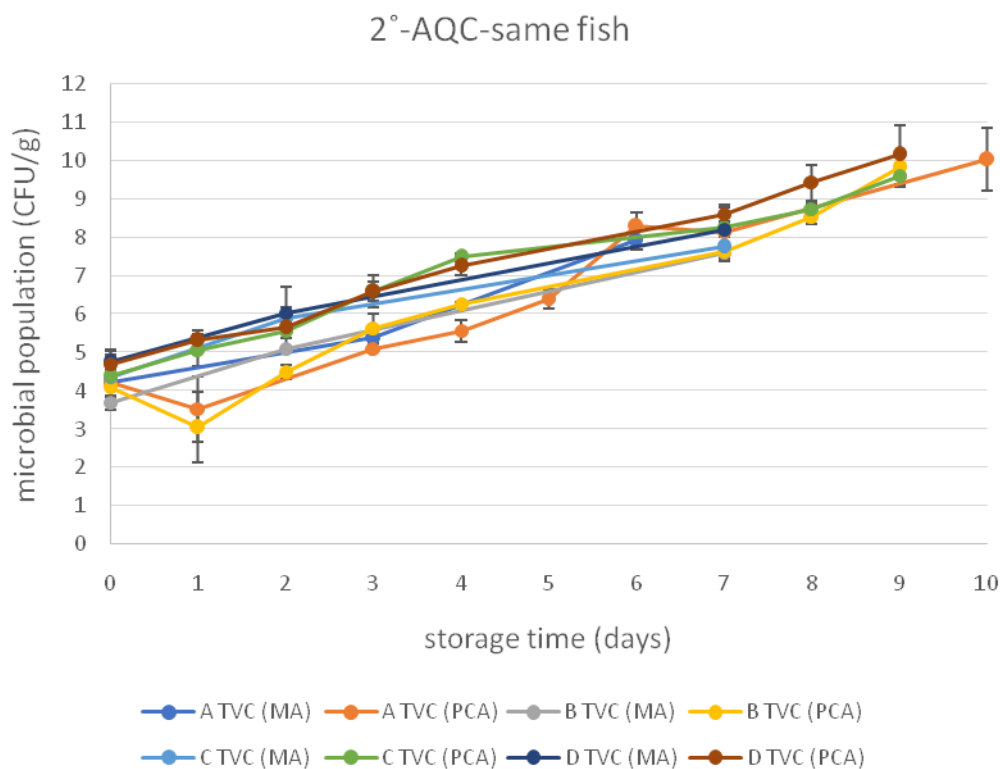
Η διερεύνηση πραγματοποιήθηκε για τον ίδιο οργανισμό ιχθύος (τσιπούρα) σε κάθε μέτρηση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 2°C. Τα δείγματα διερευνήθηκαν μικροβιολογικά ως προς την Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα με τη χρήση δύο θρεπτικών υλικών (PCA, Marine Agar) σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης. Παρακάτω παρατίθενται τα διαγράμματα μικροβιολογικής ανάπτυξης για δείγματα προερχόμενα από διαφορετικά σημεία λιανικής (Διάγραμμα 3.9) και την υδατοκαλλιέργεια (Διάγραμμα 3.10).

Για το πείραμα συντήρησης στους 2°C των δειγμάτων από τα διάφορα καταστήματα λιανικής σε αερόβιες συνθήκες, ο αλλοιογόνος πληθυσμός ξεκίνησε από 3.90 ± 0.99 λογαρίθμους (0 ημέρα) και εμφάνισε αλλοίωση την 7^η ημέρα του πειράματος (7.60 ± 0.52 λογάριθμοι) (Διάγραμμα 3.9).



Διάγραμμα 3.9: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για ίδια δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από διαφορετικά σημεία λιανικής πώλησης.

Για το πείραμα συντήρησης στους 2°C των δειγμάτων από την υδατοκαλλιέργεια σε αερόβιες συνθήκες, ο αλλοιογόνος πληθυσμός ξεκίνησε από 4.30 ± 0.38 λογαρίθμους (0 ημέρα) και εμφάνισε αλλοίωση την 6^η ημέρα του πειράματος (8.20 ± 0.35 λογάριθμοι) (Διάγραμμα 3.10).



Διάγραμμα 3.10: Τιμές μικροβιολογικών μετρήσεων σε χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 2 °C για ίδια δείγματα φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια.

Η σχετικά χαμηλή τιμή εκκίνησης αλλοιογόνου χλωρίδας, καθώς και ο σχετικά βραδύς ρυθμός ανάπτυξης ενδεχομένως οφείλονται στο χειρισμό του οργανισμού την ημέρα 0 του πειράματος (ο οργανισμός τεμαχίστηκε σε φιλέτα εντός του εργαστηρίου την ημέρα 0).

Από τη μικροβιολογική διερεύνηση της παρούσας έρευνας, επικρατέστερος αλλοιογόνος μικροοργανισμός ήταν ο *Pseudomonas* spp. κι έπειτα τα βακτήρια παραγωγής H_2S , όπως επιβεβαιώνεται κι από τη βιβλιογραφία (Koutsoumanis & Nychas, 2000; Parlapani & Boziaris 2016; Parplani et al., 2014; Álvarez et al., 2008). Τα μικροβιολογικά αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φαίνεται να είναι σύμφωνα με την παραπάνω επιστημονική βιβλιογραφία για όλα τα δείγματα όλων των συνθηκών προελεύσεων και θερμοκρασίας που διερευνήθηκαν. Μόνη εξαίρεση αποτέλεσε ένα μέρος του 2^{ου} πειράματος που αφορούσε δείγματα φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενη από καταστήματα λιανικής αποθηκευμένα στους 4°C σε αερόβιες συνθήκες, όπου

κυρίαρχος μικροοργανισμός ήταν βακτήρια της οικογένειας *Enterobacteriaceae* ανταγωνιζόμενα με τον *Pseudomonas* spp. Η αρχική παρουσία και επικράτηση *Enterobacteriaceae* ερμηνεύτηκε ως πιθανή μόλυνση των δειγμάτων κατά τη διαδικασία επεξεργασίας (postprocess contamination) όπως αναφέρεται και στη βιβλιογραφία (Eden, 2014).

Η συσκευασία κενού φάνηκε να έχει ευεργετική επίδραση στην αύξηση της διάρκειας ζωής της τσιπούρας, καθώς οι κρίσιμες τιμές αλλοίωσης ($7 \log$ CFU/g) εντοπίστηκαν 4 ή 5 ημέρες μετά συγκριτικά με τα δείγματα των αερόβιων συνθηκών. Πιθανόν η ευνοημένη αύξηση του αλλοιογόνου πληθυσμού της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες έναντι των αναερόβιων να οφείλεται στην αερόβια φύση του *Pseudomonas* spp., ως επικρατέστερου μικροοργανισμού στη μικροχλωρίδα της τσιπούρας.

Η μείωση της θερμοκρασίας αποθήκευσης, όπως ήταν αναμενόμενο, φαίνεται να επιδρά επιβραδυντικά στην αλλοίωση του φιλέτου τσιπούρας για τα δείγματα που προμηθεύτηκαν από την υδατοκαλλιέργεια, ωστόσο σε ήπιο βαθμό καθώς η διαφορά των δύο θερμοκρασιών αποθήκευσης είναι μόλις 2°C. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο θερμοκρασιακός παράγοντας αποθήκευσης δείχνει να έχει τη μεγαλύτερη μικροβιολογική επίδραση στην αλλοίωση (Fengou et al., 2018; Koutsoumanis and Nychas, 2000; Koutsoumanis et al., 1999; Parlapani et al., 2014). Όσον αφορά στα δείγματα που προμηθεύτηκαν από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης, η θερμοκρασία δε φαίνεται να επίδρασε επιβραδυντικά στους 2°C κι αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην αδυναμία ελέγχου του χειρισμού πριν την παραλαβή των δειγμάτων στο εργαστήριο (πχ κατά τη μεταφορά στο κατάστημα λιανικής, τη συντήρησή του στα ψυγεία του καταστήματος κ.α.). Ένα άλλο ενδεχόμενο μη επίδρασης της μειωμένης θερμοκρασίας στην επιβράδυνση της αλλοίωσης των δειγμάτων ίσως είναι η διαφορές του αρχικού πληθυσμού στον κάθε διαφορετικό οργανισμό.

Στο πείραμα που διεξάχθηκε στον ίδιο οργανισμό παρατηρήθηκε μικρότερος αρχικός πληθυσμός από τα υπόλοιπα δείγματα. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην εντός του εργαστηρίου πρακτικής φιλεταρίσματος την ημέρα 0 του εκάστοτε πειράματος. Το ψάρι, δηλαδή, παραλαμβάνόταν ολόκληρο και την ημέρα της 1^{ης} ανάλυσης κοβόταν σε φιλέτα.

3.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ pH

Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις των τιμών του pH εμφάνισαν μια ήπια αυξητική τάση της τιμής pH των δειγμάτων με το πέρας του πειράματος αποθήκευσης. Η αύξηση ήταν πιο έντονη στα δείγματα που αποθηκεύτηκαν σε αερόβιες συνθήκες. Οι πίνακες με τα αποτελέσματα των μετρήσεων των τιμών pH για τα διεξαχθέντα πειράματα παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 3.3: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	6.08	0.01
3	6.24	0.05
4	6.25	0.02
7	6.19	0.02
9	6.25	0.02

Πίνακας 3.4: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 4°C σε αερόβιες συνθήκες.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	5.92	0.01
1	5.96	0.01
3	6.21	0.06
4	6.06	0.01
7	6.00	0.02
8	6.09	0.16

Πίνακας 3.5: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 2°C σε συσκευασία κενού.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	5.96	0.07
1	6.12	0.12
2	6.09	0.03
5	6.00	0.02
6	5.96	0.04
7	6.11	0.02
8	6.00	0.02

Πίνακας 3.6: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής και αποθηκευμένα στους 4°C σε συσκευασία κενού.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	6.07	0.01
1	6.11	0.06
2	6.09	0.02
3	6.10	0.00
5	6.05	0.01
6	5.89	0.00
7	6.08	0.01
8	6.06	0.01

Στους δύο παραπάνω πίνακες φαίνεται η τιμή του pH, για τα δείγματα που προμηθεύτηκαν από διάφορα καταστήματα λιανικής και ήταν αποθηκευμένα σε skin packaging, ήταν σχετικά σταθερή με μικρές διακυμάνσεις. Ενδεχομένως η μη συνέπεια της συγκεκριμένης φυσικοχημικής τιμής συγκριτικά με τα υπόλοιπα δεδομένα του πειράματος να οφείλεται στην ποικιλία προέλευσης δειγμάτων (προμηθεύτηκαν από διάφορα σημεία λιανικής πώλησης). Πάντως η ωρίμανση των δειγμάτων φαίνεται να αυξάνει την τιμή του pH.

Πίνακας 3.7: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	6.04	0.03
1	6.08	0.01
3	6.12	0.01
4	6.25	0.03
5	6.19	0.00
6	6.17	0.01
7	6.25	0.02
8	6.31	0.05
10	6.49	0.03

Πίνακας 3.8: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 4°C σε αερόβιες συνθήκες.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
1	6.04	0.03
3	6.13	0.03
4	6.16	0.02
5	6.18	0.01
6	6.19	0.00
7	6.26	0.04
8	6.37	0.05
10	6.71	0.00

Πίνακας 3.9: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 2°C σε συσκευασία κενού.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	6.04	0.01
1	6.10	0.01
3	6.09	0.02
4	6.32	0.04
5	6.16	0.03
6	6.17	0.04
7	6.11	0.07
9	6.31	0.03
10	6.26	0.02

Πίνακας 3.10: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αποθηκευμένα στους 4°C σε συσκευασία κενού.

Ημέρες αποθήκευσης	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
1	6.04	0.01
3	6.11	0.03
4	6.17	0.01
5	6.13	0.01
6	6.13	0.02
7	6.16	0.02
9	6.14	0.02
10	6.21	0.00

Για τα μικρότερα πειράματα που διεξήχθησαν και αφορούσαν τη διερεύνηση φιλέτου του ίδιου οργανισμού, αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες, ομοίως παρατηρείται αύξηση του pH με το πέρασ των ημερών. Ενδεικτικά οι αρχικές και τελικές τιμές για τα δείγματα που διερευνήθηκαν παρατίθενται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 3.11, Πίνακας 3.12).

Πίνακας 3.11: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προερχόμενα από τον ίδιο οργανισμό, προμηθευόμενα από διάφορα σημεία λιανικής κι αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.

Ημέρες αποθήκευσης	Δείγμα	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	A	6.21	0.01
	B	6.17	0.00
	C	5.99	0.03
	D	5.86	0.01
9	A	6.34	0.32
	B	6.31	0.06
	C	5.96	0.03
	D	6.08	0.08

Πίνακας 3.12: Εξέλιξη της τιμής του pH για τα δείγματα προερχόμενα από τον ίδιο οργανισμό, προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια κι αποθηκευμένα στους 2°C σε αερόβιες συνθήκες.

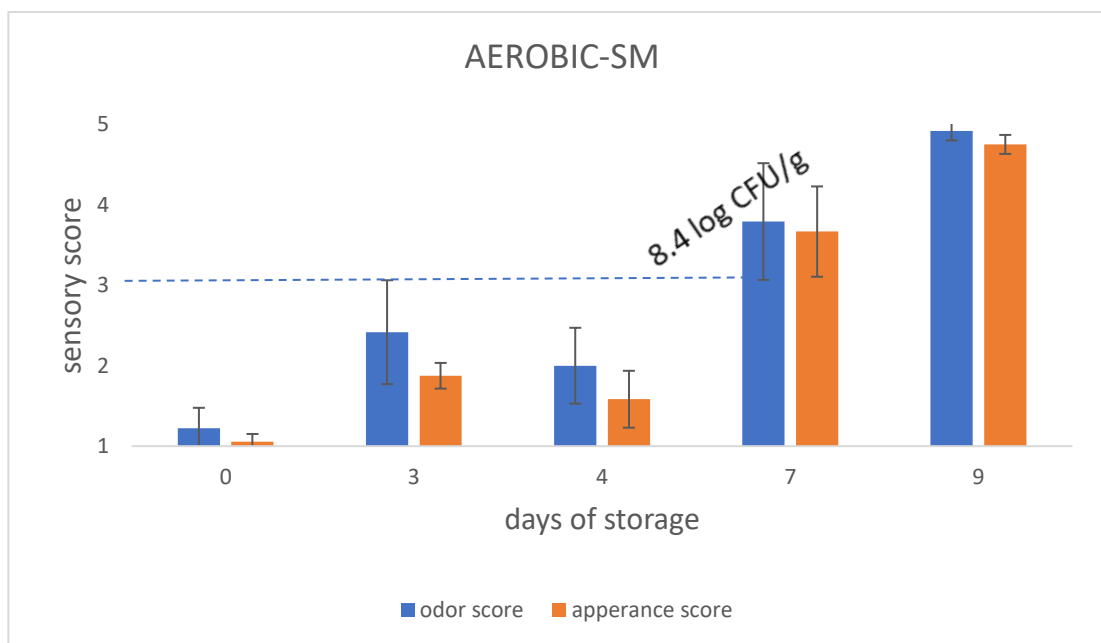
Ημέρες αποθήκευσης	Δείγμα	Τιμή pH	Τυπική απόκλιση
0	A	6.12	0.07
	B	6.02	0.04
	C	5.93	0.04
	D	5.98	0.06
10	A	6.63	0.17
	B	6.70	0.11
	C	6.52	0.54
	D	6.62	0.11

Η αύξηση της τιμής του pH κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των δειγμάτων ψαριών έχει συσχετιστεί βιβλιογραφικά με αλκαλικούς μεταβολίτες ως βακτηριακά παράγωγα (Fengou et al., 2019; Kyra et al., 1997). Ο κύριος αλλοιογόνος μικροοργανισμός που εντοπίστηκε στην παρούσα μελέτη, *Pseudomonas* spp. επιβεβαιώνεται κι από άλλες έρευνες ως πρωτεύον αλλοιογόνος για ιχθυρά που αποθηκεύονται σε χαμηλές θερμοκρασίες σε αερόβιες συνθήκες (Alvarez et al., 2008; Koutsoumanis et al., 1999; Koutsoumanis and Nychas, 1999, 2000; Tryfinopoulou et al., 2002, 2007). Ο *Pseudomonas* spp., παράγει πτητικές αζωτούχες ενώσεις (Parlapani et al., 2014; Dainty, 1996) οι οποίες είναι υπεύθυνες για την ανοδική πορεία της τιμής pH των δειγμάτων.

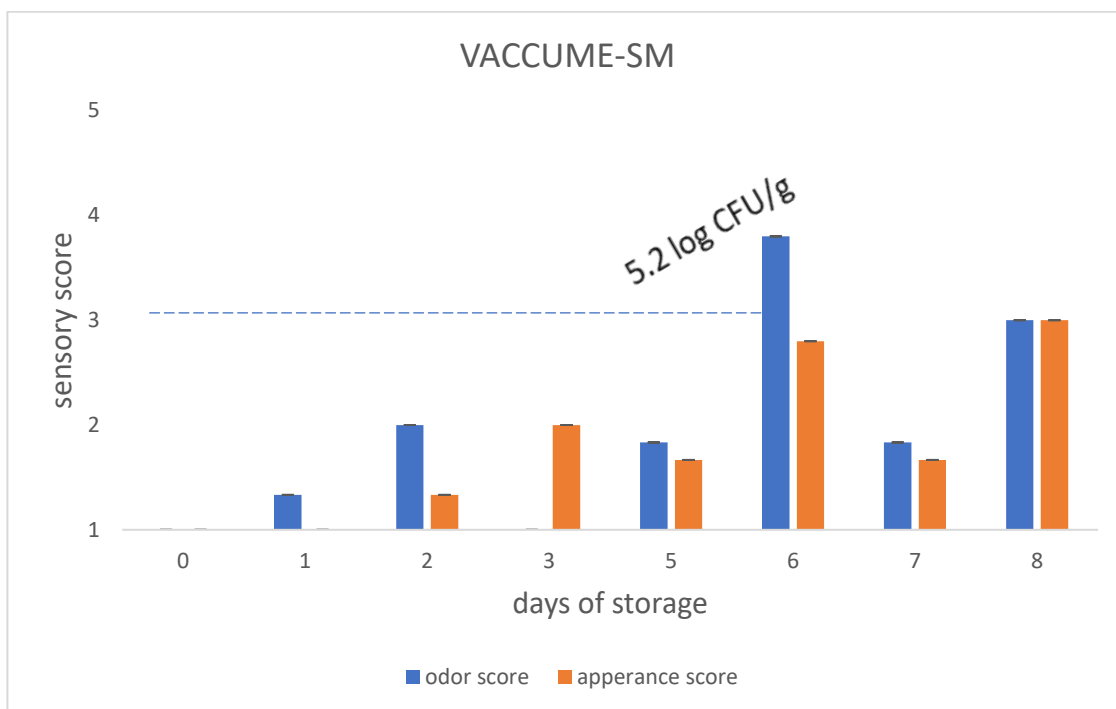
3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας πραγματοποιήθηκε από ομάδα οργανοληπτών- μελών του εργαστηρίου και τα κριτήρια βαθμολογίας προς αξιολόγηση ήταν η εκτίμηση της οσμής και όψης των φιλέτων τσιπούρας για κάθε χρονική στιγμή δειγματοληψίας. Η κλίμακα βαθμολογίας ήταν 1-5 με τη βαθμολογία 1 να αντιστοιχεί σε φρέσκο (πλήρως αποδεκτό) και τη βαθμολογία 5 να αντιστοιχεί σε μη αποδεκτό (απαράδεκτο). Αναλυτικά ο πειραματικός σχεδιασμός της οργανοληπτικής αξιολόγησης αναλύεται στην παράγραφο 2.4.

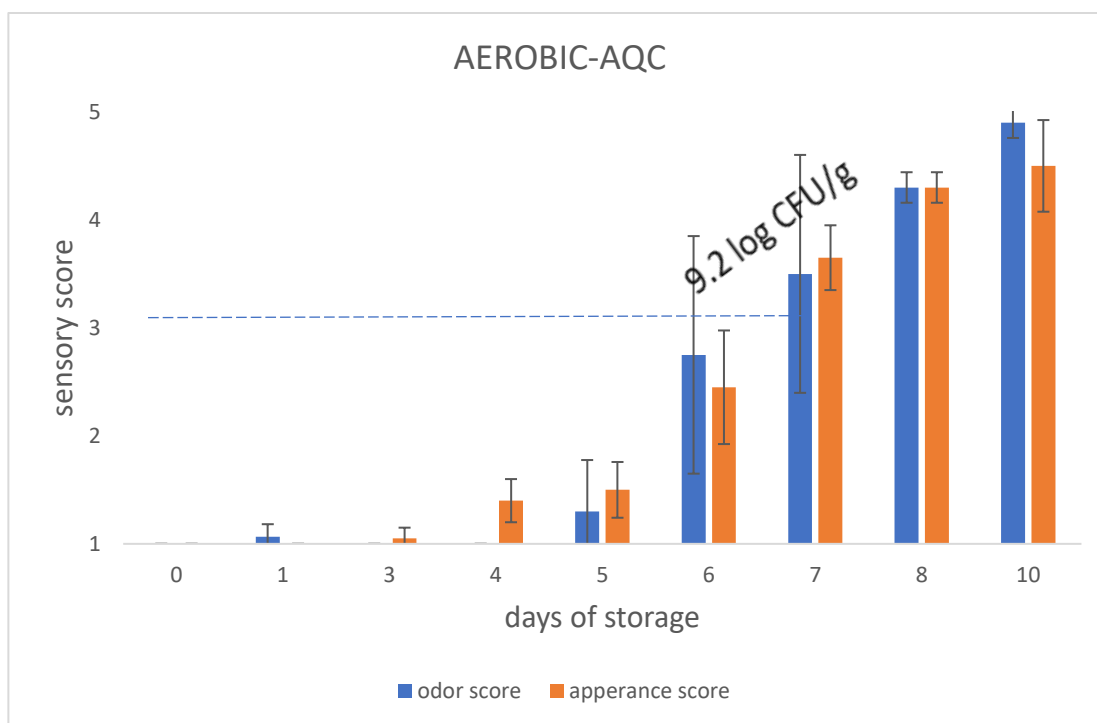
Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής αξιολόγησης παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα (Διάγραμμα 3.11, Διάγραμμα 3.12, Διάγραμμα 3.13, Διάγραμμα 3.14). Η βαθμολογία 3 αντιστοιχεί οργανοληπτικά στο όριο της αλλοίωσης (οριακά αποδεκτό). Στα διαγράμματα φαίνεται η βαθμολογία των οργανοληπτών με τις τυπικές αποκλίσεις σε συνάρτηση με τις ημέρες αποθήκευσης των δειγμάτων για κάθε συνθήκη. Επίσης αναγράφεται η τιμή του log CFU/g που αντιστοιχεί στη χρονική στιγμή αξιολόγησης με βαθμολογία 3, δηλαδή τη χρονική στιγμή που οι οργανολήπτες έκριναν το δείγμα ως οριακά αποδεκτό και η διακεκομμένη γραμμή είναι η γραμμή απόρριψης των δειγμάτων βάσει των αποτελεσμάτων της αξιολόγησης. Η μπάρα μπλε χρώματος αφορά στην εκτίμηση της οσμής, ενώ η πορτοκαλί αφορά στην εκτίμηση της όψης των δειγμάτων.



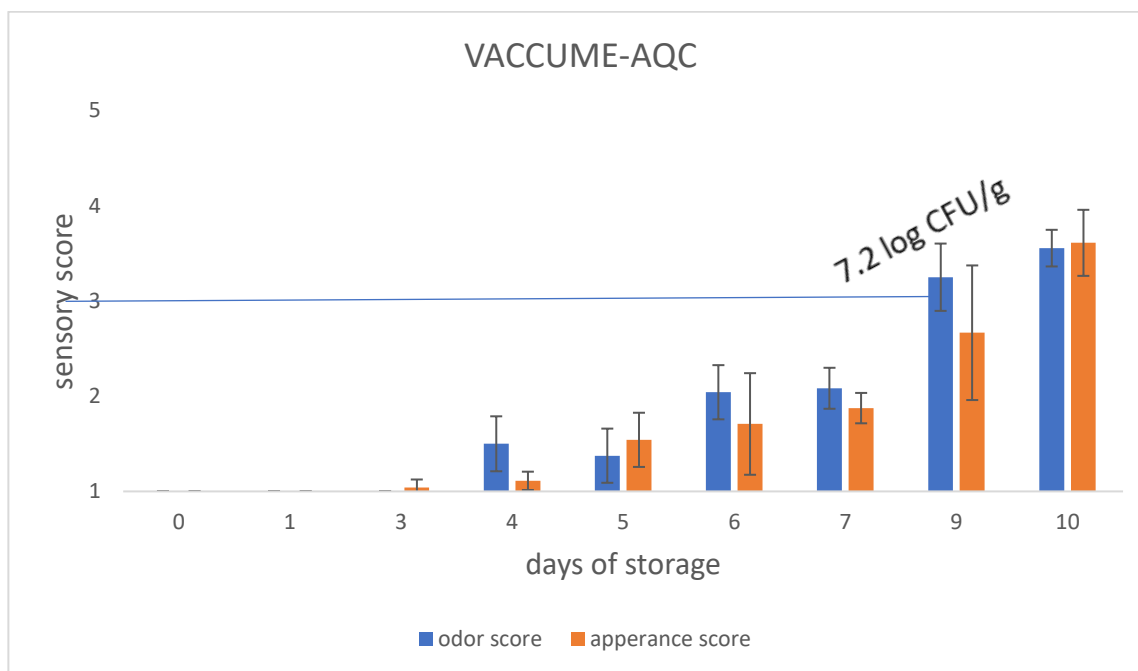
Διάγραμμα 3.11: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από καταστήματα λιανικής, αποθηκευμένα σε αερόβιες συνθήκες στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.



Διάγραμμα 3.12: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από καταστήματα λιανικής, αποθηκευμένα σε συσκευασία κενού στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.



Διάγραμμα 3.13: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια, αποθηκευμένα σε αερόβιες συνθήκες στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.



Διάγραμμα 3.14: Οργανοληπτική αξιολόγηση δειγμάτων φιλέτου τσιπούρας προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια, αποθηκευμένα σε συσκευασία κενού στη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης δε φάνηκε να διαφοροποίησαν ιδιαίτερα την οργανοληπτική αξιολόγηση, καθώς υπήρχε έντονη βαθμολογική συνέπεια για τα δύο θερμοκρασιακά προφίλ αποθήκευσης (2°C και 4°C).

Η γραμμή απόρριψης για τα δείγματα που συντηρήθηκαν σε αερόβιες συνθήκες συνέπεσε με την 7^η ημέρα αποθήκευσης των φιλέτων για τα δείγματα που προέρχονταν από τα καταστήματα λιανικής αλλά και για τα δείγματα προερχόμενα από την υδατοκαλλιέργεια και αντιστοιχούσαν σε OMX 8.4 και 9.2 log CFU/g αντίστοιχα.

Η συσκευασία κενού (skin packaging) φαίνεται να επιμήκυνε τη διάρκεια αποδοχής των δειγμάτων για τα προερχόμενα από την υδατοκαλλιέργεια, καθώς η γραμμή απόρριψης συνέπεσε με την 9^η ημέρα αποθήκευσης με 7.2 log CFU/g. Για τα δείγματα σε συσκευασία κενού που προμηθεύτηκαν από τα διάφορα καταστήματα λιανικής, η γραμμή απόρριψης συνέπεσε με την 6^η ημέρα αποθήκευσης με 5.2 log CFU/g.

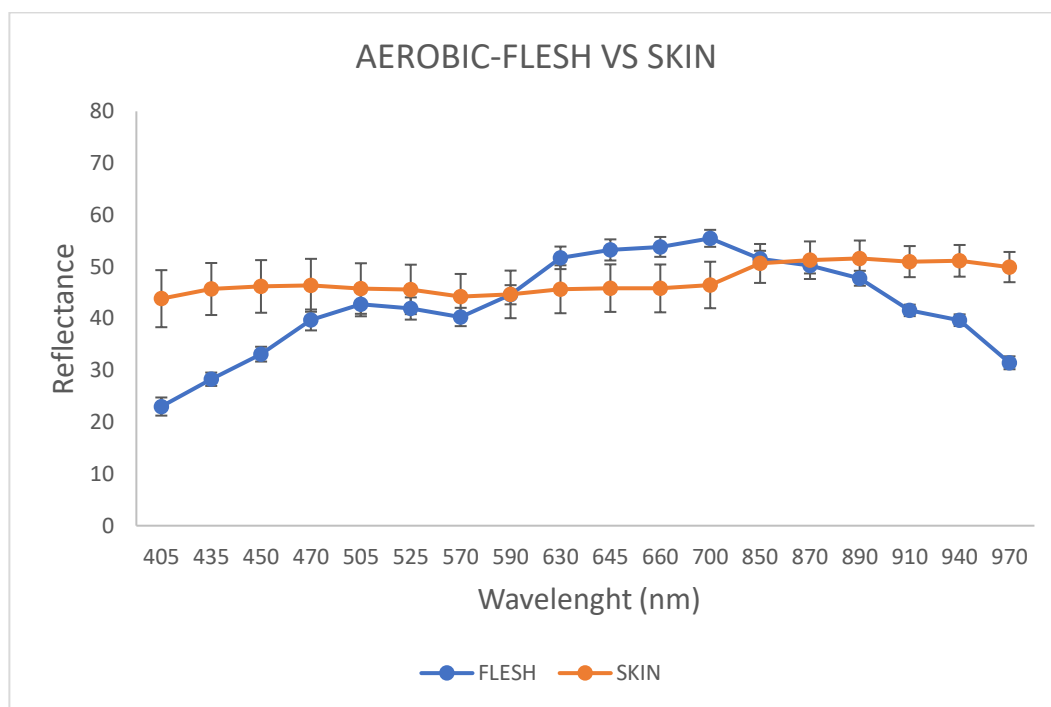
Ακόμη, από την αξιολόγηση των οργανοληπτικών βαθμολογιών φαίνεται η εκτίμηση της οσμής (odor) να φέρει μεγαλύτερες βαθμολογίες σε σύγκριση με την εκτίμηση της όψης (appearance), εύρημα που οφείλεται στις πτητικές οργανικές ενώσεις (αλκοόλες, κετόνες, αλδεύδες, θειικά

παράγωγα, αμίνες, εστέρες και οργανικά οξέα) που παράγονται κατά την αποθήκευση των ιχθυρών (Parlapani et al., 2015; Herbert et al., 1971). Συγκεκριμένα ο *Pseudomonas* spp., που είναι και ο κυρίαρχος αλλοιογόνος μικροοργανισμός, παράγει πληθώρα των παραπάνω ενώσεων (Casaburi et al., 2015; Parlapani et al., 2015). Ενδεχομένως, λοιπόν, η εκτίμηση της οσμής είναι αντιπροσωπευτικότερη ένδειξη της αλλοίωσης της τσιπούρας συγκριτικά με το κριτήριο της όψης.

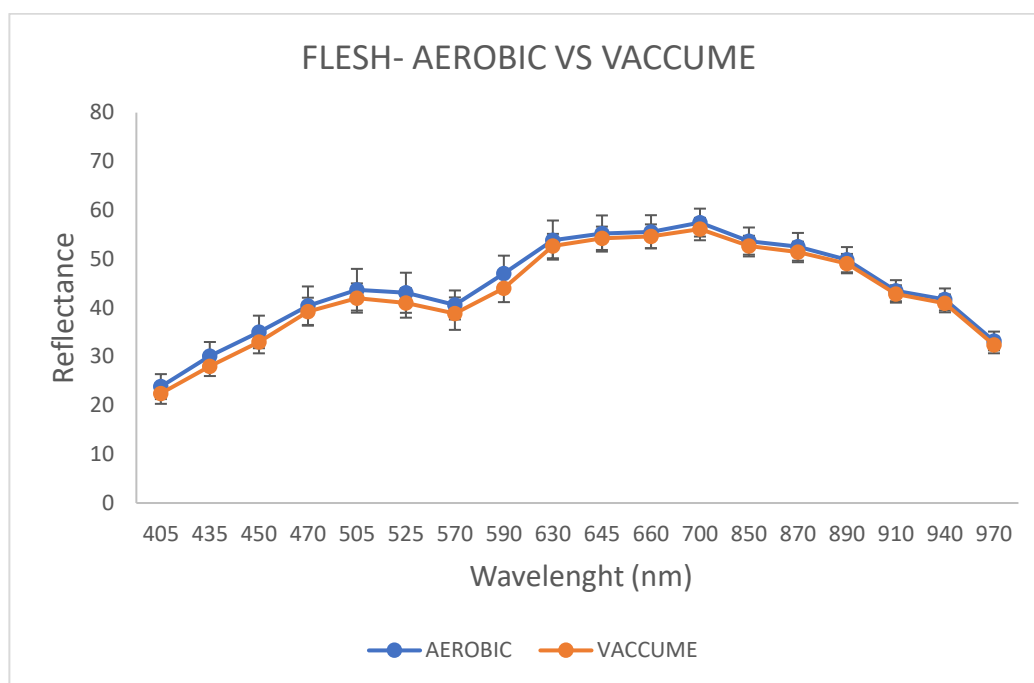
3.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΟΛΥΦΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ (MSI)

3.4.1 Διαγραμματική παρουσίαση της ανάλυσης MSI από τη χρήση της συσκευής Videometerlab2 και σχολιασμός των αποτελεσμάτων

Ενδεικτικά, παρακάτω παρουσιάζεται το διάγραμμα πολυφασματικής απεικόνισης (MSI) της τσιπούρας αποθηκευμένη σε αερόβιες συνθήκες με τη χρήση της συσκευής πολυφασματικής απεικόνισης Videometerlab2 (Διάγραμμα 3.15). Στο Διάγραμμα 3.16 φαίνονται οι τιμές ανάκλασης σε συνάρτηση με τα μήκη κύματος της ακτινοβολίας για τη σάρκα και το δέρμα της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

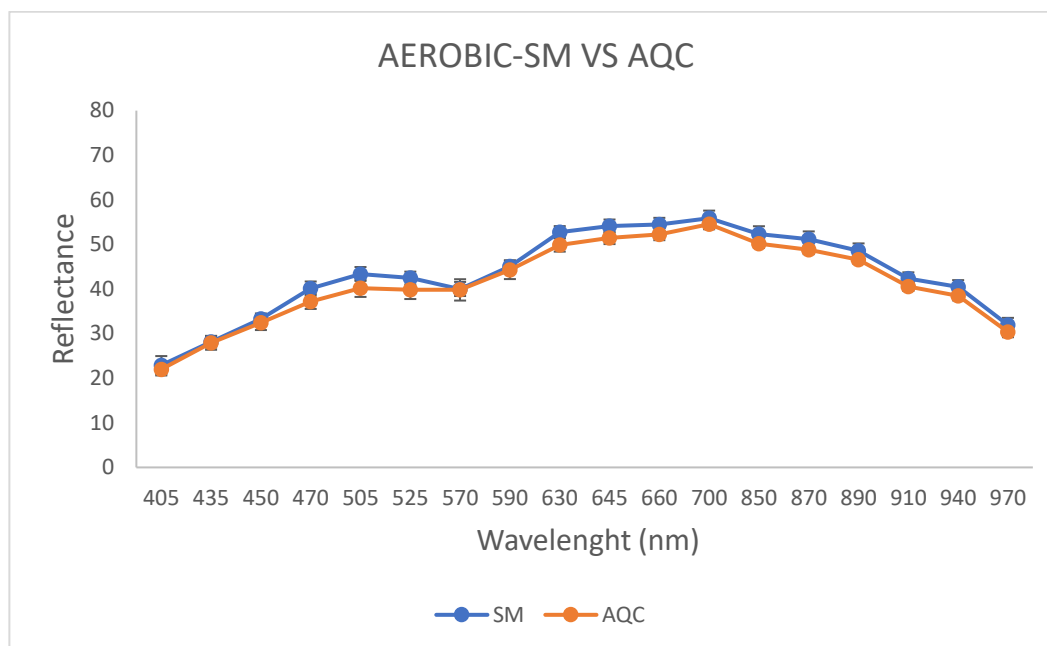


Διάγραμμα 3.15: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες από τη μεριά της σάρκας και του δέρματος.



Διάγραμμα 3.16: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες και skin packaging.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 3.16, τα δείγματα που συντηρήθηκαν σε αερόβιες συνθήκες φαίνεται να εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές ανάκλασης συγκριτικά με τα δείγματα που συντηρήθηκαν σε skin packaging. Σε συσχέτιση των προηγούμενων με τα μικροβιολογικά αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όπου φάνηκε η αποθήκευση σε skin packaging να απέδωσε επιβραδυντικά στην αλλοίωση των φιλέτων τσιπούρας, το δεδομένο αυτό θα μπορούσε να ερμηνευθεί ως ενδεικτικό μεγαλύτερης αλλοίωσης. Συγκεκριμένα, τα μήκη κύματος 570nm- 700nm αποτελούν «δακτυλικό αποτύπωμα» της μετουσίωσης της μυοσφαιρίνης, όπως αναφέρεται και στη βιβλιογραφία (Spyreli 2021; Ropodi et al., 2018; Liu et al., 2003). Κατά την μετουσίωση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης συμβαίνει χρωματική μετάπτωση από κόκκινο σε καφέ χρώμα (Liu et al., 2003). Αυτός ο αποχρωματισμός έχει ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη ανάκλαση που εμφανίζεται για τα δείγματα σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης.

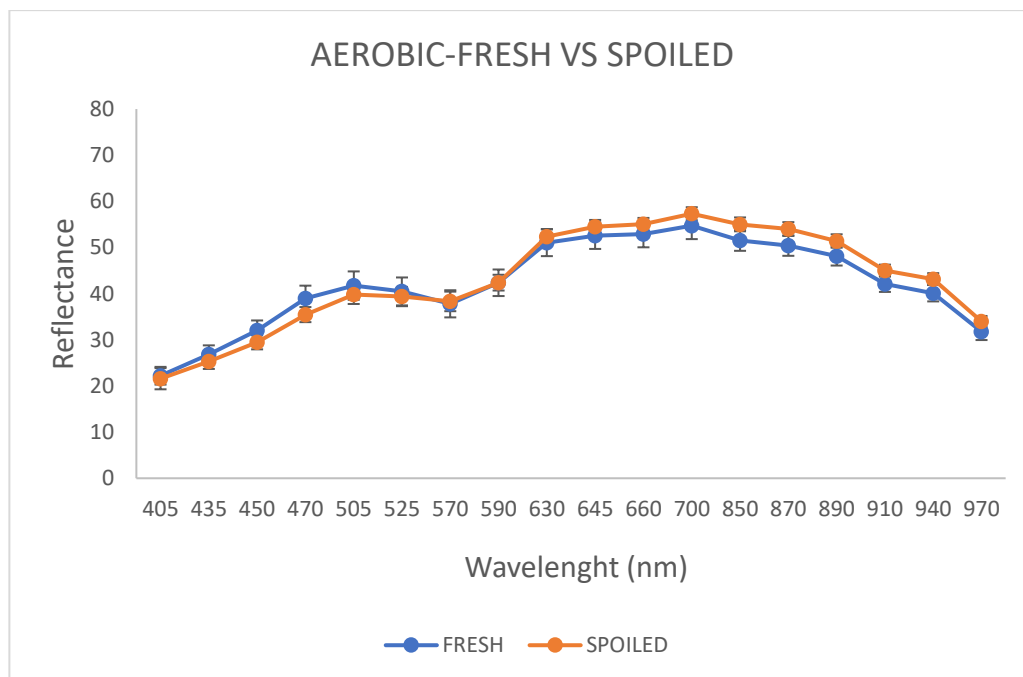


Διάγραμμα 3.17: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσεως του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής (SM) και από την υδατοκαλλιέργεια (AQC).

Ομοίως με το σχολιασμό του Διαγράμματος 3.17, για την κατηγορία δειγμάτων τσιπούρας προμηθευόμενων από διάφορα καταστήματα λιανικής (super markets) παρατηρείται μεγαλύτερη ανάκλαση συγκριτικά με τα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια. Οι διαφορές στις τιμές ανάκλασης μπορούν να διακριθούν σε 3 περιοχές όπου είναι εντονότερες: 450nm-525nm, 590nm-700nm και 850nm-970nm. Για τις περιοχές 450nm-525nm και 590nm-700nm η διαφορά ανάκλασης υποδηλώνουν αποικοδόμηση/ μετουσίωση της μυοσφαιρίνης, αφού σύμφωνα με τους Ropodi et al., 2018; Liu et al., 2003, οι ανακλάσεις στην ορατή περιοχή παρέχει πληροφορίες που ενδεχομένως δείχνουν μετατροπή και αποικοδόμηση για διάφορα παράγωγα μυοσφαιρίνης και αποχρωματισμό.

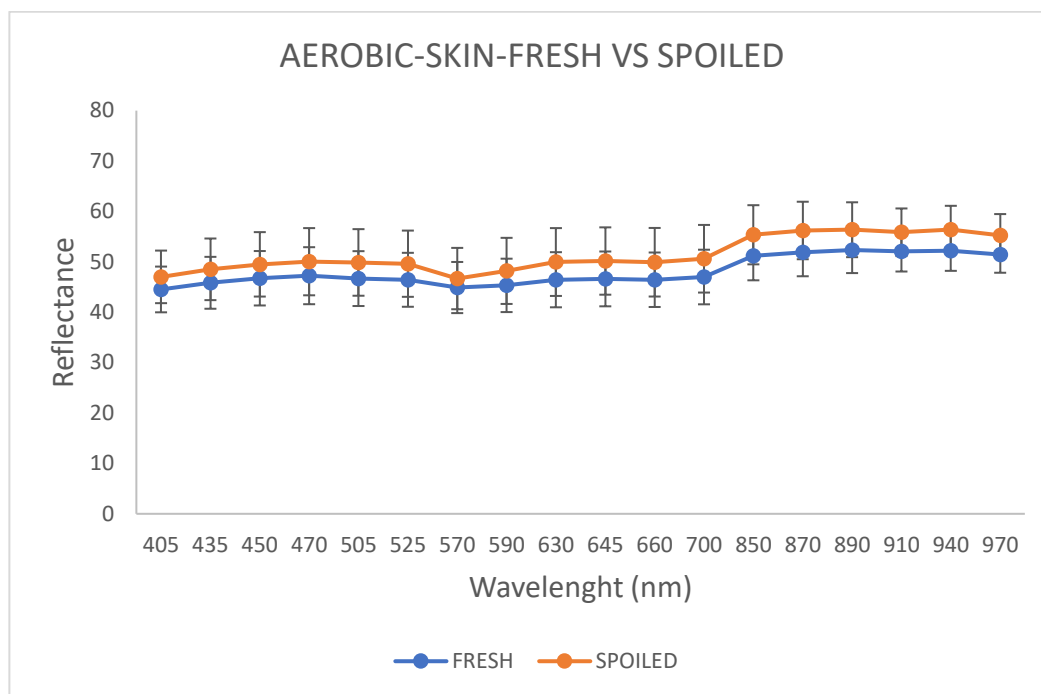
Η περιοχή 850nm-970nm ενδεχομένως αφορούν στην περιεκτικότητα των δειγμάτων σε νερό και σε μετουσίωση πρωτεϊνών (Ropodi et al., 2018; Liu et al., 2003). Τα ιχθυρά κατά την αλλοίωσή τους χάνουν την ικανότητα συγκράτησης νερού (water- holding capacity), μάλιστα, η ικανότητα αυτή αποτελεί κριτήριο φρεσκάδας των ψαριών (Li et al., 2023; Wang et al., 2017). Η περιοχή 850nm-970nm, λοιπόν, στην οποία υπάρχει έντονη διαφορά ανάκλασης, υποδηλώνει την υπεροχή σε αλλοίωση των δειγμάτων από τα διάφορα σημεία λιανικής συγκριτικά με αυτά της υδατοκαλλιέργειας, αφού η φασματική περιοχή μεταξύ 750-970nm συνδέεται βιβλιογραφικά με απώλεια νερού/ μείωση περιεκτικότητας σε υγρασία και αποδίδεται στις δονήσεις των δεσμών O-

H (Ma et al., 2016; Liu et al., 2003; Ropodi et al, 2018). Όλα τα παραπάνω συσχετίζονται και με τα μικροβιολογικά αποτελέσματα της παραγράφου 3.1.



Διάγραμμα 3.18: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.

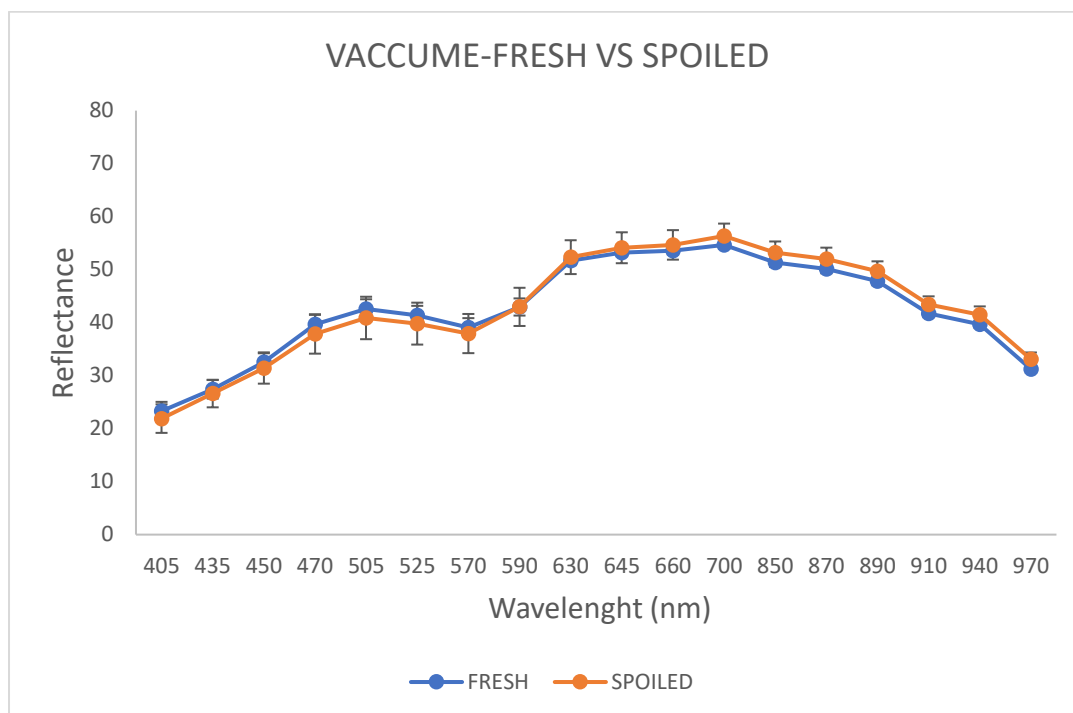
Στο Διάγραμμα 3.18 παρατηρείται διαφορά ανάκλασης στο εύρος 570nm-700nm που οφείλεται σε μετουσίωση της μυοσφαιρίνης, ενδεικτική βιοχημική διεργασία της αλλοίωσης του ψαριού (Spyreli 2021; Ropodi et al., 2018; Liu et al., 2003).



Διάγραμμα 3.19: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.

Για το Διάγραμμα 3.19 παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες τιμές ανάκλασης στα αλλοιωμένα δείγματα του δέρματος τσιπούρας σε σύγκριση με τα φρέσκα. Σύμφωνα με τους Omwange et al., 2021; Rodionov et al., 1994, στο σώμα του ψαριού υπάρχουν μαύρες χρωστικές που ονομάζονται μελανοφόρα, υπεύθυνα για τις ικανότητες καμουφλάζ του ψαριού. Με τον ερχομό θανάτωσης του ψαριού, τα μελανοφόρα (τα οποία ελέγχονται ενζυμικά) συσσωματώνονται και αποσύρονται στο εσωτερικό του ψαριού δίνοντας γκρι χροιές στο δέρμα του ψαριού. Οι γκρι αυτές αποχρώσεις αυξάνονται με την παράταση του χρόνου αποθήκευσης του ιχθύος. Από το Διάγραμμα 3.19, λοιπόν, συμπεραίνεται πως με την παράταση του χρόνου αποθήκευσης έχουμε περισσότερο γκρι χρώμα κι άρα μεγαλύτερες τιμές ανάκλασης, το οποίο επιβεβαιώνεται και βιβλιογραφικά.

Το δέρμα του ψαριού παρατηρείται να εμφανίζει μεγαλύτερες διακυμάνσεις στις τιμές ανάκλασης για όλα τα μήκη κύματος συγκριτικά με τα δείγματα της σάρκας, γεγονός που εξηγείται και μακροσκοπικά, καθώς η σάρκα της τσιπούρας έχει σταθερά ομοιόμορφη χρωματική χροιά (λευκό στο μεγαλύτερο μέρος της) συγκριτικά με το δέρμα που εμφανίζει ασημί-γκρι χρώμα (Fengou et al., 2019).



Διάγραμμα 3.20: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε skin packaging (vaccume).

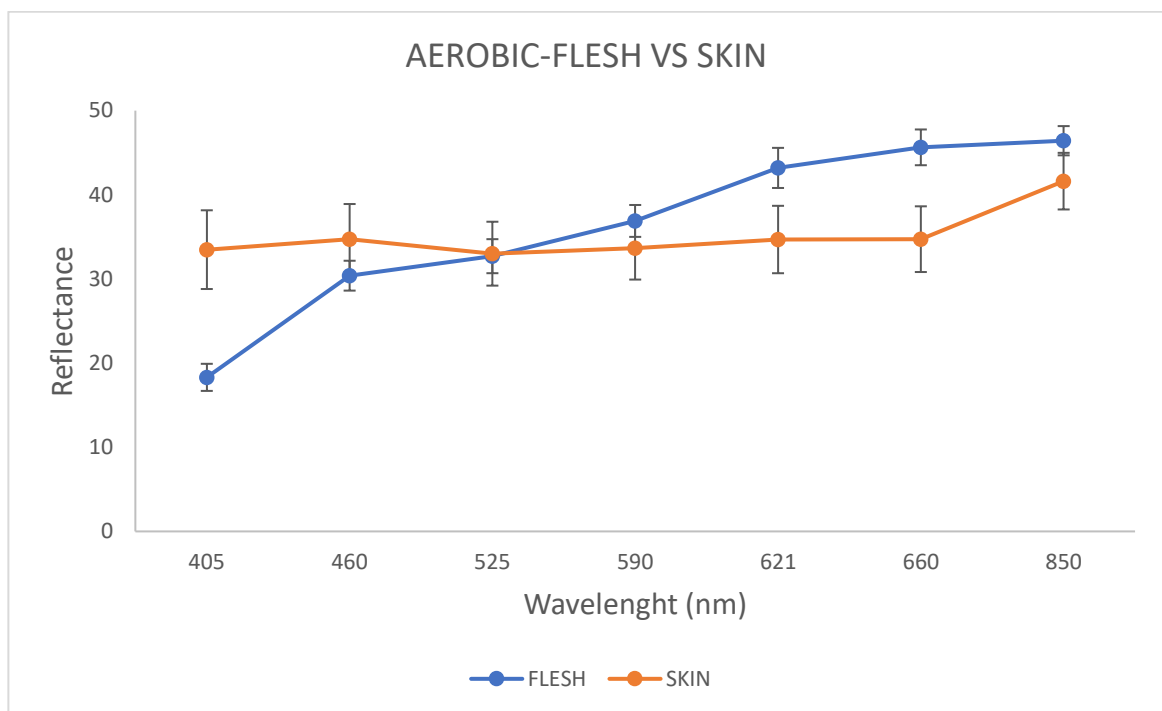
Ομοίως στο Διάγραμμα 3.20 παρατηρούνται μεγαλύτερες τιμές ανάκλασης των αλλοιωμένων δειγμάτων τσιπούρας στις περιοχές 850nm-970nm και 590nm-700nm. Η πρώτη περιοχή αφορά στην αλλοίωση λόγω απώλειας συγκράτησης του νερού, που σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αποτελεί χαρακτηριστικό αλλοίωσης των ιχθυών (Li et al., 2023; Wang et al., 2017). Η φασματική περιοχή μεταξύ 750-970nm συνδέεται βιβλιογραφικά με απώλεια νερού/ μείωση περιεκτικότητας σε υγρασία και αποδίδεται στις δονήσεις των δεσμών O-H (Ma et al., 2016; Liu et al., 2003; Ropodi et al., 2018). Η δεύτερη περιοχή αφορά στη μετουσίωση της μυοσφαιρίνης (Spyreli 2021; Ropodi et al., 2018; Liu et al., 2003). Οι συγκεκριμένες παρατηρήσεις αναφέρθηκαν ξανά στην ερμηνεία παραπάνω διαγραμμάτων MSI (Διάγραμμα 3.16-3.18). Για την περιοχή 405-570nm, παρατηρείται μεγαλύτερη τιμή ανάκλασης στα φρέσκα δείγματα απ' ότι στα αλλοιωμένα. Ενδεχομένως αυτή η παρατήρηση οφείλεται στην ικανότητα συγκράτησης νερού (water holding capacity) που διακρίνει τα φρέσκα ιχθυρά (Li et al., 2023; Wang et al., 2017). Έτσι, το νερό που εμπεριέχεται στα φρέσκα δείγματα τσιπούρας ανακλά σε μεγαλύτερο βαθμό την ακτινοβολία σε σύγκριση με το αλλοιωμένο δείγμα που είναι πολύ πιο φτωχό σε υγρασία. Όμοια εξήγηση αποδίδεται για το συγκεκριμένο εύρος μηκών κύματος και για το διάγραμμα φρέσκων- αλλοιωμένων δειγμάτων σε αερόβιες συνθήκες.

Αξίζει εδώ να σημειωθεί ότι για τα διαγράμματα φρέσκιας- αλλοιωμένης σάρκας τσιπούρας που αφορούν στις αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες συντήρησης, παρατηρείται μεγαλύτερη διαφορά στις ανακλάσεις φρέσκου-αλλοιωμένου για τις αερόβιες συνθήκες συγκριτικά με τις αναερόβιες (vacume), πράγμα που επιβεβαιώνεται κι από τα μικροβιολογικά αποτελέσματα (παράγραφος 3.1) που έδειξαν ότι το skin packaging επιβράδυνε την τάση της αλλοίωσης. Οι φυσικοχημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την αλλοίωση είναι πιο έντονες για τα δείγματα που ωριμάζουν/ συντηρούνται σε αερόβιες συνθήκες, κι αυτό οπτικοποιείται με τη σύγκριση των συγκεκριμένων διαγραμμάτων MSI.

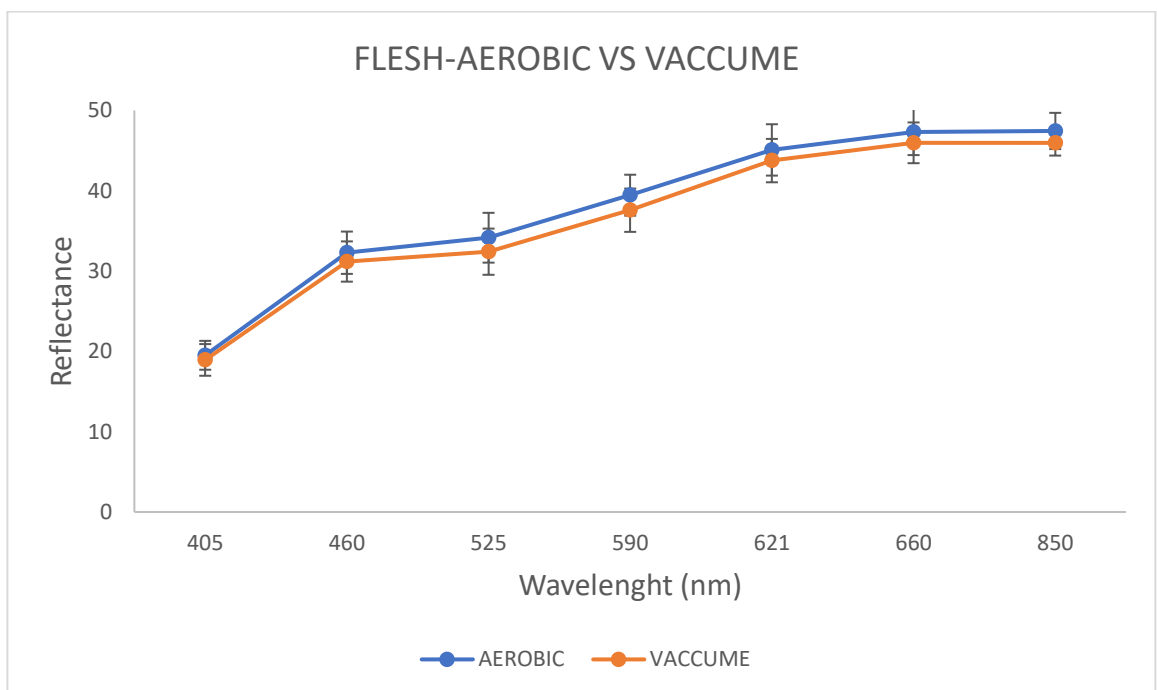
3.4.2 Διαγραμματική παρουσίαση της ανάλυσης MSI από τη χρήση της συσκευής Videometerlite

Στα Διαγράμματα 3.21-3.26 φαίνονται οι τιμές ανάκλασης σε συνάρτηση με τα μήκη κύματος της ακτινοβολίας για τη σάρκα και το δέρμα της τσιπούρας (*Sparus aurata*) για την πολυφασματική διερεύνηση που πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της συσκευής Videometerlite.

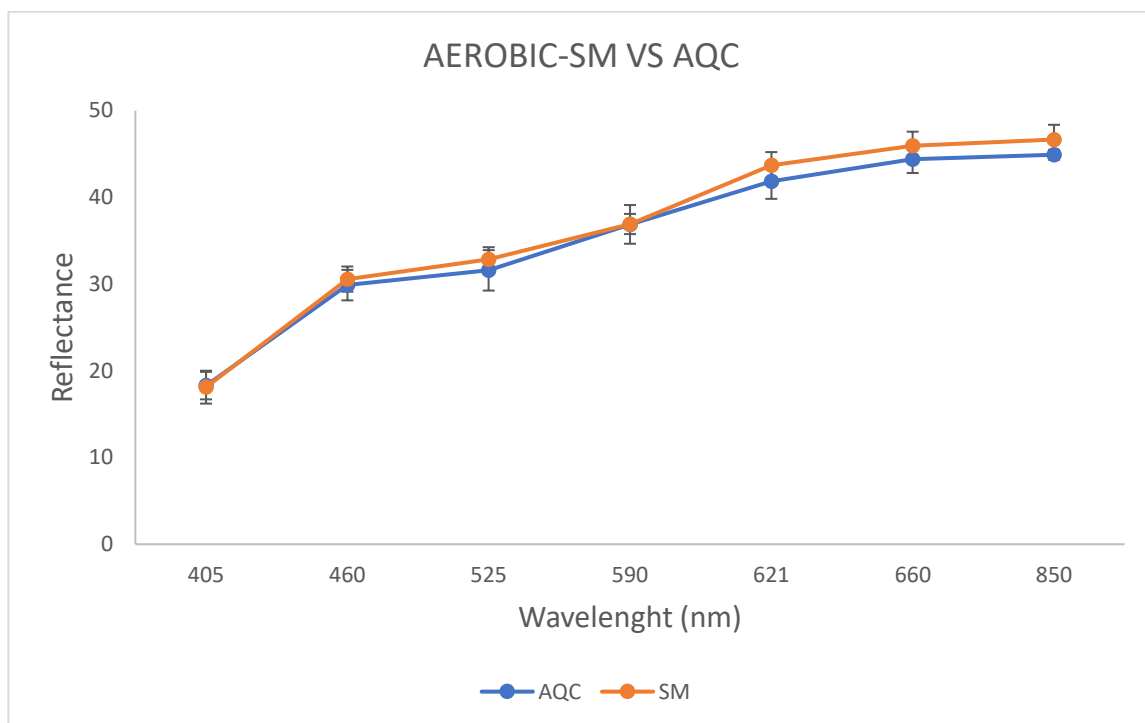
Τα διαγράμματα που προέκυψαν από τις δύο συσκευές μας οδηγούν στα ίδια συμπεράσματα όσον αφορά στο σχολιασμό-σύγκριση των MSI δεδομένων για τις διάφορες κατηγορίες δεδομένων που διερευνούνται πολυφασματικά. Ούτως ή άλλως οι μονοχρωματικές ακτινοβολίες που χρησιμοποιεί η συσκευή Videometerlite (7 μπάντες μηκών κύματος) εμπεριέχονται ως επί τω πλείστον σε εκείνες της συσκευής Videometerlab2 (18 μπάντες μηκών κύματος). Όπως είναι αναμενόμενο, οι συμπεριφορές των καμπυλών στα διαγράμματα ανάλυσης των φασματικών δεδομένων από τις δύο συσκευές είναι όμοιες. Για το λόγο αυτό τα διαγράμματα 21-26 παρατίθενται ως έχει, επιβεβαιώνοντας την ανάλυση της πολυφασματικής διερεύνησης της παραγράφου 3.3.1.



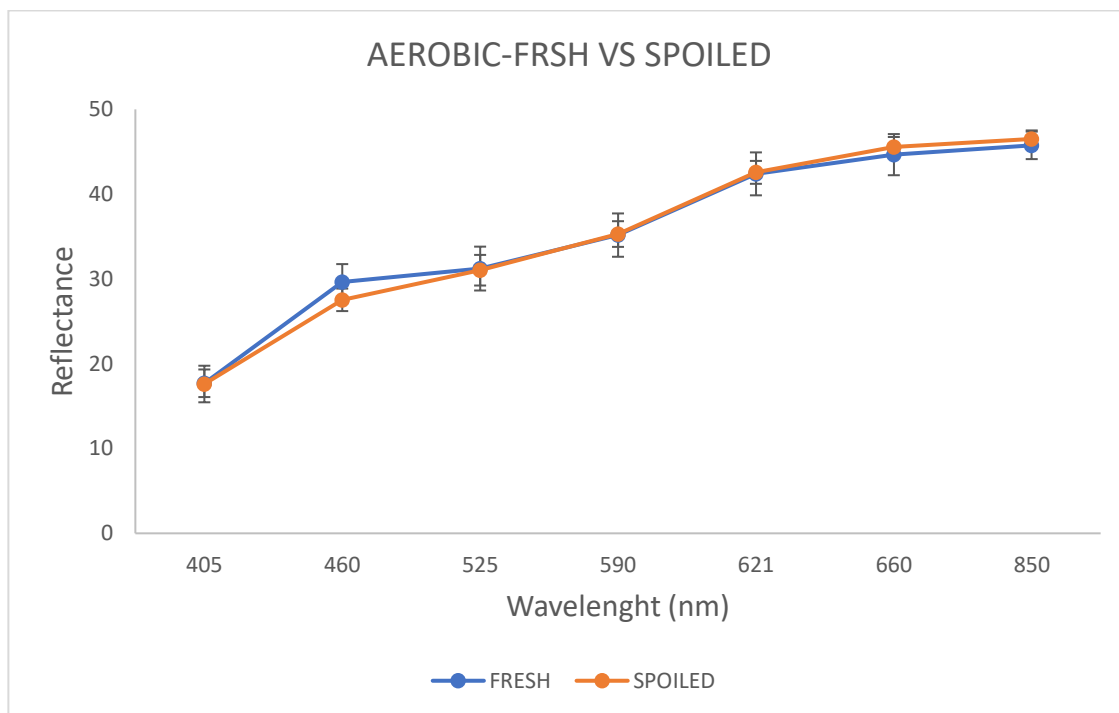
Διάγραμμα 3.21: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες από τη μεριά της σάρκας και του δέρματος.



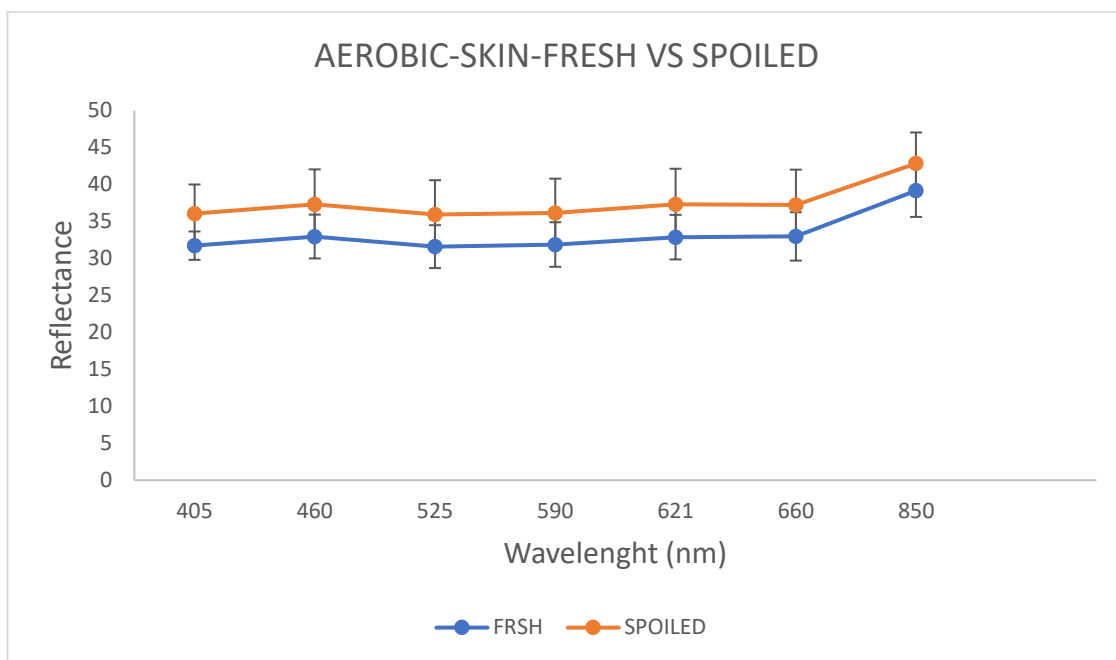
Διάγραμμα 3.22: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες και skin packaging.



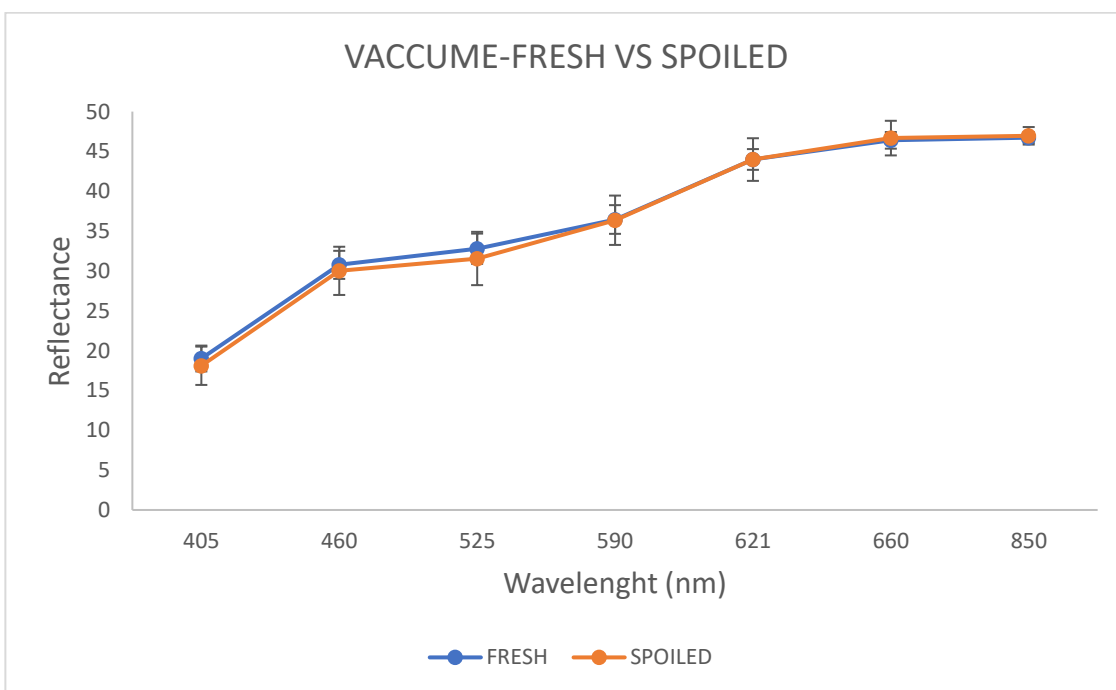
Διάγραμμα 3.23: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας της τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες προμηθευόμενα από διάφορα καταστήματα λιανικής (SM) και από την υδατοκαλλιέργεια (AQC).



Διάγραμμα 3.24: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα σάρκας φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.



Διάγραμμα 3.25: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.



Διάγραμμα 3.26: Διάγραμμα MSI ανάκλασης συναρτήσει του μήκους κύματος για δείγματα δέρματος φρέσκιας και αλλοιωμένης τσιπούρας σε skin packaging (vaccume).

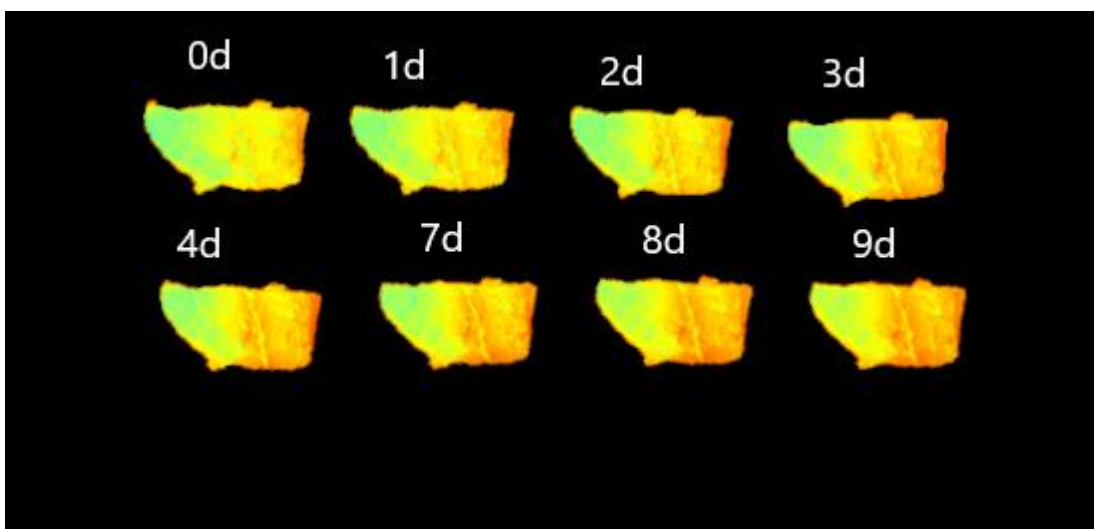
3.4.3 Οπτικοποιημένη τάση αλλοίωσης της τσιπούρας με τη χρήση δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τον ίδιο οργανισμό (individual fish experiment) και συσχέτιση με το μικροβιακό τους φορτίο

Παρακάτω παρουσιάζονται οι εικόνες της σάρκας ίδιου φιλέτου τσιπούρας με τη χρήση της συσκευής πολυφασματικής απεικόνισης Videometerlite για το μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm στη διάρκεια της αποθήκευσης των δειγμάτων στους 2°C. Τα μικροβιολογικά διερευνήθηκαν για όλο το φιλέτο, ενώ τα μέρη που απεικονίστηκαν για τον ίδιο οργανισμό και παρατίθενται παρακάτω αναλογούν:

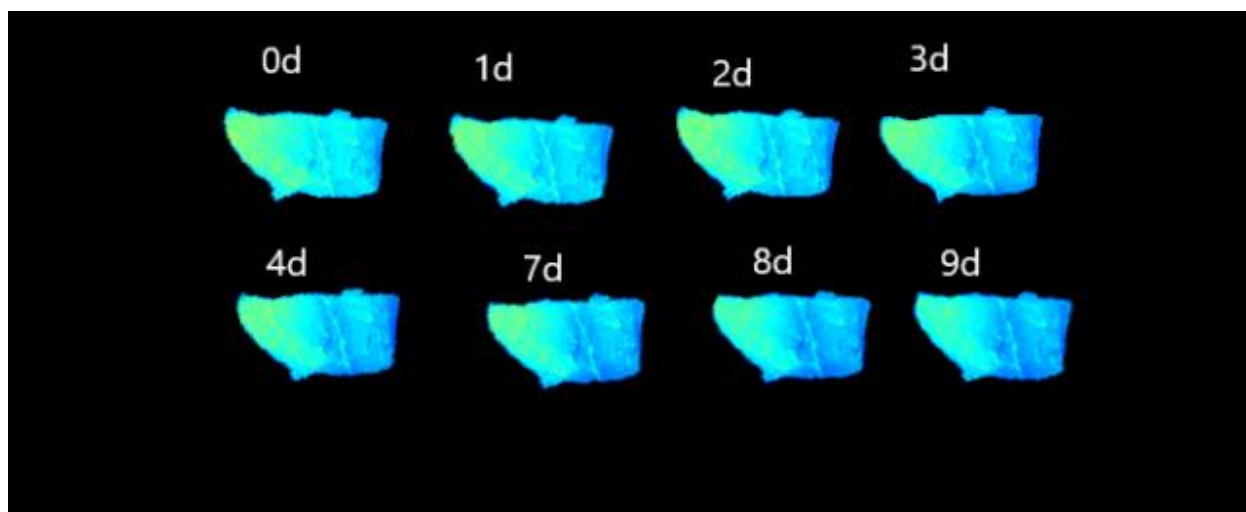
- Δείγμα Α: φιλέτο κοντά στην κοιλιακή χώρα του ιχθύος (άνω μέρος φιλέτου)
- Δείγμα Β: φιλέτο κοντά στην ουρά του ιχθύος (κάτω μέρος φιλέτου)

Οι χρωματικές εικόνες για την οπτικοποίηση της αλλοίωσης (jet, inverse jet) καθώς και το συγκεκριμένο μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας, επιλέχθηκαν μετά από δοκιμές προς την εύρεση του εντονότερου οπτικά αποτελέσματος αλλοίωσης του φιλέτου με το πέρας των ημερών. Σκοπός ήταν η οπτική αναπαράσταση της κατανομής της έντασης των ανιχνευόμενων μορίων στην επιφάνεια του φιλέτου τσιπούρας. Ανάλογες οπτικές αναπαραστάσεις έχουν πραγματοποιηθεί βιβλιογραφικά και σε άλλες έρευνες (Cheng & Sun, 2015; Lytou et al., 2024).

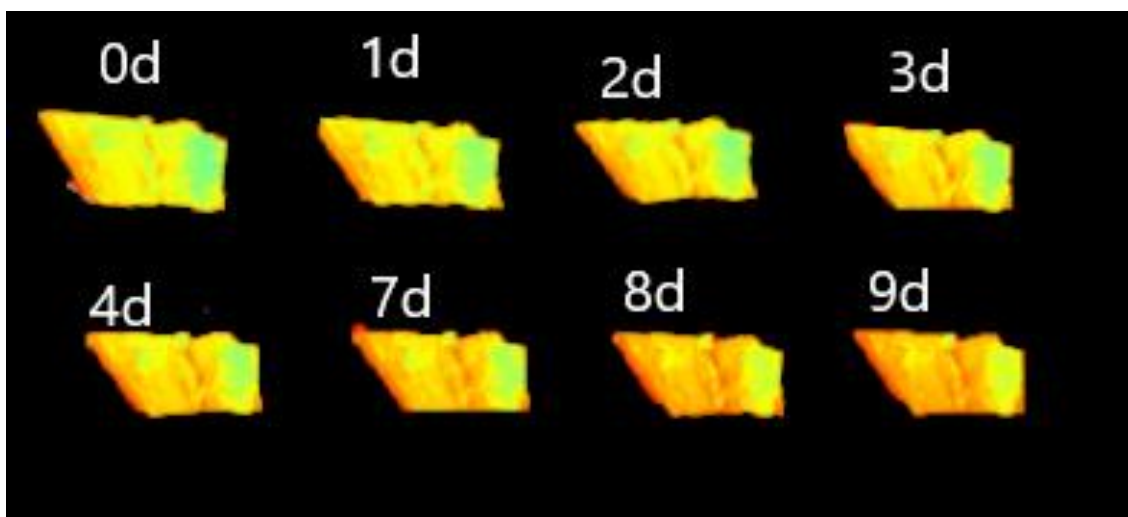
Οι Εικόνες 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 αφορούν στο ίδιο δείγμα φιλέτου τσιπούρας, δηλαδή τα έχουν το ίδιο σχήμα κι έτσι δεν υπάρχουν διαφοροποιήσεις από τις διαφορετικές κατανομές λίπους ή άλλων συστατικών. Στο μήκος κύματος 621nm (Εικόνα 3.1) παρατηρήθηκε η εντονότερη οπτική μεταβολή για τα αλλοιωμένα και τα φρέσκα δείγματα, πράγμα που επιβεβαιώνεται βιβλιογραφικά, καθώς όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, στο εύρος 570nm- 700nm υπάρχει συσχέτιση της αντίδρασης μετουσίωσης της μυοσφαιρίνης (Spyreli 2021; Ropodi et al., 2018; Liu et al., 2003). Κατά την μετουσίωση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης συμβαίνει χρωματική μετάπτωση από κόκκινο σε καφέ χρώμα (Liu et al., 2003). Αυτός ο αποχρωματισμός ενδεχομένως έχει ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη ανάκλαση που εμφανίζεται για τα δείγματα κατά την ωρίμανση σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης.



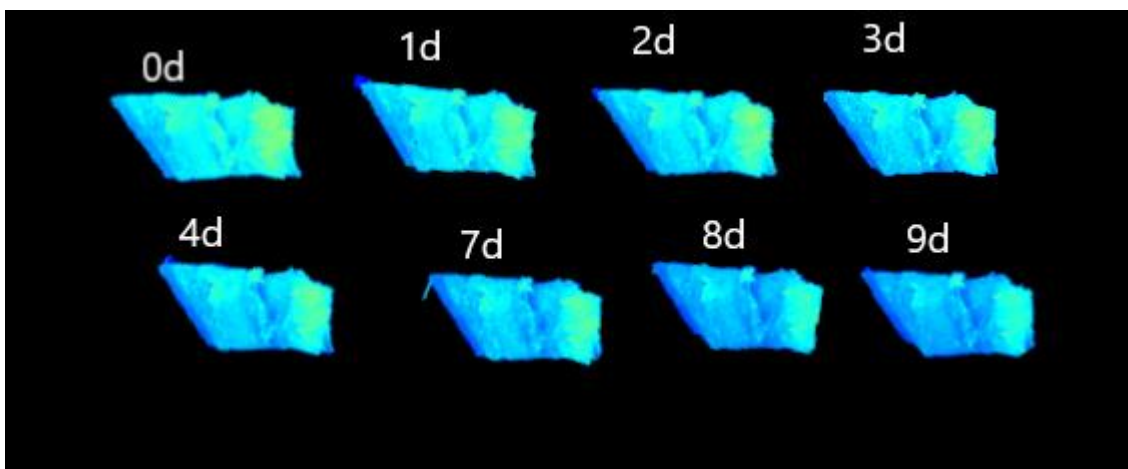
Εικόνα 3.1: Χρωματικές εικόνες σε inverse jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (Α) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.



Εικόνα 3.2: Χρωματικές εικόνες σε jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (Α) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.



Εικόνα 3.3: Χρωματικές εικόνες σε inverse jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (B) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.



Εικόνα 3.4: Χρωματικές εικόνες σε jet ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας (B) στη διάρκεια του πειράματος αποθήκευσης από τη συσκευή Videometerlite για μήκος κύματος μονοχρωματικής ακτινοβολίας 621nm.

Για τις Εικόνες 3.1 έως 3.4 (αφορούν στο ίδιο φιλέτο) παρατίθεται ο πίνακας των μικροβιολογικών αποτελεσμάτων με το πέρας της διάρκειας αποθήκευσης.

Πίνακας 3.13: Πορεία μικροβιακού πληθυσμού OMX με το πέρας της διάρκειας αποθήκευσης του απεικονιζόμενου ίδιου δείγματος φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες.

Ημέρες αποθήκευσης	LogCFU/g για την OMX (Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα)
D0	3.4
D1	4.8
D2	4.7
D3	5.0
D4	5.3
D7	7.4
D8	8.1
D9	7.7

Πράγματι, κατά την αποθήκευση των δειγμάτων και καθώς αυξάνεται το μικροβιακό φορτίο παρατηρείται χρωματικά μεγαλύτερη ανάκλαση της ακτινοβολίας. Αυτό θα μπορούσε να ερμηνευθεί ως επικύρωση της αντίδρασης οξειδωσης της μυοσφαιρίνης. Με την αλλοίωση του φιλέτου τσιπούρας, που συνοδεύεται από την μετουσίωση της μυοσφαιρίνης (από κόκκινο χρώμα σε καφέ) έχουμε κλιμάκωση της ανάκλασης των δειγμάτων, επιβεβαιώνοντας τις υπάρχουσα βιβλιογραφία (Spyreli 2021; Ropodi et al., 2018; Liu et al., 2003) και τις ερμηνείες των MSI φασματικών δεδομένων της παρούσας μελέτης. Για το συγκεκριμένο δείγμα, την ημέρα 8 του πειράματος, όπου το μικροβιακό φορτίο είναι το μέγιστο παρατηρούμενο (8.1 log CFU/g) φαίνεται οπτικά η μέγιστη ανάκλαση της ακτινοβολίας που είναι μεγαλύτερη από εκείνη της εικόνας του δείγματος της D9. Σε αυτό το σημείο επιβεβαιώνεται η εκτίμηση της οπτικοποιημένης αλλοίωσης με τα μικροβιολογικά αποτελέσματα, αφού η OMX την ημέρα 9 του πειράματος βρίσκεται στον 7.7 log CFU/g.

Όσον αφορά στη σύγκριση των δύο μερών του φιλέτου A,B που αντιστοιχούν στο επάνω μέρος και το κάτω μέρος του φιλέτου αντίστοιχα, παρατηρείται εντονότερα το φαινόμενο της χρωματικής μεταβολής λόγω ανάκλασης στο κάτω μέρος του φιλέτου (B). Αυτό ενδεχομένως αποδίδεται στο ότι το κάτω μέρος του φιλέτου που βρίσκεται κοντά στην ουρά ως μέρος της πλευρικής γραμμής

(lateral line) του ψαριού, έχει μεγαλύτερο ποσοστό μυοσφαιρίνης από το μέρος του φιλέτου κοντά στην κοιλιά του ιχθύος. Η ουρά του ψαριού έχει μεγαλύτερες απαιτήσεις για οξυγόνο λόγω της χρησιμότητάς του στην κίνηση του ψαριού κι αυτό επικυρώνεται από τα MSI αποτελέσματα. Σύμφωνα με τους Venugopal & Shahidi (1996), οι κόκκινοι μύες (red muscles) του ψαριού βρίσκονται κατά μήκος της πλευρικής γραμμής (lateral line) του σώματός του κι εκεί υπάρχει μεγαλύτερη συγκέντρωση μυογλοβίνης.

3.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ ΜΕΡΙΚΩΝ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ (PLS-R)

Τα αποτελέσματα παλινδρόμησης με τη μέθοδο μερικών ελαχίστων τετραγώνων αναλύθηκαν για τις διάφορες κατηγορίες των δειγμάτων τσιπούρας και έγινε προσπάθεια συσχέτισης μικροβιολογικών αναλύσεων με τις μετρήσεις από τα δύο μηχανήματα πολυφασματικής ανάλυσης (Videometerlab2 και Videometerlite) για τη σάρκα και το δέρμα των δειγμάτων τσιπούρας.

Τα αποτελέσματα εξήχθησαν με τη χρήση του αλγορίθμου του προγράμματος The Unscrambler© έκδοση 9.7 (CAMO Software AS, Oslo, Norway) και τα μοντέλα αξιολογήθηκαν με βάση τους δείκτες απόδοσης για την εκπαίδευση, εσωτερική επικύρωση και πρόβλεψη του μοντέλου. Οι μεταβλητές ήταν: (x μεταβλητή: οι ανακλάσεις από τα μήκη κύματος με τις τυπικές τους αποκλίσεις, y μεταβλητή: ο λογάριθμος της OMX (log CFU/g)). Οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν για κάθε βάση δεδομένων που αναλυόταν ήταν αρχικά το καλιμπράρισμα που αφορούσε στην εκπαίδευση του μοντέλου (training) έπειτα η εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (cross-validation) και τέλος η πρόβλεψη (prediction) που πραγματοποιούνταν με τα δεδομένα testing.

Παρακάτω περιγράφονται οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν. Να σημειωθεί ότι όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τα φασματικά αποτελέσματα και για τις δύο συσκευές πολυφασματικής απεικόνισης (Videometerlab2, Videometerlite).

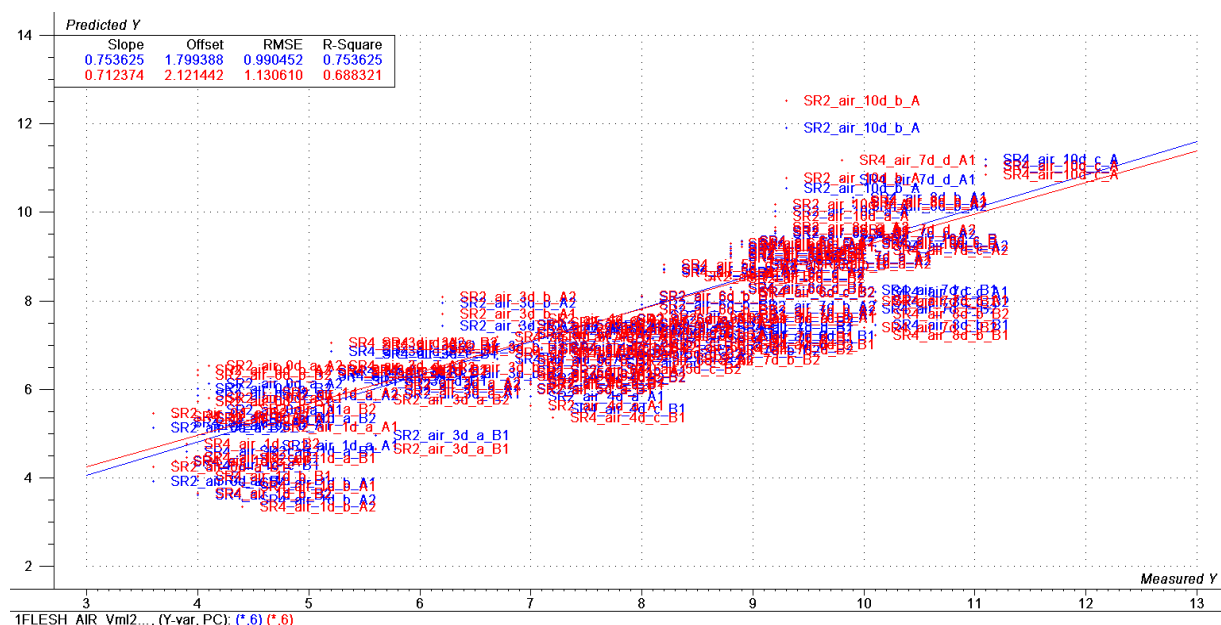
Στην προσπάθεια μικροβιολογικής και πολυφασματικής συσχέτισης των αποτελεσμάτων, φαίνεται τα μοντέλα που προέκυψαν από δεδομένα εξαγόμενα από τη συσκευή Videometerlab2 να είχαν καλύτερη απόδοση συγκριτικά με εκείνα με εξαγόμενα δεδομένα από τη συσκευή Videometerlite.

Σε γενικές γραμμές, με βάση τους δείκτες απόδοσης των μοντέλων δεν παρατηρήθηκε ικανοποιητική απόδοση. Τις καλύτερες, εκ των αναπτυχθέντων μοντέλων πρόβλεψης, αποδόσεις πρόβλεψης εμφάνισαν εκείνα που αφορούσαν σε δείγματα σάρκας τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης.

3.5.1 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυση δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης

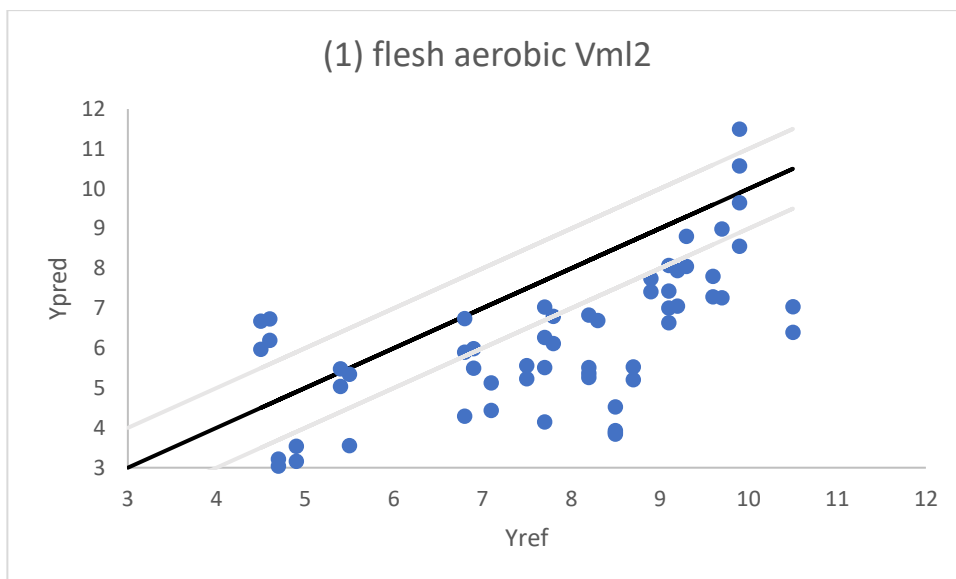
Στην (1) ανάλυση αξιοποιήθηκαν τα δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης. Η εκπαίδευση του μοντέλου (training) πραγματοποιήθηκε με το σετ δεδομένων (микροβιολογικών και πολυφασματικών από τη συσκευή Videometerlab2) από το 3^ο πείραμα που αφορούσε στα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (αριθμός δειγμάτων:116). Η πρόβλεψη του μοντέλου (prediction) πραγματοποιήθηκε με τα δείγματα του 2^{ου} πειράματος (αριθμός δειγμάτων: 59) που αφορούσε στα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set).

Το Διάγραμμα 3.27 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Ypredicted) και των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) για την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.27: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (1) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.

Το Διάγραμμα 3.28 των προβλεπόμενων τιμών OMX ($Y_{\text{predicted}}$) και των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{\text{reference}}$) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.28: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{\text{predicted}}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{\text{reference}}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του μοντέλου συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

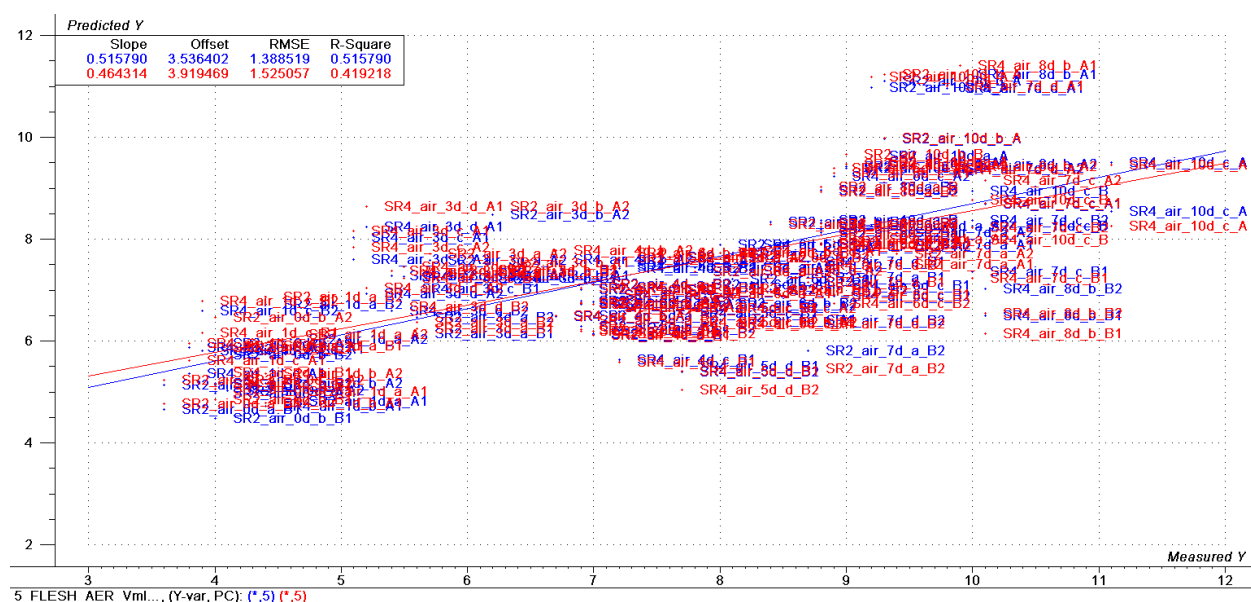
Πίνακας 3.14: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (1) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.

Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.75	0.71	0.64
b	1.8	2.12	1.16
RMSE	0.99	1.13	2.26
R-Square	0.75	0.68	0.73
N	116		59

Ακριβώς η ίδια ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση πολυφασματικών δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite και τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρατίθενται παρακάτω.

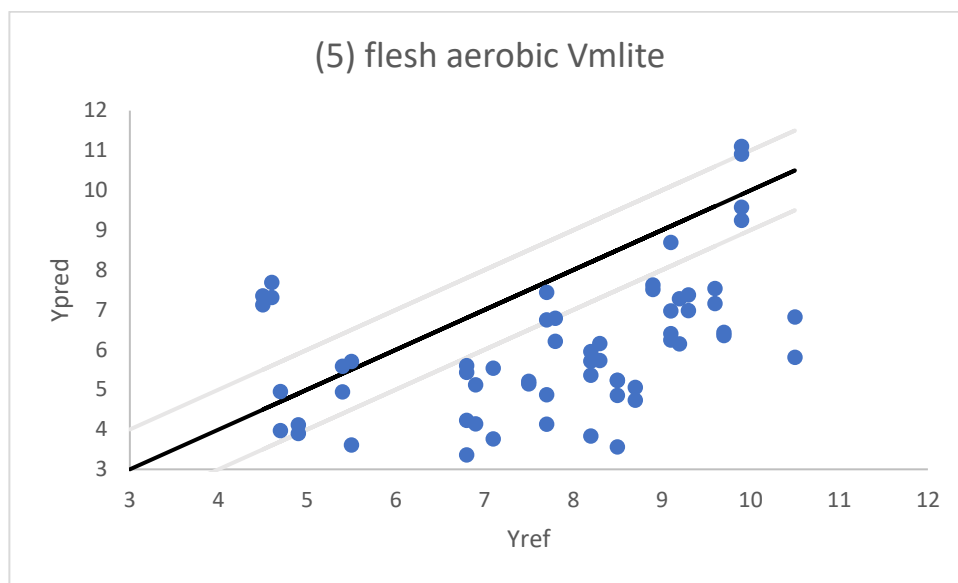
Στην (5) ανάλυση αξιοποιήθηκαν τα δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης. Η εκπαίδευση του μοντέλου (training) πραγματοποιήθηκε με το σετ δεδομένων (μικροβιολογικών και πολυφασματικών από τη συσκευή Videometerlite) από το 3^ο πείραμα που αφορούσε στα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (αριθμός δειγμάτων:116). Η πρόβλεψη του μοντέλου (prediction) πραγματοποιήθηκε με τα δείγματα του 2^{ου} πειράματος (αριθμός δειγμάτων: 60) που αφορούσε στα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set).

Το Διάγραμμα 3.29 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Y_{predicted}) και των τιμών αναφοράς OMX (Y_{reference}) για την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.29: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (5) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα της σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.

Το Διάγραμμα 3.30 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Y_{predicted}) και των τιμών αναφοράς OMX (Y_{reference}) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.30: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{predicted}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

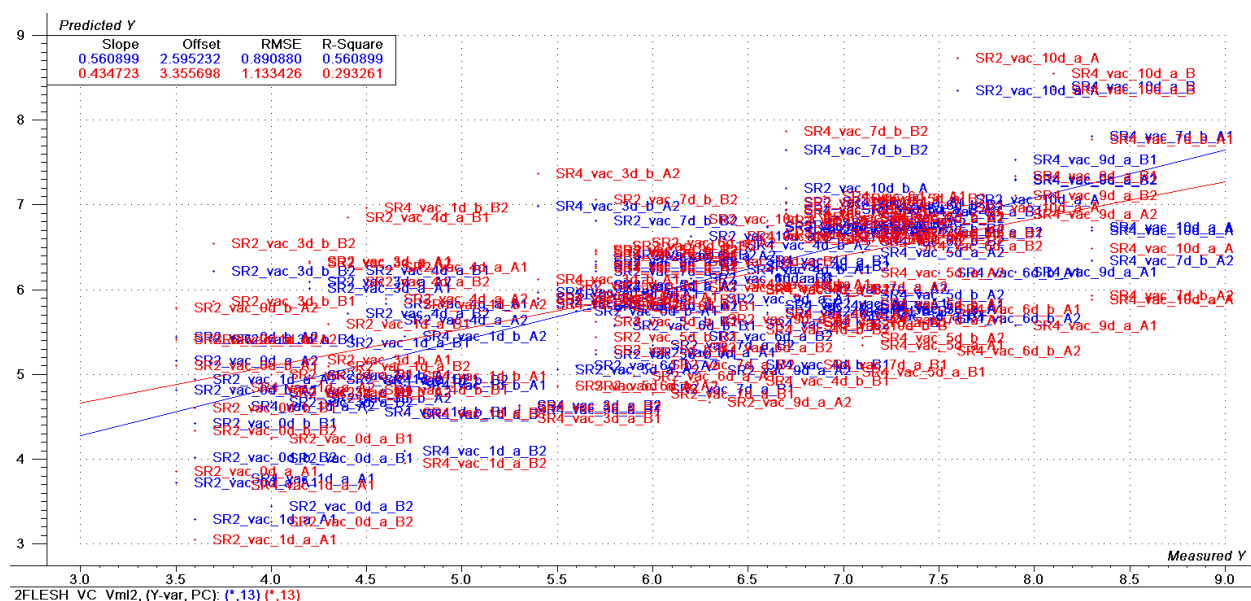
Πίνακας 3.15: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (5) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlite.

Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.51	0.46	0.42
b	3.54	3.92	2.75
RMSE	1.39	1.52	2.5
R-Square	0.51	0.42	-1.13
N	116		60

3.5.2 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυση δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε συνθήκες συντήρησης skin packaging (vaccume)

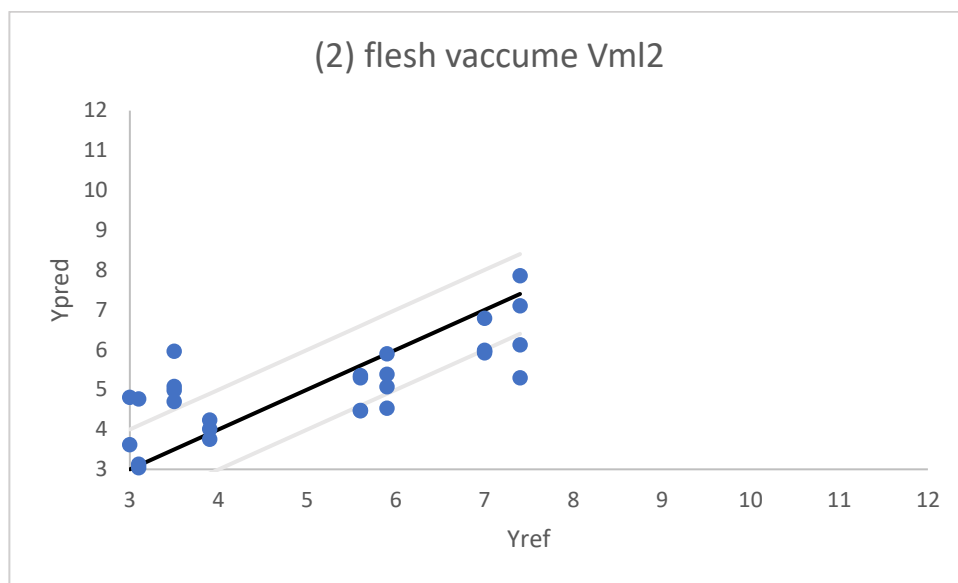
Στην (2) ανάλυση αξιοποιήθηκαν τα δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε συνθήκες συντήρησης skin packaging. Η εκπαίδευση του μοντέλου (training) πραγματοποιήθηκε με το σετ δεδομένων (микροβιολογικών και πολυφασματικών από τη συσκευή Videometerlab2) από το 3^ο πείραμα που αφορούσε στα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (αριθμός δειγμάτων:116). Η πρόβλεψη του μοντέλου (prediction) πραγματοποιήθηκε με τα δείγματα του 1^{ου} πειράματος (αριθμός δειγμάτων: 32) που αφορούσε στα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set).

Το Διάγραμμα 3.31 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Ypredicted) και των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) για την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.31: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (2) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging.

Το Διάγραμμα 3.32 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Ypredicted) και των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



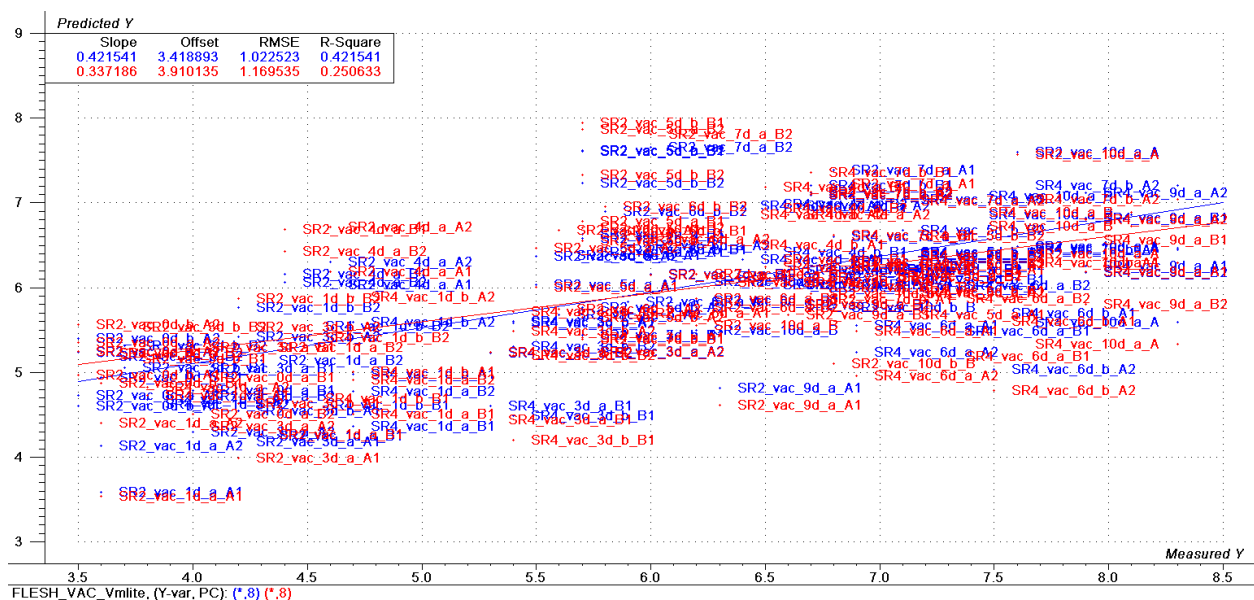
Διάγραμμα 3.32: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{predicted}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3.16: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (2) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.

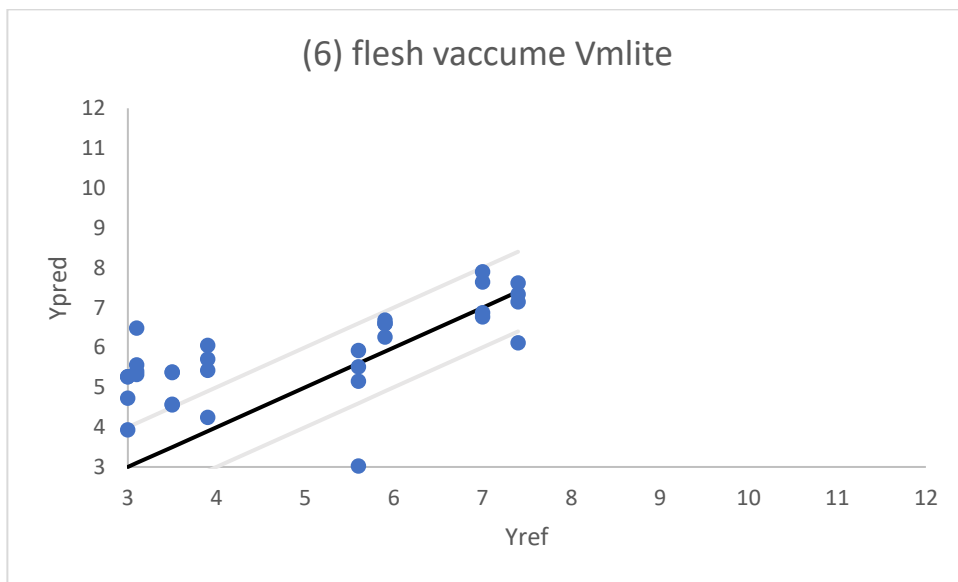
Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.56	0.43	0.77
b	2.59	3.35	0.66
RMSE	0.89	1.13	2.48
R-Square	0.56	0.29	-1.24
N	116		32

Ομοίως για την ανάλυση των δεδομένων της σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging με τη χρήση των τιμών της συσκευής Videometerlite τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρατίθενται παρακάτω στο Διάγραμμα 3.33 (ανάλυση 6).



Διάγραμμα 3.33: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (6) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging.

Το Διάγραμμα 3.34 των προβλεπόμενων τιμών OMX ($Y_{predicted}$) και των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.34: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{predicted}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

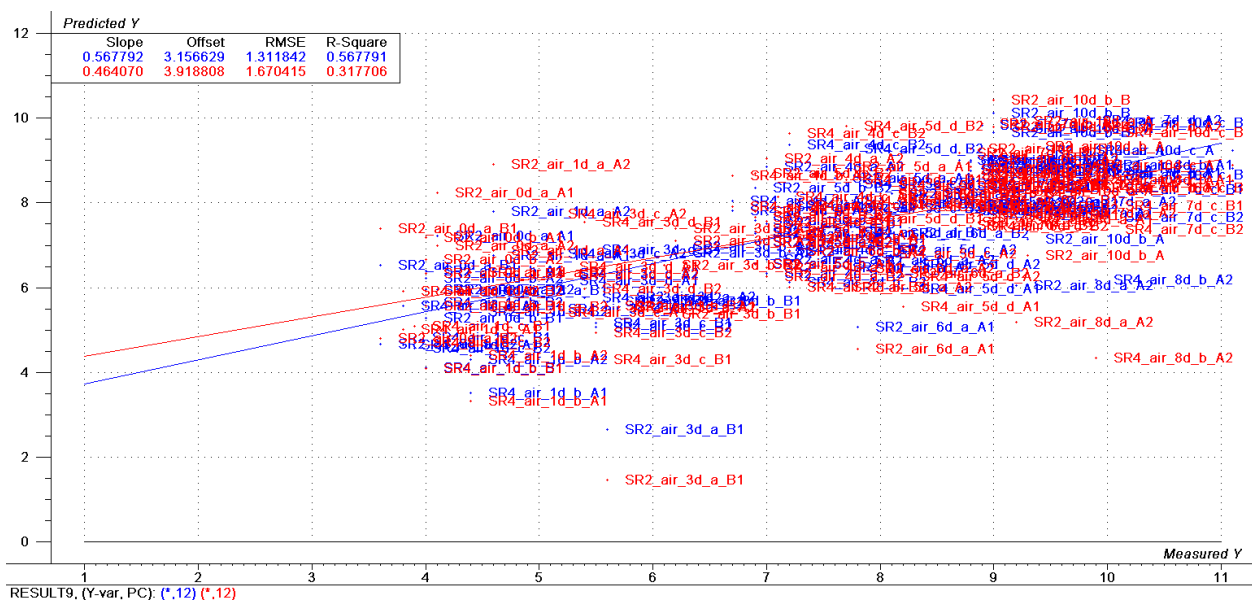
Πίνακας 3.17: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (6) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε skin packaging συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.

Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.42	0.34	0.45
b	3.42	3.91	3.56
RMSE	1.02	1.17	1.51
R-Square	0.42	0.25	0.17
N	116		32

3.5.3 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυσης δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης

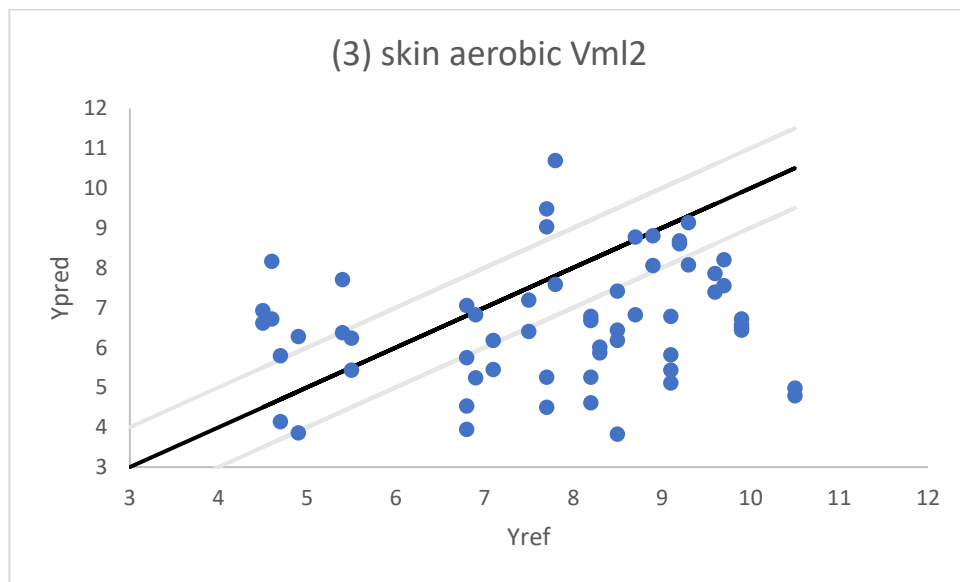
Στην (3) ανάλυση αξιοποιήθηκαν τα δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης. Η εκπαίδευση του μοντέλου (training) πραγματοποιήθηκε με το σετ δεδομένων (μικροβιολογικών και πολυφασματικών από τη συσκευή Videometerlab2) από το 3^ο πείραμα που αφορούσε στα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (αριθμός δειγμάτων:116). Η πρόβλεψη του μοντέλου (prediction) πραγματοποιήθηκε με τα δείγματα του 2^{ου} πειράματος (αριθμός δειγμάτων: 60) που αφορούσε στα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set).

Το Διάγραμμα 3.35 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Ypredicted) και των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) για την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.35: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (3) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.

Το Διάγραμμα 3.36 των προβλεπόμενων τιμών OMX ($Y_{predicted}$) και των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.36: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{predicted}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του μοντέλου συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

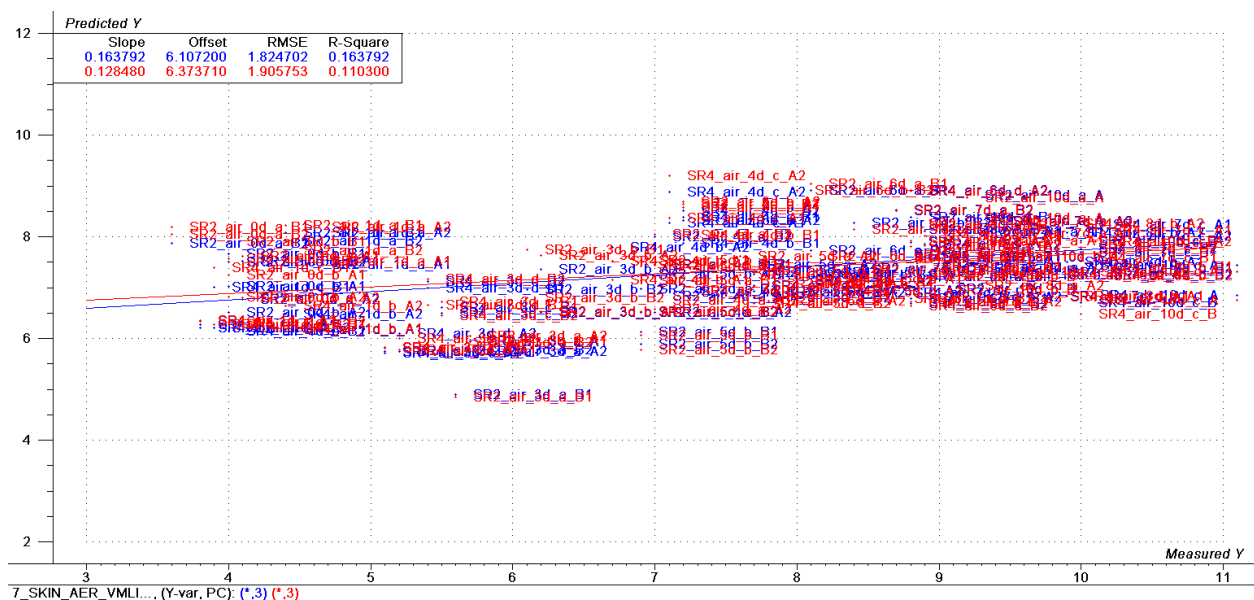
Πίνακας 3.18: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (3) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα του δέρματος φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.

Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.57	0.46	0.17
b	3.16	3.92	5.275
RMSE	1.31	1.67	2.36
R-Square	0.57	0.32	-0.9
N	116		60

Ακριβώς η ίδια ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση πολυφασματικών δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite και τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρατίθενται παρακάτω.

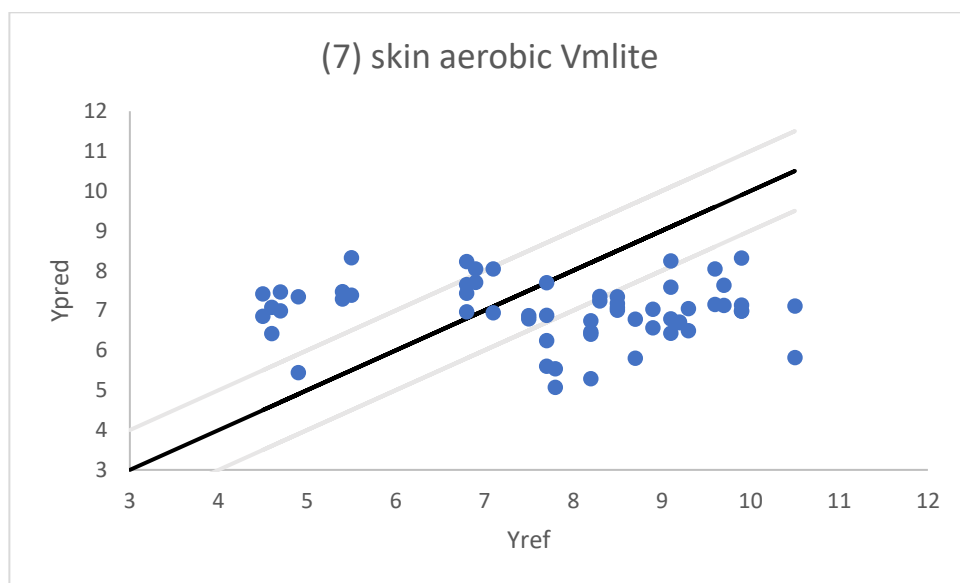
Στην (7) ανάλυση αξιοποιήθηκαν τα δείγματα του δέρματος φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης. Η εκπαίδευση του μοντέλου (training) πραγματοποιήθηκε με το σετ δεδομένων (μικροβιολογικών και πολυφασματικών από τη συσκευή Videometerlite) από το 3^ο πείραμα που αφορούσε στα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (αριθμός δειγμάτων:116). Η πρόβλεψη του μοντέλου (prediction) πραγματοποιήθηκε με τα δείγματα του 2^{ου} πειράματος (αριθμός δειγμάτων: 60) που αφορούσε στα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set).

Το Διάγραμμα 3.37 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Ypredicted) και των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) για την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.37: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (7) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης.

Το Διάγραμμα 3.38 των προβλεπόμενων τιμών OMX ($Y_{predicted}$) και των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.38: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{predicted}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

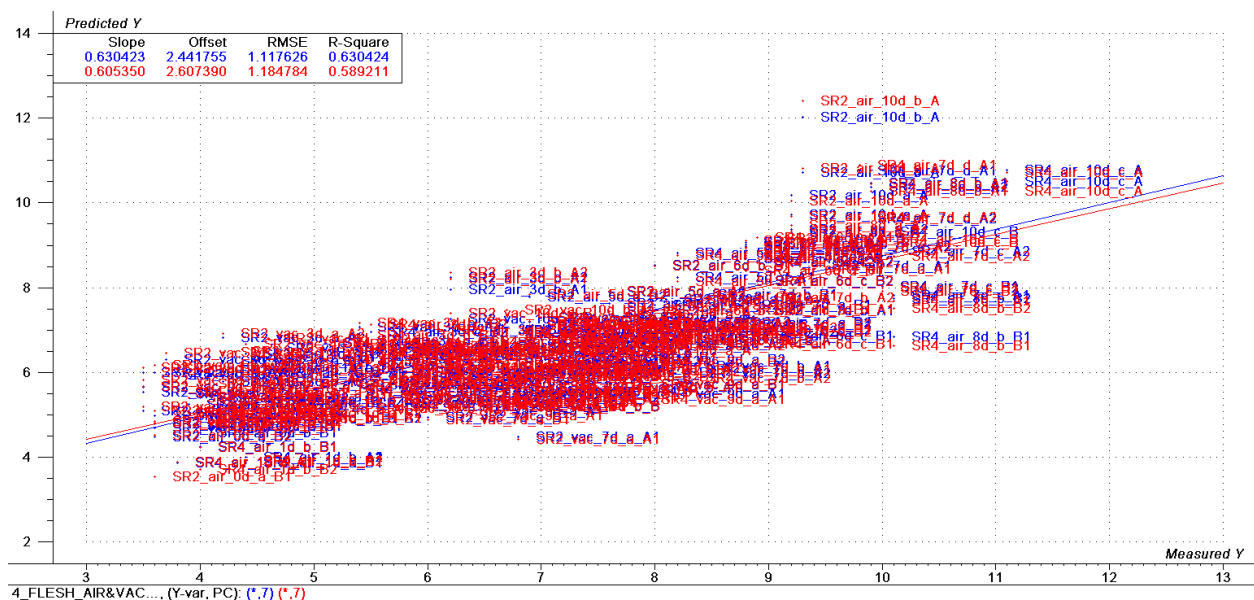
Πίνακας 3.19: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (7) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα δέρματος του φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες συνθήκες με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlite.

Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.16	0.12	-0.034
b	0.13	6.37	7.26
RMSE	1.82	1.9	2.07
R-Square	0.16	0.11	-0.46
N	116		60

3.5.4 Αποτελέσματα πρόβλεψης της αλλοίωσης της τσιπούρας από την ανάλυσης δεδομένων με την μέθοδο παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας

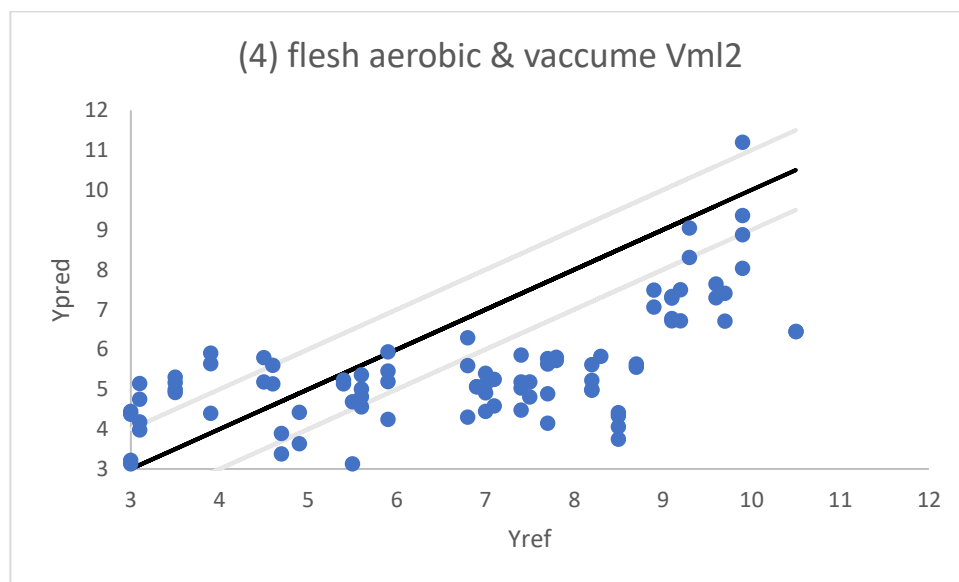
Στην (4) ανάλυση αξιοποιήθηκαν τα δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας για τις αερόβιες αλλά και για τις αναερόβιες συνθήκες συντήρησης. Η εκπαίδευση του μοντέλου (training) πραγματοποιήθηκε με το σετ δεδομένων (микροβιολογικών και πολυφασματικών από τη συσκευή Videometerlab2) από το 3^ο πείραμα που αφορούσε στα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (αριθμός δειγμάτων:232). Η πρόβλεψη του μοντέλου (prediction) πραγματοποιήθηκε με τα δείγματα του 2^{ου} και 1^{ου} πειράματος (αριθμός δειγμάτων: 92) που αφορούσε στα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set).

Το Διάγραμμα 3.39 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Ypredicted) και των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) για την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.39: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (3) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2 για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες αποθήκευσης.

Το Διάγραμμα 3.40 των προβλεπόμενων τιμών OMX ($Y_{predicted}$) και των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.40: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{predicted}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{reference}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlab2.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του μοντέλου συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

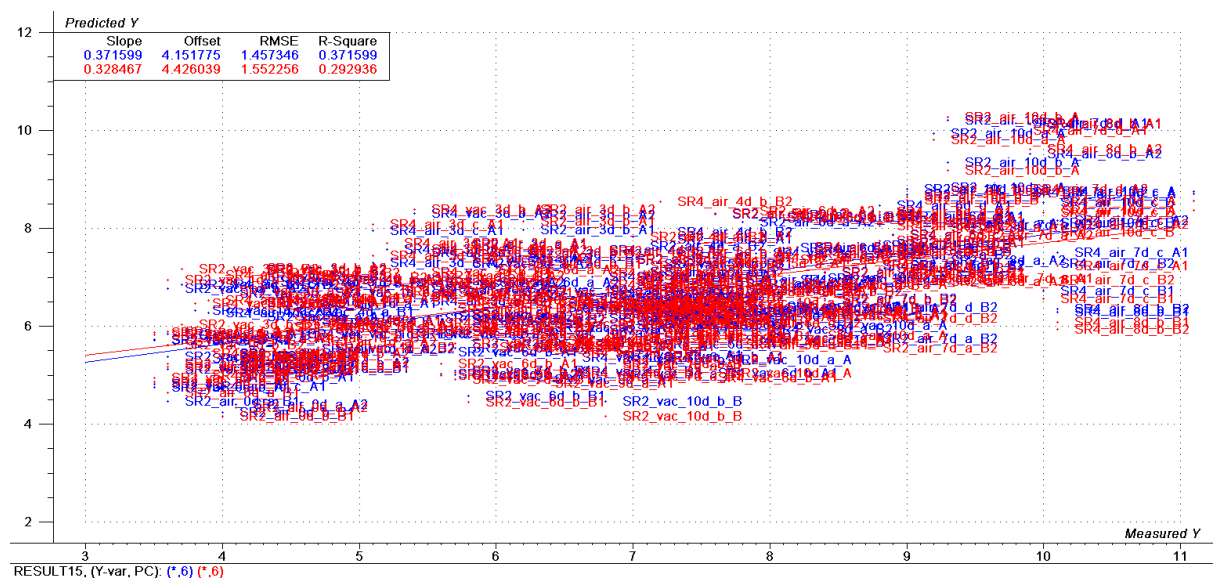
Πίνακας 3.20: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (4) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες συντήρησης με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2.

Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.63	0.6	0.43
b	2.44	2.61	2.55
RMSE	1.12	1.18	2.13
R-Square	0.59	0.63	0.043
N	232		91

Ακριβώς η ίδια ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση πολυφασματικών δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite και τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρατίθενται παρακάτω.

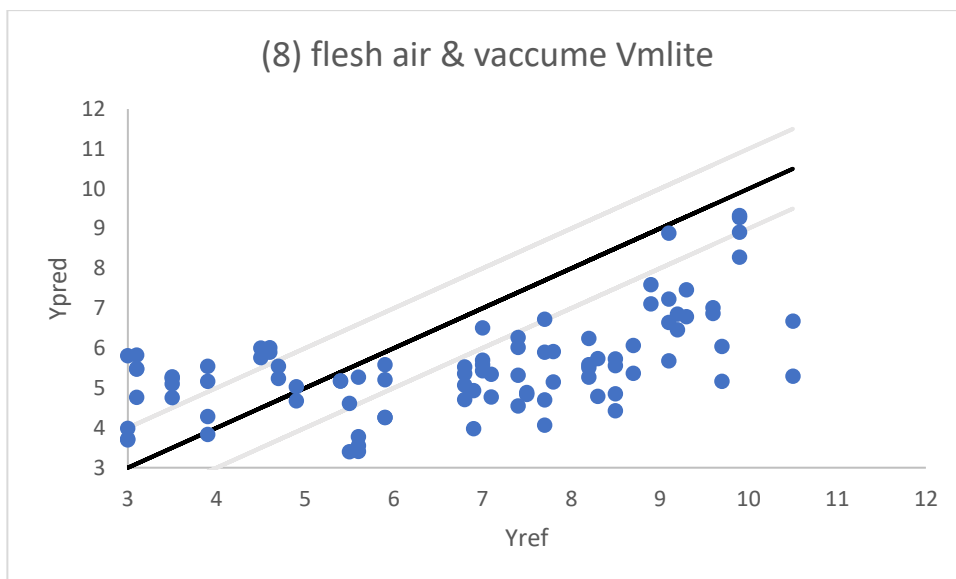
Στην (8) ανάλυση αξιοποιήθηκαν τα δείγματα της σάρκας φιλέτου τσιπούρας σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες συντήρησης. Η εκπαίδευση του μοντέλου (training) πραγματοποιήθηκε με το σετ δεδομένων (μικροβιολογικών και πολυφασματικών από τη συσκευή Videometerlite) από το 3^ο πείραμα που αφορούσε στα δείγματα προμηθευόμενα από την υδατοκαλλιέργεια (αριθμός δειγμάτων:232). Η πρόβλεψη του μοντέλου (prediction) πραγματοποιήθηκε με τα δείγματα του 2^{ου} και 1^{ου} πειράματος (αριθμός δειγμάτων: 92) που αφορούσε στα προμηθευόμενα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής (test set).

Το Διάγραμμα 3.41 των προβλεπόμενων τιμών OMX (Ypredicted) και των τιμών αναφοράς OMX (Yreference) για την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.41: Προβλεπόμενες και αναφερόμενες τιμές OMX από την εσωτερική επικύρωση του μοντέλου (8) με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite για τα δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες αποθήκευσης.

Το Διάγραμμα 3.42 των προβλεπόμενων τιμών OMX ($Y_{\text{predicted}}$) και των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{\text{reference}}$) για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου παρατίθεται παρακάτω.



Διάγραμμα 3.42: Προβλεπόμενες τιμές OMX ($Y_{\text{predicted}}$) συναρτήσει των τιμών αναφοράς OMX ($Y_{\text{reference}}$) που προέκυψαν από το test set για την τελική πρόβλεψη του μοντέλου με τη χρήση των δεδομένων από τη συσκευή Videometerlite.

Τα αποτελέσματα από τις αποδόσεις του συνοψίζονται στον Πίνακα 21:

Πίνακας 3.21: Σύνοψη των δεικτών απόδοσης για την (8) ανάλυση του μοντέλου παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS-R) που αφορούσε δείγματα σάρκας του φιλέτου τσιπούρας σε όλες τις συνθήκες συντήρησης με δεδομένα από τη συσκευή Videometerlite.

Performance indicators	calibration	cross validation	prediction
a	0.37	0.33	0.31
b	4.15	4.43	3.43
RMSE	1.46	1.55	2.17
R-Square	0.37	0.29	-0.004
N	232		92

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την παρούσα διεξαχθείσα μελέτη, για τα φιλέτα τσιπούρας φαίνεται το μικροβιακό φορτίο κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης να αυξάνεται με κυρίαρχο αλλοιογόνο μικροοργανισμό τον *Pseudomonas* spp. και ακόλουθους τα θειοπαραγωγικά βακτήρια και τον *Brochothrix thermosphacta*. Η μειωμένη θερμοκρασία συντήρησης (2°C) έδειξε να επηρεάζει επιβραδυντικά τη διάρκεια ζωής των δειγμάτων συγκριτικά με το θερμοκρασιακό προφίλ των 4°C. Ακόμη, η συσκευασία κενού (skin packaging) φάνηκε να επιδρά, ομοίως, επιβραδυντικά για τη μικροχλωρίδα της τσιπούρας σε σύγκριση με τις αερόβιες συνθήκες συντήρησης. Τα δείγματα που προμηθεύτηκαν από την υδατοκαλλιέργεια εμφάνισαν μεγαλύτερη συνέπεια των μικροβιολογικών, φασματοσκοπικών και οργανοληπτικών αποτελεσμάτων συγκριτικά με τα προμηθευόμενα δείγματα από τα διάφορα καταστήματα λιανικού εμπορίου και είχαν μεγαλύτερο όγκο, λόγος για τον οποίο τα αποτελέσματα από τα συγκεκριμένης προέλευσης δείγματα χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση των μοντέλων PLS-R. Τα προμηθευόμενα δείγματα από τα διάφορα καταστήματα λιανικής εμφάνισαν ορισμένη ασυνέπεια στις οργανοληπτικές αξιολογήσεις, αλλά και στις μικροβιολογικές μετρήσεις, γεγονός που αποδόθηκε στην αβεβαιότητα του χειρισμού των δειγμάτων κατά τη μεταφορά και την αποθήκευση στο κατάστημα λιανικής από όπου προμηθεύτηκαν (ενδεχόμενες κακές πρακτικές χειρισμού, αδυναμία διατήρησης σταθερού θερμοκρασιακού προφίλ κατά την αποθήκευση ή τη μεταφορά).

Οι πολυφασματικές απεικονίσεις φαίνεται να είναι ικανές να αποτελέσουν δείκτη της αλλοίωσης της σάρκας της τσιπούρας, ιδιαίτερα στις περιοχές μηκών κύματος που έχουν συνδεθεί βιβλιογραφικά με τη μετουσίωση της μυογλοβίνης, βιοχημικής διεργασίας κατά την αλλοίωση του μυϊκού ιστού των οργανισμών. Μάλιστα, στην προσπάθεια οπτικοποίησης της αλλοίωσης μέσω της σύγκρισης των απεικονίσεων ίδιου δείγματος φρέσκου και αλλοιωμένου φιλέτου στα 621nm παρατηρούνται οπτικές μεταβολές μέσω της εμφάνισης των ανακλάσεων. Για τη φασματοσκοπική διερεύνηση του δέρματος της τσιπούρας, οι αυξημένες ανακλάσεις έδειξαν να αποτελούν δείκτη αλλοίωσης των δειγμάτων και αποδόθηκαν στα μελανοφόρα που ελέγχονται ενζυμικά μετά τη θανάτωση των ιχθυρών, ωστόσο οι τυπικές αποκλίσεις για τις τιμές των ανακλάσεων ήταν φανερά μεγαλύτερες από της σάρκας, λόγω του κατά τόπου γκρι/ ασημί χρώματος στο δέρμα του *Sparus Aurata* που αντανακλούσε. Ενδεχομένως η απεικόνιση της σάρκας του συγκεκριμένου ψαριού να αποτελεί αποτελεσματικότερο εργαλείο για την εκτίμηση της αλλοίωσης συγκριτικά με την απεικόνιση του δέρματος.

Η προσπάθεια συσχέτισης των μικροβιολογικών και πολυφασματικών δεδομένων του πειράματος με τη μέθοδο PLS-R φαίνεται να λειτουργήσει καλύτερα για τα μοντέλα που εκπαιδεύτηκαν με τα εξαγόμενα δεδομένα από τη συσκευή Videometerlab2 συγκριτικά με τα εξαγόμενα από το Videometerlite, ενώ οι δείκτες των μοντέλων πρόβλεψης που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγησή τους εμφάνισαν σε γενικές γραμμές όχι καλές τιμές.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ababouch, L., Souibri, L., Rhaliby, K., Ouahdi, O., Battal, M. and Busta, F. (1996) 'Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature', *Food Microbiology*, 13, pp. 123-132.
- Agriopoulou, S., Tarapoulouzi, M., Boat, M.A.B., Rébufa, C., Dupuy, N., Theocharis, C.R., Varzakas, T., Roussos, S. and Artaud, J. (2021) 'Authentication and chemometric discrimination of six Greek PDO table olive varieties through morphological characteristics of their stones', *Foods*, 10(8), p. 1829. <https://doi.org/10.3390/foods10081829>.
- Ali, A., Parisi, A., Conversano, M.C., Iannacci, A., D'Emilio, F., Mercurio, V. and Normanno, G. (2020) 'Food-borne bacteria associated with seafoods: a brief review', *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 7. <https://doi.org/10.18502/jfqhc.7.1.2446>.
- Ali, S., Farid, M., Bharwana, S. and Ahmad, R. (2014) 'Effect of different heavy metal pollution on fish', *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 7.
- Amagliani, G., Brandi, G. and Schiavano, G.F. (2012) 'Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety', *Food Research International*, 45, pp. 780-788. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.022>.
- Amending Annex I to Regulation (EC) No 2073/2005 as regards histamine in fishery products (Text with EEA relevance) (2013).
- Argudín, M.A., Mendoza, M.C. and Rodicio, M.R. (2010) 'Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins', *Toxins*, 2(7), pp. 1751-1773. <https://doi.org/10.3390/toxins2071751>.
- Balami, S., Sharma, A. and Karn, R. (2019) 'Significance of nutritional value of fish for human health', *Malaysian Journal of Halal Research*, 2(2), pp. 32–34. <https://doi.org/10.2478/mjhr-2019-0012>.
- Barrett, K.A., Nakao, J.H., Taylor, E.V., Eggers, C. and Gould, L.H. (2017) 'Fish-associated foodborne disease outbreaks: United States, 1998-2015', *Foodborne Pathogens and Disease*, 14(9), pp. 537-543. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2286>.
- Basavakumar, K., Karunasagar, I. and Karunasagar, I. (1992) 'Ability of fish-associated bacteria to produce amines suspected to be involved in scombroid poisoning', *Indian Journal of Microbiology*, 32, pp. 75-79.
- Bat, L. and Arıcı, E. (2018) 'Heavy metal levels in fish, molluscs, and crustacea from Turkish seas and potential risk of human health', in: *Food Quality: Balancing Health and Disease*. Elsevier.
- Bat, L. and Özkan, E.Y. (2015) 'Heavy metal levels in sediment of the Turkish Black Sea coast', in: Bikarska, I., Raykov, V. and Nikolov, N. (eds) *Progressive Engineering Practices in Marine Resource Management*. USA: IGI Global, Advances in Environmental Engineering and Green Technologies (AEEGT), pp. 399–419.
- Bat, L. (2014) 'Heavy metal pollution in the Black Sea', in Düzgünes, E., Öztürk, B. and Zengin, M. (eds.) *Turkish Fisheries in the Black Sea*. Istanbul: Turkish Marine Research Foundation (TUDAV), pp. 71–107.

- Bellinger, E.G. and Benham, B.R. (1978) 'The levels of metals in dock-yard sediments with particular reference to the contributions from ship-bottom paints', *Environmental Pollution*, 15, pp. 71–81.
- Béné, C., Barange, M., Subasinghe, R., Pinstrip-Andersen, P., Merino, G., Hemre, G.I. and others (2015) 'Feeding 9 billion by 2050 – putting fish back on the menu', *Food Security*, 7(2), pp. 261–274.
- Black, R.E., Victora, C.G., Walker, S.P., Bhutta, Z.A., Christian, P., De Onis, M. and others (2013) 'Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries', *The Lancet*, 382(9890), pp. 427–451.
- Bogard, J.R., Hother, A.L., Saha, M., Bose, S., Kabir, H., Marks, G.C. and others (2015) 'Inclusion of small indigenous fish improves nutritional quality during the first 1000 days', *Food and Nutrition Bulletin*, 36(3), pp. 276–289.
- Brereton, R.G. (2000) 'Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry', *The Analyst*, 125(11), pp. 2125–2154. <https://doi.org/10.1039/b003805j>.
- Brett, M.S.Y., Short, P. and McLauchlin, J. (1998) 'A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels', *International Journal of Food Microbiology*, 43(3), pp. 223–229. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(98\)00116-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00116-0).
- Broekaert, K., Heyndrickx, M., Devlieghere, F., Herman, L. and Vlaemynck, G. (2009) 'Evaluation of media in the detection of bacterial contaminants in fish', *Book of Abstracts of the 3rd Joint Trans-Atlantic Fisheries Technology Conference*. ResearchGate.
- Bryan, G.W. (1984) 'Pollution due to heavy metals and their compounds', in Kinne, O. (ed.) *Marine Ecology*. Chichester: Interscience/Wiley, pp. 1290–1430.
- Bulushi, I.A., Poole, S., Deeth, H.C. and Dykes, G.A. (2009) 'Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation—a review', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(4), pp. 369–377. <https://doi.org/10.1080/10408390802067514>.
- Bustamante, P., Bocher, P., Chérel, Y., Miramand, P. and Caurant, A. (2003) 'Distribution of trace elements in the tissues of benthic and pelagic fish from the Kerguelen Islands', *Science of the Total Environment*, 313, pp. 25–39.
- Carstensen, J.M. and Hansen, J.F. (2006) *APPARATUS AND A METHOD OF RECORDING AN IMAGE OF AN OBJECT*. [online] Available at: www.videometer.com [Accessed 8 August 2024].
- Carstensen, J.M., Hansen, M.E., Krieger, L.N.C. and Hansen, P.W. (2006) *Creating surface chemistry maps using multispectral vision technology*. Denmark: IMM-Technical Report-2006-17. Available at: <https://orbit.dtu.dk/en/publications/creating-surface-chemistry-maps-using-multispectral-vision-techno> [Accessed 10 August 2024].
- Cartwright, E.J., Jackson, K.A., Johnson, S.D., Graves, L.M., Silk, B.J. and Mahon, B.E. (2013) 'Listeriosis outbreaks and associated food vehicles, United States, 1998-2008', *Emerging Infectious Diseases*, 19(1), pp. 1–9. <https://doi.org/10.3201/eid1901.120393>.
- Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G.-J., Villani, F. and Ercolini, D. (2015) 'Bacterial populations and the volatilome associated with meat spoilage', *Food Microbiology*, 45, pp. 83–102. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.002>.

- Cheng, J. and Sun, D. (2015) 'Recent applications of spectroscopic and hyperspectral imaging techniques with chemometric analysis for rapid inspection of microbial spoilage in muscle foods', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4), pp. 478–490. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12141>.
- Cheung, W.W.L. and Pauly, D. (2016) 'Impacts and effects of ocean warming on marine fishes', in Laffoley, D. and Baxter, J.M. (eds.) *Explaining ocean warming: causes, scale, effects and consequences*. Switzerland: IUCN Gland, pp. 239–253.
- Cheung, W.W.L., Lam, V.W.Y., Sarmiento, J.L., Kearney, K., Watson, R.E.G., Zeller, D. and others (2010) 'Large-scale redistribution of maximum fisheries catch potential in the global ocean under climate change', *Global Change Biology*, 16(1), pp. 24–35.
- Chrysohoou, C., Panagiotakos, D.B., Pitsavos, C., Skoumas, J., Krinos, X., Chloptsios, Y. and Stefanadis, C. (2007) 'Long-term fish consumption is associated with protection against arrhythmia in healthy persons in a Mediterranean region – the ATTICA study', *American Journal of Clinical Nutrition*, 85(5), pp. 1385–1391.
- Chytiri, S., Paleologos, E., Savvaidis, I. and Kontominas, M. (2004) 'Relationship of biogenic amines with microbial and sensory changes of whole and filleted freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored on ice', *Journal of Food Protection*, 67, pp. 960–965.
- Commission Regulation (EC) (2006) 'Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs', no. 1881.
- Council of Europe (2001) 'Council of Europe's policy statements concerning materials and articles intended to come into contact with foodstuffs', *Policy Statement Concerning Materials and Alloys. Technical Document. Guidelines on Metals and Alloys Used as Food Contact Materials*. Strasbourg, France, p. 67.
- Dainty, R.H. (1996) 'Chemical/biochemical detection of spoilage', *International Journal of Food Microbiology*, 33(1), pp. 19–33. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01137-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01137-3).
- Domingo, J.L. (2016) 'Nutrients and chemical pollutants in fish and shellfish: balancing health benefits and risks of regular fish consumption', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(6), pp. 979–988.
- Dong, Y.J. (2017) *Spectroscopy and spectra imaging technology and their application in food detection*. PhD. Zhejiang University.
- Duflos, G., Dervin, C., Malle, P. and Bouquelet, S. (1999) 'Use of biogenic amines to evaluate spoilage in plaice (*Pleuronectes platessa*) and whiting (*Merlangus merlangus*)', *Journal of AOAC International*, 82, pp. 1357–1363.
- Eden, R. (2014). *Enterobacteriaceae, coliforms and E. coli: Classical and modern methods for detection and enumeration*. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 1, pp.667–673. Available at: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00097-5>.
- El Marrakchi, A., Bennour, M., Bouchriti, N., Hamama, A. and Tagafait, H. (1990). Sensory, chemical, and microbiological assessment of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Journal of Food Protection*, 53, pp.600–605.

- Elbashir, S., Parveen, S., Schwarz, J., Rippen, T., Jahncke, M. and DePaola, A. (2018). Seafood pathogens and information on antimicrobial resistance: a review. *Food Microbiology*, 70, pp.85-93. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.011>.
- Facon, J.-P. and Desforges, I. (2021). Enteropathogenic vibrios: a Growing Worldwide Public Health Risk Associated with Seafood Products. [online] Biomerieux. Available at: <https://www.biomerieux-industry.com/ko/node/1542> [Accessed 29 Sep. 2024].
- FAO Agriculture and Consumer Protection Department. (2002). Human vitamin and mineral requirements. Training materials for agricultural planning.
- FAO. (2018). *The state of world fisheries and aquaculture 2018 - meeting the sustainable development goals*. Rome: FAO.
- FAO. (2020). *The state of world fisheries and aquaculture 2020 - sustainability in action*.
- Fengou, L.-C., Lianou, A., Tsakanikas, P., Gkana, E.N., Panagou, E.Z. and Nychas, G.-J.E. (2019). Evaluation of Fourier transform infrared spectroscopy and multispectral imaging as means of estimating the microbiological spoilage of farmed sea bream. *Food Microbiology*, 79, pp.27-34. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.10.020>.
- Fernandez-Salguero, J. and Mackie, I. (1979). Histidine metabolism in mackerel (*Scomber scombrus*): Studies on histidine decarboxylase activity and histamine formation during storage of flesh and liver under sterile and non-sterile conditions. *Journal of Food Technology*, 14, pp.131-139.
- Fisher, E.L., Otto, M. and Cheung, G.Y.C. (2018). Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. *Frontiers in Microbiology*, 9, p.436. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00436>.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2014). *The Role of Aquatic Foods in Sustainable Healthy Diets: Blue Growth for Nutrition*. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/newsroom/docs/BlueGrowthNutritionRev2.pdf [Accessed 19 September 2024].
- Food and Agriculture Organization (FAO). (n.d.). *Fishery and Aquaculture Country Profiles: Greece*. Available at: <https://www.fao.org/fishery/en/facp/grc?lang=en> [Accessed 19 September 2024].
- Förstner, U. and Wittmann, G.T.W. (1983). *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag.
- Freitas, J., Vaz-Pires, P. and Câmara, J.S. (2021). Quality Index Method for Fish Quality control: Understanding the applications, the Appointed Limits and the Upcoming Trends. *Trends in Food Science & Technology*, 111, pp.333-345. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.011>.
- Ghanbari, M., Jami, M., Domig, K.J. and Kneifel, W. (2013). Seafood biopreservation by lactic acid bacteria—a review. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), pp.315-324. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.039>.
- Giltner, C.L., Nguyen, Y. and Burrows, L.L. (2012). Type IV pilin proteins: versatile molecular modules. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(4), pp.740-772. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00035-12>.

- Golden, C.D., Allison, E.H., Cheung, W.W.L., Dey, M.M., Halpern, B.S., McCauley, D.J., et al. (2016). Nutrition: Fall in fish catch threatens human health. *Nature*, 534(7607), p.317.
- Gonzales, C., Leiva-Revilla, J., Rubio, J., Gasco, M. and Gonzales, G.F. (2011). Effect of red maca (*Lepidium meyenii*) on prostate zinc levels in rats with testosterone-induced prostatic hyperplasia. *Andrologia*, 44(1), pp.362-369. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01190.x>.
- Gram, L. and Huss, H.H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, pp.121-137.
- Gudmundsdottir, S., Gudbjornsdottir, B., Einarsson, H., Kristinsson, K.G. and Kristjansson, M. (2006). Contamination of cooked peeled shrimp (*Pandalus borealis*) by *Listeria monocytogenes* during processing at two processing plants. *Journal of Food Protection*, 69(6), pp.1304-1311. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.6.1304>.
- Halasz, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L. and Holzapfel, W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, 5, pp.42-49.
- Heintz, M.L., Ruble, R.D., Wagner, D.E. and Tatini, S.R. (2000). Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. *Journal of Food Protection*, 63(5), pp.579-592. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.5.579>.
- Herbert, R.A., Hendrie, M.S., Gibson, D.M. and Shewan, J.M. (1971). Bacteria active in the spoilage of certain sea foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 34(1), pp.41-50. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1971.tb02267.x>.
- Hicks, C.C., Cohen, P.J., Graham, N.A.J., Nash, K.L., Allison, E.H. and D’Lima, C., et al. (2019). Harnessing global fisheries to tackle micronutrient deficiencies. *Nature*, 574, pp.95-98.
- Holben, D.H. and Smith, A.M. (1999). The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. *Journal of the American Dietetic Association*, 99, pp.836-843.
- Holbert, S., Grant, G. and Naughton, P.J. (2024). *Salmonella* spp.: Transmission, Pathogenesis, Host-pathogen interaction, Prevention and Treatment. [online] www.frontiersin.org. Available at: <https://www.frontiersin.org/research-topics/53082/salmonella-spp--transmission-pathogenesis-host-pathogen-interaction-prevention-and-treatment>.
- Holick, M.F. (2008). The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: Mechanisms of action. *Molecular Aspects of Medicine*, 29, pp.361-368.
- Horowitz, B.Z. (2010) ‘Type E botulism’, *Clinical Toxicology*, 48(9), pp.880-895. Available at: <https://doi.org/10.3109/15563650.2010.526943> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Huang, M.Z., Yuan, C.H., Cheng, S.C., Cho, Y.T. and Shiea, J. (2010) ‘Ambient ionization mass spectrometry’, in Yeung, E.S. and Zare, R.N. (eds.) *Annual Review of Analytical Chemistry*, Vol. 3, pp.43–65. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.anchem.111808.073702> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Huss, H.H., Reilly, A. and Ben Embarek, P.K. (2000) ‘Prevention and control of hazards in seafood’, *Food Control*, 11(2), pp.149-156. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(99\)00087-0](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(99)00087-0) [Accessed 29 Sep. 2024].

- Iwamoto, M., Ayers, T., Mahon, B.E. and Swerdlow, D.L. (2010) 'Epidemiology of seafood-associated infections in the United States', *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2), pp.399-411. Available at: <https://doi.org/10.1128/CMR.00059-09> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Jakimska, A., Konieczka, P., Skora, K. and Namieśnik, J. (2011) 'Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals. Part I: The role and impact of heavy metals on organisms', *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5), pp.1117–1125.
- Jay, J.M. (1986) 'Microbial spoilage indicators and metabolites', in Pierson, M.D. and Stern, N.J. (eds.) *Food-borne microorganisms and their toxins: Developing methodology*, pp.219-240. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.
- Joseph, J., Vijayan, P. and Gopakumar, K. (1992) 'Flying fish: Spoilage at ambient temperature and in ice and processing', *Tropical Science*, 33, pp.17-26.
- Karolus, J., Leblanc, D., March, A., Mshar, R. and Furgalack, T. (1985) 'Presence of histamine in the bluefish, *Pomatomus saltatrix*', *Journal of Food Protection*, 48, pp.166-168.
- Kharbach, M., Alaoui Mansouri, M., Taabouze, M. and Yu, H. (2023) 'Current application of advancing spectroscopy techniques in food analysis: Data handling with chemometric approaches', *Foods*, 12(14). Available at: <https://doi.org/10.3390/foods12142753> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Koutsoumanis, K. and Nychas, G.-J.E. (1999) 'Chemical and sensory changes associated with microbial flora of Mediterranean boqueron (Boops boops) stored aerobically at 0, 3, 7, and 10°C', *Applied and Environmental Microbiology*, 65(2), pp.698–706. Available at: <https://doi.org/10.1128/aem.65.2.698-706.1999> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Koutsoumanis, K. and Nychas, G.-J.E. (2000) 'Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions', *International Journal of Food Microbiology*, 60(2-3), pp.171–184. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00309-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00309-3) [Accessed 29 Sep. 2024].
- Kyranas, V.R., Lougovois, V.P. and Valsamis, D.S. (1997) 'Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice', *International Journal of Food Science & Technology*, 32(4), pp.339–347. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1997.00408.x> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Lambertz, S.T., Ivarsson, S., Lopez-Valladares, G., Sidstedt, M. and Lindqvist, R. (2013) 'Subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates recovered from retail ready-to-eat foods, processing plants and listeriosis patients in Sweden 2010', *International Journal of Food Microbiology*, 166(1), pp.186-192. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.008> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Lambertz, S.T., Nilsson, C., Bradenmark, A., Sylven, S., Johansson, A., Jansson, L.M. and Lindblad, M. (2012) 'Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Sweden 2010', *International Journal of Food Microbiology*, 160(1), pp.24-31. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.09.010> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Leclair, D., Farber, J.M., Pagotto, F., Suppa, S., Doidge, B. and Austin, J.W. (2017) 'Tracking sources of *Clostridium botulinum* type E contamination in seal meat', *International Journal of Circumpolar Health*, 76(1), p.1380994. Available at: <https://doi.org/10.1080/22423982.2017.1380994> [Accessed 29 Sep. 2024].

- Lee, S., Shin, J., Sung, N., Kim, J. and Hotchkiss, J. (2003) 'Effect of cooking on the formation of N-nitrosodimethylamine in Korean dried seafood products', *Food Additives and Contaminants*, 20, pp.31-36.
- Li, Q., Sun, X., Mubango, E., Zheng, Y., Liu, Y., Zhang, Y., Tan, Y., Luo, Y. and Hong, H. (2023) 'Effects of protein and lipid oxidation on the water holding capacity of different parts of Bighead carp: Eye, dorsal, belly and tail muscles', *Food Chemistry*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.102774> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Liu, Y., Lyon, B.G., Windham, W.R., Realini, C.E., Pringle, T.D. and Duckett, S. (2003) 'Prediction of color, texture, and sensory characteristics of beef steaks by visible and near-infrared reflectance spectroscopy: A feasibility study', *Meat Science*, 65(3), pp.1107–1115. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(02\)00328-5](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(02)00328-5) [Accessed 29 Sep. 2024].
- Lytou, A., Fengou, L.-C., Koukourikos, A., Karampiperis, P., Zervas, P., Schultz Carstensen, A., Del Genio, A., Michael Carstensen, J., Schultz, N., Chorianopoulos, N. and Nychas, G.-J. (2024) 'Seabream quality monitoring throughout the supply chain using a portable multispectral imaging device', *Journal of Food Protection*, 87(10), p.100274. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100274> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Ma, F., Qin, H., Shi, K., Zhou, C., Chen, C., Hu, X. and Zheng, L. (2016) 'Feasibility of combining spectra with texture data of multispectral imaging to predict heme and non-heme iron contents in pork sausages', *Food Chemistry*, 190, pp.142–149. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.084> [Accessed 29 Sep. 2024].
- Manthou, E., Lago, S.-L., Dagres, E., Lianou, A., Tsakanikas, P., Panagou, E.Z., Anastasiadi, M., Mohareb, F. and Nychas, G.E. (2020) 'Application of spectroscopic and multispectral imaging technologies on the assessment of ready-to-eat pineapple quality: A performance evaluation study of machine learning models generated from two commercial data analytics tools', *Journal of Food Microbiology*, 175. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfm.2020.104751>
- Maurya, A., Pandey, G. and Verma, H. (2018). 'A review on the role of fish in human nutrition with special emphasis to essential fatty acid assessment of fish and fisheries of River Ganga for developing suitable conservation and restoration plan', *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6(2), pp. 427-430.
- McCoy, E., Morrison, J., Cook, V., Johnston, J., Eblen, D. and Guo, C. (2011). 'Foodborne agents associated with the consumption of aquaculture catfish', *Journal of Food Protection*, 74(4), pp. 500-516. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-341>.
- Mckenzie, S. (2018). 'Clostridium Botulinum Life Cycle', [online] *News-Medical.net*. Available at: <https://www.news-medical.net/life-sciences/Clostridium-botulinum-Life-Cycle.aspx> [Accessed 30 Sep. 2024].
- Miettinen, H. and Wirtanen, G. (2006). 'Ecology of Listeria spp. in a fish farm and molecular typing of Listeria monocytogenes from fish farming and processing companies', *International Journal of Food Microbiology*, 112(2), pp. 138-146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.016>.
- Mietz, J. (1977). 'Chemical quality index of canned tuna as determined by high pressure liquid chromatography', *Journal of Food Science*, 42, pp. 155-158.
- Miya, S., Takahashi, H., Ishikawa, T., Fujii, T. and Kimura, B. (2010). 'Risk of Listeria monocytogenes contamination of raw ready-to-eat seafood products available at retail outlets in

- Japan', *Applied and Environmental Microbiology*, 76(10), pp. 3383-3386. <https://doi.org/10.1128/AEM.01456-09>.
- Miyoshi, S. (2006). 'Vibrio vulnificus infection and metalloprotease', *The Journal of Dermatology*, 33(9), pp. 589-595. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2006.00139.x>.
- Mohanty, B.P. (2015). 'Nutritional value of food fish', in Das, A.K. and Panda, D. (eds), *Conspectus on Inland Fisheries Management*, ICAR - Central Inland Fisheries Research Institute, pp. 15–21.
- Murray, C.J. (2019). 'Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study', *The Lancet*, 393, pp. 1958–1972.
- Niven, C., Jeffrey, M. and Corlett, D. (1981). 'Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria', *Applied and Environmental Microbiology*, 41, pp. 321-322.
- Normanno, G., Parisi, A., Addante, N., Quaglia, N.C., Dambrosio, A., Montagna, C. and Chiocco, D. (2006). 'Vibrio parahaemolyticus, Vibrio vulnificus and microorganisms of fecal origin in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) sold in the Puglia region (Italy)', *International Journal of Food Microbiology*, 106(2), pp. 219-222. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.05.020>.
- Novoslavskij, A., Terentjeva, M., Eizenberga, I., Valciņa, O., Bartkevičs, V. and Bērziņš, A. (2015). 'Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review', *Annals of Microbiology*, 66(1), pp. 1–15. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1102-5>.
- Özbay, Ö. (2023). 'Assessment of heavy metal pollution in coastal surface sediments of the Mersin Bay, Northeastern Mediterranean Sea', *International Journal of Environmental Science and Technology*, 21(1), pp. 875–884. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-05196-x>.
- Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I. and others (1997). 'Methods to evaluate fish freshness in research and industry: A review', *Trends in Food Science and Technology*, 8, pp. 258–265.
- Omwange, K.A., Saito, Y., Zichen, H., Khaliduzzaman, A., Kuramoto, M., Ogawa, Y., Kondo, N. and Suzuki, T. (2021). 'Evaluating Japanese dace (*Tribolodon hakonensis*) fish freshness during storage using multispectral images from visible and UV excited fluorescence', [online] *ScienceDirect*. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643821013608> [Accessed 15 Sep. 2024].
- Pagadala, S., Parveen, S., Rippen, T., Luchansky, J.B., Call, J.E., Tamplin, M.L. and Porto-Fett, A.C.S. (2012). 'Prevalence, characterization, and sources of *Listeria monocytogenes* in blue crab (*Callinectes sapidus*) meat and blue crab processing plants', *Food Microbiology*, 31(2), pp. 263-270. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.015>.
- Pagadala, S., Parveen, S., Schwarz, J.G., Rippen, T. and Luchansky, J.B. (2011). 'Comparison of automated BAX PCR and standard culture methods for detection of *Listeria monocytogenes* in blue crabmeat (*Callinectes sapidus*) and blue crab processing plants', *Journal of Food Protection*, 74(12), pp. 1930-1933. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-213>.
- Pal, J., Shukla, B.N., Maurya, A.K. and Verma, H.O. (2018). 'A review on the role of fish in human nutrition with special emphasis on essential fatty acids', *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6(2), pp. 427-430.

- Paleologos, E., Savvaidis, I. and Kontominas, M. (2004). 'Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean sea bass (*Dicentrarchus labrax*)', *Food Microbiology*, 21, pp. 549-557.
- Panagou, E.Z., Papadopoulou, O., Carstensen, J.M. and Nychas, G.-J.E. (2014). 'Potential of multispectral imaging technology for rapid and non-destructive determination of the microbiological quality of beef filets during aerobic storage', *International Journal of Food Microbiology*, 174, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.026>.
- Parisi, A., Normanno, G., Addante, N., Dambrosio, A., Montagna, C.O., Quaglia, N.C., Celano, G.V. and Chiocco, D. (2004). 'Market survey of *Vibrio* spp. and other microorganisms in Italian shellfish', *Journal of Food Protection*, 67(10), pp. 2284-2287. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.10.2284>.
- Parlapani, F.F. and Boziaris, I.S. (2016). 'Monitoring of spoilage and determination of microbial communities based on 16S rRNA gene sequence analysis of whole sea bream stored at various temperatures', *LWT - Food Science and Technology*, 66, pp. 553–559. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.007>.
- Parlapani, F.F., Mallouchos, A., Haroutounian, S.A. and Boziaris, I.S. (2014). 'Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of sea bream fillets under various conditions', *International Journal of Food Microbiology*, 189, pp. 153–163. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.006>.
- Parlapani, F.F., Meziti, A., Kormas, K.A. and Boziaris, I.S. (2013). 'Indigenous and spoilage microbiota of farmed sea bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis', *Food Microbiology*, 33, pp. 85–89.
- Parlapani, F.F., Verdos, G.I., Haroutounian, S.A. and Boziaris, I.S. (2015). 'The dynamics of *Pseudomonas* and volatiles during the spoilage of gutted sea bream stored at 2 °C', *Food Control*, 55, pp. 257–265. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.004>.
- Phan, T.T., Khai, L.T.L., Ogasawara, N., Tam, N.T., Okatani, A.T., Akiba, M. & Hayashidani, H. (2005). Contamination of *Salmonella* in retail meats and shrimps in the Mekong Delta, Vietnam. *Journal of Food Protection*, 68(5), pp.1077-1080. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.5.1077>.
- Phillips, D.J.H. (1980). *Quantitative Aquatic Biological Indicators: Their Use to Monitor Trace Metal and Organochlorine Pollution*. London: Applied Science Publishing Ltd.
- Pinsky, M.L., Reygondeau, G., Caddell, R., Palacios-Abrantes, J., Spijkers, J. and Cheung, W.W. (2018). Preparing ocean governance for species on the move. *Science*, 360(6394), pp.1189–1191.
- Rashed, M.N. (2001). Biomarkers as indicator for water pollution with heavy metals in rivers, seas and oceans. *Aswan: South Valley University, Egypt*, 13 p. Available at: [http://faculty.ksu.edu.sa/Adham/My%20documents/Impact%20of%20hazardous%20\(citation%201\).pdf](http://faculty.ksu.edu.sa/Adham/My%20documents/Impact%20of%20hazardous%20(citation%201).pdf) [Accessed 29 Sep. 2024].
- Rice, S., Eitenmiller, R. and Koehler, P. (1976). Biologically active amines in food. A review. *Journal of Milk and Food Technology*, 39, pp. 353-358.
- Rocourt, J., Ben Embarek, P., Toyofuku, H. & Schlundt, J. (2003). Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: the FAO/WHO approach. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 35(3), pp.263-267. [https://doi.org/10.1016/s0928-8244\(02\)00468-6](https://doi.org/10.1016/s0928-8244(02)00468-6).

- Rogers, L.A., Griffin, R., Young, T., Fuller, E., Martin, K.S. and Pinsky, M.L. (2019). Shifting habitats expose fishing communities to risk under climate change. *Nature Climate Change*, 9(7), pp.512–516.
- Ropodi, A.I., Panagou, E.Z. and Nychas, G.-J.E. (2018). Rapid Detection of frozen-then-thawed Minced Beef Using Multispectral Imaging and Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Meat Science*, 135, pp.142–147. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.09.016>.
- Sato, T., Okuzumi, M., Masuda, T. and Fujii, T. (1995). Distribution and genus/species composition of histamine-decomposing bacteria during storage of common mackerel. *Fisheries Science*, 61, pp. 83-85.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L. & Griffin, P.M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), pp.7-15. <https://doi.org/10.3201/eid1701.P11101>.
- Scarano, D. and Rao, R. (2014). DNA markers for food products authentication. *Diversity*, 6(3), pp.579–596.
- Scharer, K., Savioz, S., Cernela, N., Saegesser, G. & Stephan, R. (2011). Occurrence of *Vibrio* spp. in fish and shellfish collected from the Swiss market. *Journal of Food Protection*, 74(8), pp.1345-1347. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-001>.
- Shakila, R., Vijayalakshmi, K. and Jeyasekaran, G. (2003). Changes in histamine and volatile amines in six commercially important species of fish of the Thoothukkudi coast of Tamil Nadu, India stored at ambient temperature. *Food Chemistry*, 82, pp. 347-352.
- Spyrelli, E.D., Ozcan, O., Mohareb, F., Panagou, E.Z. and Nychas, G.-J.E. (2021). Spoilage assessment of chicken breast fillets by means of Fourier transform infrared spectroscopy and multispectral image analysis. *Current Research in Food Science*, 4, pp.121–131. doi:<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.02.007>.
- Sujatha, K., Joice, A.A. and Kumaar, P.S. (2013). Total protein and lipid content in edible tissues of fishes from Kasimodu fish landing centre, Chennai, Tamilnadu. *European Journal of Experimental Biology*, 3(5), pp.252-257.
- Tan, J. and Xu, J. (2020). Applications of electronic nose (e-nose) and electronic tongue (e-tongue) in food quality-related properties determination: a review. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 4, pp.104–115. <https://doi.org/10.1016/j.aiia.2020.06.003>.
- Taylor, S. and Speckhard, M. (1983). Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna. *Marine Fisheries Review*, 45, pp. 35-39.
- Thilsted, S., James, D., Toppe, J., Subasinghe, R. and Karunasagar, I. (2014). Maximizing the Contribution of Fish to Human Nutrition.
- Thilsted, S.H., Thorne-Lyman, A., Webb, P., Bogard, J.R., Subasinghe, R. and Phillips, M.J. et al. (2016). Sustaining healthy diets: the role of capture fisheries and aquaculture for improving nutrition in the post-2015 era. *Food Policy*, 61, pp.126–131.
- Thompson, C.K., Wang, Q., Bag, S.K., Franklin, N., Shadbolt, C.T., Howard, P., Fearnley, E.J., Quinn, H.E., Sintchenko, V. & Hope, K.G. (2017). Epidemiology and whole genome sequencing of an ongoing point-source *Salmonella* Agona outbreak associated with sushi consumption in

- western Sydney, Australia 2015. *Epidemiology and Infection*, 145(10), pp.2062-2071. <https://doi.org/10.1017/s0950268817000693>.
- Topping, G. (1973). Heavy metals in fish from Scottish waters. *Aquaculture*, 11, pp. 373–377.
- Underwood, E.J. (1977). *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. 4th ed. New York, NY: Academic Press.
- Venkatraman, S. and Chezian (2015). Proximate composition of different fish species collected from Muthupet mangroves. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(6), pp.420-423.
- Venugopal, V. and Shahidi, F. (1996). Structure and Composition of Fish Muscle. *Food Reviews International*, 12(2), pp.175–197. doi:<https://doi.org/10.1080/87559129609541074>.
- Vianna, G.M.S., Zeller, D. and Pauly, D. (2020). Fisheries and Policy Implications for Human Nutrition. *Current Environmental Health Reports*, 7(3), pp.161–169. doi:<https://doi.org/10.1007/s40572-020-00286-1>.
- Vladimir Rodionov, Lim, S.-S., Gelfand, V.I. and Borisy, G.G. (1994). Microtubule Dynamics in Fish melanophores. *The Journal of Cell Biology*, 126(6), pp.1455–1464. doi:<https://doi.org/10.1083/jcb.126.6.1455>.
- Vongkamjan, K., Fuangpaiboon, J., Jirachotrapee, S. & Turner, M.P. (2015). Occurrence and diversity of *Listeria* spp. in seafood processing plant environments. *Food Control*, 50, pp.265-272. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.001>.
- Walton, R.N., Clemens, A., Chung, J., Moore, S., Wharton, D., Haydu, L., de Villa, E., Sanders, G., Bussey, J., Richardson, D. & Austin, J.W. (2014). Outbreak of type E foodborne botulism linked to traditionally prepared salted fish in Ontario, Canada. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(11), pp.830-834. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1783>.
- Wan Norhana, M.N., Poole, S.E., Deeth, H.C. & Dykes, G.A. (2010). The effects of temperature, chlorine and acids on the survival of *Listeria* and *Salmonella* strains associated with uncooked shrimp carapace and cooked shrimp flesh. *Food Microbiology*, 27(2), pp.250-256. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.10.008>.
- Wang, S., Xiang, W., Fan, H. and Xie, J. (2017). Study on the Mobility of Water and Its Correlation with the Spoilage Process of Salmon (*Salmo solar*) Stored at 0 and 4 °C by low-field Nuclear Magnetic Resonance (LF NMR 1H). *Journal of Food Science and Technology*, 55(1), pp.173–182. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-017-2880-5>.
- Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S. et al. (2019). Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The Lancet*, 393(10170), pp. 447–492.
- Wold, S., Sjöström, M. and Eriksson, L. (2001). PLS-regression: a Basic Tool of Chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58(2), pp.109–130. doi:[https://doi.org/10.1016/s0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/s0169-7439(01)00155-1).
- Yamanaka, H., Shiomi, K. and Kikuchi, T. (1989). Cadaverine as a potential index for decomposition of salmonoid fishes. *Journal of Food Hygiene Society of Japan*, 30, pp. 170-174.

- Yamani, M. and Untermann, F. (1985). Development of histidine decarboxylase medium and its application to detect other amino acid decarboxylases. *International Journal of Food Microbiology*, 2, pp. 273-278.
- Zhang, Z., Li, Y., Zhao, S., Mengjie Qie, Bai, L., Gao, Z., Liang, K. and Zhao, Y. (2024). Rapid Analysis Technologies with Chemometrics For food Authenticity field: a Review. *Current Research in Food Science*, 8, pp.100676–100676. doi:<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100676>.
- Zou, X., Lu, S. and Liu, B. (1994). Volatile N-nitrosamines and their precursors in Chinese salted fish, A possible etiological factor for NPC in China. *International Journal of Cancer*, 59, pp. 155-158.