

УДК 619: 639.2.09; 639.3.09

**МАЛИМОН З.В.**

*z\_malimon@ukr.net*

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи*

**КУХТИН М.Д.**

*kuchtynnic@gmail.com*

*Тернопільський національний технічний університет ім. І. Пулюя*

**ГРИНЕВИЧ Н.Є.**

*gnatbc@ukr.net*

*Білоцерківський національний аграрний університет*

**МЕХ Н.Я.**

*notyca09@gmail.com*

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи*

### **АНАЛІЗ ОБСІМЕНІННЯ ЗАМОРОЖЕНОЇ РИБИ МЕЗОФІЛЬНОЮ ТА ПСИХРОТРОФНОЮ МІКРОФЛОРОЮ**

Фізико-хімічні та органолептичні зміни, які виникають у рибі під час холодильного зберігання, пов'язані з життєдіяльністю психротрофної групи мікрофлори, яка є активнішою, ніж мезофільна.

Метою роботи було провести порівняльний аналіз обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою для внесення корективів щодо нормативів за мікробіологічними критеріями. У пробах замороженої риби визначали мікробне число за температури  $30 \pm 1$  °C і інкубації упродовж 72 годин (мезофільна мікрофлора) та за температури  $6,5 \pm 0,5$  °C і інкубації упродовж 10 діб (психротрофна мікрофлора). Встановлено, що з проб замороженої риби з кількістю мезофільних бактерій до  $10^2$  КУО/г виділяли в 1,4–1,8 разів ( $p < 0,05$ ) більше психротрофних мікроорганізмів. Досліджені проби з кількістю мезофільних мікроорганізмів від  $10^3$  до  $10^4$  КУО/г були контаміновані психротрофною мікрофлорою, яка в 1,7–6,8 разів ( $p < 0,05$ ) перевищувала вміст мезофільної мікрофлори. За такої кількості мезофільних мікроорганізмів виявляли в середньому до 25 % проб, які мали вміст психротрофних мікроорганізмів більше  $10^5$  КУО/г риби. Проби замороженої риби, які за вмістом МАФАНМ вкладалися у визначений норматив  $5 \times 10^4$  КУО/г, в основному, за кількістю психротрофної мікрофлори не відповідали даному показнику, а перевищували його в 2 і більше рази. Отже, встановлено, що психротрофна мікрофлора замороженої риби кількісно переважає вміст МАФАНМ на декілька порядків. У теплий період року виявлено в 3,0 рази ( $p < 0,05$ ) більше проб замороженої риби, які за вмістом МАФАНМ перевищували максимально допустимий рівень порівняно з холодним періодом року. Встановлено, що  $92,6 \pm 2,5$  % проб замороженої риби за вмістом МАФАНМ відповідали вимогам ДСТУ 4868:2007 Риба заморожена. Водночас при оцінці такої риби за вмістом психротрофної мікрофлори встановлено, що проби, які перевищували показник  $5 \times 10^4$  КУО/г було в 2,6 разів ( $p < 0,05$ ) більше, ніж проби за вмістом МАФАНМ.

**Ключові слова:** заморожена риба, психротрофна мікрофлора, МАФАНМ, обсіменіння, мікробне число.

**doi:** 10.33245/2310-4902-2019-149-1-22-29

**Постановка проблеми.** Риба і морепродукти належать до продуктів, які є джерелом легкозасвоюваного білка, містять незамінні амінокислоти, макро- і мікроелементи [1, 2]. Крім того, вони містять жири, які є цінним джерелом енергії, жиророзчинних вітамінів і ненасичених жирних кислот, що проявляють гіпохолестериновий ефект [3]. Завдяки високій харчовій і біологічній цінності риба є поживним середовищем для розвитку мікроорганізмів усіх груп [4, 5], тому рибу відносять до швидкопсувних харчових продуктів, умови та терміни її зберігання потребують відповідних температурних режимів з метою зупинення розвитку мікроорганізмів [6–8]. У разі недотримання санітарно-гігієнічних вимог під час вилову, заморожування і транспортування риба може бути контамінована мікроорганізмами, які спричиняють харчові інфекції і токсикози [2]. На український ринок морську рибу доставляють, в основному, у замороженому вигляді за температури мінус 12–18 °C.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Відповідно до ДСТУ 4868:2007 Риба заморожена. Технічні умови [9] встановлено параметри і терміни зберігання замороженої риби, мікробіологічні нормативи безпечності риби, перевищення яких вказує на необхідність удосконалення гігієни виробничого процесу та його контролю. Згідно з цим стандартом допускається у реалізацію заморожена риба з вмістом мезофільних аеробних факультативно-анаеробних мікроорга-

нізмів (МАФАНМ)  $5 \times 10^4$  КУО/г. Враховуючи вимоги вказаного стандарту, у наукових публікаціях дослідники [10, 11], в основному, звертають увагу на контамінацію замороженої риби мезофільними аеробними і факультативно-анаеробними мікроорганізмами (МАФАНМ) та бактеріями групи кишкових паличок (БГКП), які вважають показниками дотримання санітарно-гігієнічних вимог під час вилову і технологічного процесу заморожування, транспортування та реалізації [12–14]. У дослідженнях, які висвітлюють мікробіологічний процес у продуктах за різних температур холодильного зберігання показано, що фізико-хімічні та органолептичні зміни у них відбуваються за рахунок життєдіяльності психротрофної (холодолюбної) мікрофлори [15–19]. До психротрофних відносять мікроорганізми, які можуть розмножуватися за температури  $+7$  °C і нижче, незалежно від їх оптимальних температур росту [20]. Ці мікроорганізми широко розповсюджені в природі на рослинах, у ґрунті, воді [17, 18], тому вважається, що мікрофлора замороженої риби відповідає складу мікрофлори води, з якої вона виловлена, і особливо забруднена риба психротрофами за недотримання санітарії під час технології переробки, заморожування, зберігання та транспортування її до споживача [4, 7]. Згідно з дослідженнями [14], виявлення в замороженій рибі кількості психротрофних мікроорганізмів більше  $10^6$  КУО/г свідчить про недостатнє охолодження риби, тривале її зберігання в охолодженому стані до заморожування. При контамінації риби психротрофними мікроорганізмами в межах від  $10^7$  до  $10^8$  КУО/г виявляють органолептичні зміни, які роблять її непридатною до реалізації і споживання. Повідомляються різні дані про обсіменіння замороженої риби психротрофними і мезофільними мікроорганізмами. Згідно з даними [17, 21], у замороженій рибі виділяли психротрофні мікроорганізми від  $8,2 \times 10^3$  до  $5,7 \times 10^6$  КУО/г. Згідно з дослідженнями вчених [22], мезофільні і психротрофні мікроорганізми збільшувалися експоненціально під час зберігання в охолодженій рибі з  $10^3$ – $10^5$  КУО/г на перший день до  $10^8$  КУО/г – на 15 день. За таких показників рибу вважали непридатною до вживання.

Однак, сучасних наукових досліджень, які б висвітлювали питання обсіменіння психротрофними мікроорганізмами замороженої риби в Україні у доступній науковій літературі недостатньо. Тому, актуальним є проведення комплексних експериментальних досліджень, які визначають кількісний вміст мезофільної і психротрофної мікрофлори замороженої риби. Отже, дослідження з визначення найбільш активної групи мікрофлори замороженої риби, яка бере участь у зниженні її технологічної якості та безпечності, дадуть можливість у перспективі розробити та запропонувати превентивні заходи з попередження обсіменіння.

**Метою дослідження** було визначити обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою.

**Матеріал і методи дослідження.** Робота виконана в Державному науково-дослідному інституті з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДЛДВСЕ) і Тернопільській дослідній станції Інституту ветеринарної медицини НААН.

Проби замороженої риби відбирали у супермаркетах міста Києва і Тернополя та доставляли у лабораторію для дослідження у сумці-холодильнику за температури  $+4 \pm 1$  °C протягом 1 год від моменту відбирання. Підготовлення проб замороженої риби до мікробіологічних досліджень проводили згідно з ДСТУ ISO 6887-3:2014 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Готування дослідних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного дослідження. Частина 3. Спеціальні правила готування риби та рибних продуктів [23]. У пробах визначали мікробне число за температури  $30 \pm 1$  °C – інкубація посівів упродовж 72 годин та за температури  $6,5 \pm 0,5$  °C – інкубація упродовж 10 діб (психротрофна мікрофлора) [16]. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за загальновизнаними методами варіаційної статистики з використанням програми Statistic 6. Застосовували непараметричні методи досліджень (критерій Уїлкоксона, Манна–Уїтні). Визначали середнє арифметичне –  $M$ , стандартну похибку середньої величини –  $M \pm m$ . Різницю між порівнюваними величинами вважали достовірною за  $p \leq 0,05$ .

**Результати дослідження.** Результати досліджень з визначення кількісного вмісту мікрофлори замороженої риби, інкубованої за різних температур наведено в таблиці 1.

Із даних таблиці 1 видно, що за порівняння температури інкубації посівів, стандартна температура  $30$  °C, яка наведена в ДСТУ 4868 : 2007, не визначає найбільшу кількість мікрофлори замороженої риби. Серед досліджених проб, які за температури  $30 \pm 1$  °C інкубації посівів були з

умістом бактерій менше  $10^1$  КУО/г, виявлено 25 % проб із кількістю психротрофних мікроорганізмів більше  $10^5$  КУО/г. Тобто, дані проби за вмістом мезофільної мікрофлори, згідно з ДСТУ 4868:2007 відповідають нормативним вимогам  $5 \times 10^4$  КУО/г, а за вмістом психротрофних мікроорганізмів цей показник перевищують.

Таблиця 1 – Кількісний вміст мікрофлори замороженої риби за різних температур інкубації посівів, КУО/г,  $M \pm m$ ,  $n=22$

Назва риби	Мікробне число за температури	
	30±1 °C – 72 год	6,5±0,5 °C – 10 діб
<i>Холодний період року</i>		
Камбала	$<1,0 \times 10^1$	$2,1 \pm 0,1 \times 10^{2*}$
Горбуша	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
Лакерда	$4,3 \pm 0,2 \times 10^2$	$7,8 \pm 0,2 \times 10^{2*}$
Скумбрія	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
Мойва	$<1,0 \times 10^1$	$5,3 \pm 0,2 \times 10^{3*}$
Салака	$<1,0 \times 10^1$	$6,8 \pm 0,3 \times 10^{5*}$
Макрель	$3,6 \pm 0,1 \times 10^4$	$7,4 \pm 0,2 \times 10^{4*}$
Дорадо	$<1,0 \times 10^1$	$1,5 \pm 0,1 \times 10^{4*}$
Оселедець	$1,0 \pm 0,1 \times 10^3$	$2,7 \pm 0,1 \times 10^{3*}$
Сайра	$<1,0 \times 10^1$	$5,7 \pm 0,2 \times 10^{5*}$
Аргентинка	$2,1 \pm 0,1 \times 10^5$	$3,9 \pm 0,1 \times 10^{5*}$
<i>Теплий період року</i>		
Камбала	$<1,0 \times 10^1$	$2,0 \pm 0,1 \times 10^{4*}$
Горбуша	$4,5 \pm 0,2 \times 10^4$	$8,3 \pm 0,1 \times 10^{4*}$
Лакерда	$6,4 \pm 0,2 \times 10^3$	$2,1 \pm 0,1 \times 10^{4*}$
Скумбрія	$7,3 \pm 0,2 \times 10^3$	$5,0 \pm 0,2 \times 10^{4*}$
Мойва	$8,1 \pm 0,3 \times 10^2$	$3,9 \pm 0,1 \times 10^{3*}$
Салака	$9,3 \pm 0,3 \times 10^2$	$2,1 \pm 0,1 \times 10^{3*}$
Макрель	$4,9 \pm 0,2 \times 10^5$	$8,9 \pm 0,3 \times 10^{5*}$
Дорадо	$5,1 \pm 0,2 \times 10^5$	$2,4 \pm 0,1 \times 10^{6*}$
Оселедець	$5,7 \pm 0,2 \times 10^3$	$9,8 \pm 0,3 \times 10^{3*}$
Сайра	$7,7 \pm 0,2 \times 10^3$	$1,1 \pm 0,1 \times 10^{5*}$
Аргентинка	$8,3 \pm 0,3 \times 10^4$	$1,1 \pm 0,1 \times 10^{5*}$

**Примітка.** \* $p < 0,05$  – щодо мікробного числа за температури 30 °C.

Із проб замороженої риби з мікробним числом  $10^2$  КУО/г за температури 30±1 °C виділяли психротрофні мікроорганізми в 1,4–1,8 разів більше ( $p < 0,05$ ). Досліджувані проби, які за температури 30±1 °C мали вміст мікроорганізмів від  $10^3$  до  $10^4$  КУО/г, були контаміновані психротрофною мікрофлорою, яка в 1,7–6,8 рази ( $p < 0,05$ ) переважала кількість мезофільних. Крім того, за такої кількості мезофільних мікроорганізмів реєстрували проби, які мали вміст психротрофів більше  $10^5$  КУО/г риби. Проби замороженої риби, які за вмістом МАФАНМ відповідали визначеному нормативу  $5 \times 10^4$  КУО/г, в основному, за кількістю психротрофної мікрофлори не відповідали даному показнику, а перевищували його в 2 і більше рази.

Також, якщо порівняти обсіменіння мікрофлорою замороженої риби в холодний і теплий періоди року, можна відмітити наступне. У холодний період року 63,6±2,1 % проб замороженої риби були з вмістом МАФАНМ менше  $10^1$  КУО/г. Водночас, проб з таким вмістом МАФАНМ у теплий період року виявилось 9,0 %, або в 7,0 рази ( $p < 0,05$ ) менше. Крім того, у холодний період року встановлено лише 9,0 % проб, які за вмістом МАФАНМ перевищували максимально допустимий рівень. Водночас у теплий період кількість проб з понад нормативним вмістом МАФАНМ становила 27,3±0,3 %. Практично аналогічну закономірність відмічали і щодо обсіменіння психротрофною мікрофлорою у ці періоди року, яка характеризувалася тим, що у теплий період року заморожена риба містить більшу кількість психротрофів.

Загалом, психротрофна мікрофлора замороженої риби в процесі її зберігання кількісно переважає вміст мезофільної мікрофлори та більшою мірою буде характеризувати санітарні умови виробничого процесу.

Для повної характеристики кількісного вмісту психротрофної мікрофлори у замороженій рибі, порівняно з мезофільною, проведено розподіл проб між цими групами мікроорганізмів. Результати досліджень наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Порівняльний вміст МАФАНМ і психротрофних мікроорганізмів у замороженій рибі, %,  $M \pm m$ ,  $n=680$ 

Вміст МАФАНМ, КУО/г	Досліджено проб, n	Вміст психротрофних мікроорганізмів, КУО/г					
		$< 10^1$	$10^1-10^2$	$10^2-10^3$	$10^3-10^4$	$10^4-10^5$	$10^5-10^6$
$< 10^1$	300	$30,0 \pm 1,4$	$6,7 \pm 0,2$	$13,3 \pm 0,4$	$23,3 \pm 0,3$	$16,7 \pm 0,2$	$10,0 \pm 0,2$
$10^1-10^2$	60	–	$16,7 \pm 0,3$	$33,3 \pm 0,4$	$33,3 \pm 0,4$	$16,7 \pm 0,2$	–
$10^2-10^3$	50	–	–	$20,0 \pm 0,4$	$40,0 \pm 0,7$	$20,0 \pm 0,3$	$20,0 \pm 0,3$
$10^3-10^4$	160	–	–	–	$50,0 \pm 1,5$	$37,5 \pm 1,1$	$12,5 \pm 0,4$
$10^4-10^5$	60	–	–	–	–	$83,4 \pm 2,1$	$16,6 \pm 0,3$
$10^5-10^6$	50	–	–	–	–	–	100,0

Із даних таблиці 2 видно, що проби з умістом мезофільних мікроорганізмів менше  $10^1$  КУО/г виявилися найбільш нерівномірно контаміновані психротрофною мікрофлорою. Серед даних проб тільки  $30,1 \pm 1,4$  % були з кількістю психротрофної мікрофлори менше  $10^1$  КУО/г, водночас  $60,0 \pm 0,5$  % проб були контаміновані психротрофною мікрофлорою від  $10^1$  до  $10^5$  КУО/г і  $10,0 \pm 0,2$  % – більше  $10^5$  КУО/г.

Під час проведення досліджень проб замороженої риби з кількістю МАФАНМ від  $10^1$  до  $10^2$  КУО/г виявлено співпадіння за вмістом психротрофів у  $16,7 \pm 0,3$  % проб. У  $33,3 \pm 0,3$  % проб риби були з умістом психротрофної мікрофлори від  $10^2$  до  $10^3$  КУО/г та від  $10^3$  до  $10^4$  КУО/г. Натомість, у  $16,7 \pm 0,3$  % проб контамінація психротрофами була більше  $10^4$  КУО/г.

Характеристика проб замороженої риби з кількістю МАФАНМ від  $10^2$  до  $10^3$  КУО/г виявила, що за вмістом психротрофної мікрофлори  $20,0 \pm 0,4$  % проб були в межах величин мезофільних мікроорганізмів. Водночас  $40,0 \pm 0,7$  % проб були з кількістю психротрофних мікроорганізмів на два порядки більше МАФАНМ і по  $20,0 \pm 0,3$  % – на три і чотири порядки більше.

Оцінка замороженої риби з кількістю МАФАНМ від  $10^3$  до  $10^4$  КУО/г виявила наявність  $37,5 \pm 1,1$  % проб з кількістю психротрофної мікрофлори більше на один порядок, ніж вміст мезофільних мікроорганізмів і  $12,5 \pm 0,4$  % більше, як на два порядки. Аналогічну тенденцію відмічали і за дослідження вмісту МАФАНМ з кількістю від  $10^4$  і більше КУО/г порівняно з кількістю психротрофних мікроорганізмів.

Отже, результати досліджень вказують, що вміст психротрофної мікрофлори не відповідає кількості МАФАНМ у замороженій рибі. Психротрофні мікроорганізми кількісно переважають вміст МАФАНМ на декілька порядків і практично не залежать від кількості мезофільної мікрофлори.

На рисунку 1 наведено дані досліджень щодо перевищення максимально допустимого рівня МАФАНМ у замороженій рибі порівняно з кількістю психротрофних мікроорганізмів.

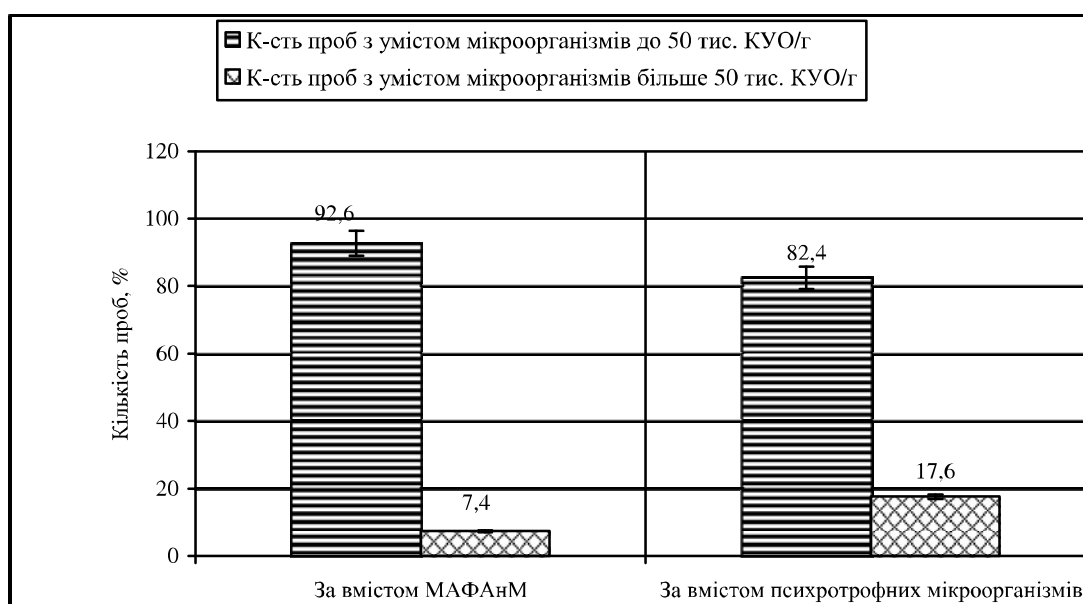


Рис. 1. Оцінка проб мороженої риби за вмістом МАФАНМ і психротрофних мікроорганізмів.

Із даних рисунка 1 видно, що із досліджених проб  $92,6 \pm 2,5$  % за вмістом МАФАНМ відповідали вимогам ДСТУ до  $5 \times 10^4$  КУО/г, водночас  $7,4 \pm 0,2$  % проб перевищували максимально допустимий рівень. При оцінці замороженої риби за вмістом психротрофної мікрофлори виявлено, що проб, які перевищували показник  $5 \times 10^4$  КУО/г було в 2,6 рази ( $p < 0,05$ ) більше, ніж проб за вмістом МАФАНМ.

Отже, отримані дані вказують на те, що заморожена риба в процесі її вилову, зберігання і реалізації більшою мірою контамінована психротрофною мікрофлорою, ніж мезофільною, і для характеристики гігієнічних умов виробничого процесу має краще санітарно-показове значення.

**Висновки.** 1. Встановлено, що психротрофна мікрофлора замороженої риби кількісно переважає вміст МАФАНМ на декілька порядків. У теплий період року виявлено в 3,0 рази ( $p < 0,05$ ) більше проб замороженої риби, які за вмістом МАФАНМ перевищували максимально допустимий рівень порівняно з холодним періодом року.

2. Виявлено, що  $92,6 \pm 2,5$  % проб замороженої риби за вмістом МАФАНМ відповідали вимогам ДСТУ 4868:2007 Риба заморожена. Водночас при оцінці такої риби за вмістом психротрофної мікрофлори встановлено, що проб, які перевищували показник  $5 \times 10^4$  КУО/г було в 2,6 разів ( $p < 0,05$ ) більше, ніж проб за вмістом МАФАНМ.

У подальшому буде вивчено родовий і видовий склад психротрофної мікрофлори замороженої риби і розроблено критерії оцінювання риби за вмістом психротрофних мікроорганізмів з метою внесення корективів щодо нормативів за мікробіологічними критеріями.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Mohammed Saud Al-J., Mohammed Fahad Al-J. Study the Chemical, Physical Changes and Microbial Growth as Quality Measurement of Fish. Annual Research & Review in Biology. 2014. № 4. (9). P. 1406–1420.
2. Berkel B. M., Boogaard B.V., Heijnen C. Preservation of fish and meat. Agromisa Foundation, Wageningen. The Netherlands. 2004. № 8. P. 78–80.
3. Usydyus Z., Szlinder-Richert J., Polak-Juszczak L. Food of marine origin: between benefits and potential risks. Food Chemistry. 2008. Vol. 111. P. 556–563.
4. Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sanchez M.E., Robles-Burgueno M.R. Postmortem biochemical characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. Journal of Food Science. 2000. № 65. P. 40–47.
5. Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species / M.S. Rey et al. LWT – Food Science and Technology. 2012. № 46. P. 217–223.
6. Akinbowale O. L., Peng H., Barton M. D. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. Journal of Applied Microbiology. № 100 (5). P. 1103–1113.
7. Mikš-Krajnik M., Yoon Y.J., Ukuku D.O., Yuk H.G. Volatile chemical spoilage indexes of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) stored under aerobic condition in relation to microbiological and sensory shelf lives. Food Microbiology. 2016. № 53. P. 182–191. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.001>. PMID:26678146.
8. Effect of modified atmosphere packaging on microbial flora changes in fishery products. International / S. Velu et al. Food Research Journal. 2013. № 20. (1). P. 17–26.
9. ДСТУ 4868:2007. Риба заморожена. Технічні умови / І. Апанович, Н. Косій, Р. Косінова, Л. Купріянова, Ю. Фокін. Увед. вперше; чинний від 2009-01-01. Київ : Держспоживстандарт України, 2008. 22 с. (Національний стандарт України).
10. Mulic R., Giljanovic S., Ropac D., Katalinic V. Some epidemiologic characteristics of foodborne intoxications in Croatia during the 1992–2001 period. Acta Medica Croatica. 2004. № 58. P. 421–427.
11. Liston J. Fish and shellfish and their products. In International Commission on Microbiological Specifications for Foods – ICMSF (Ed.). Microbial ecology of food. 1980. № 2. P. 567–605.
12. Zambuchini B., Fiorini D., Verdenelli M.C., Orpianesi C. Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. Food Science and Technology. 2008. Vol. 41. P. 1733–1738.
13. Jeon Y. J., Kamil J.Y., Shahidi F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. № 50, (18). P. 5167–5178.
14. Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media / K. Broekaert et al. Food Microbiology. 2011. № 28, (6). P. 1162–1169.
15. Mesophilic and Psychrotrophic Bacteria from Meat and Their Spoilage Potential In Vitro and in Beef / D. Ercolini et al. Applied and environmental microbiology. 2009. Vol. 75. P. 1990–2001.
16. Салата В.З., Кухтин М.Д. Мікрофлора охолодженої і примороженої яловичини за холодильного зберігання. Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. 2017. РВ ХДЗВА. Т. 2., В. 34. С. 332–336.
17. Hassan M.A., Shaltout F.A., Maarouf A.A., El-Shafey W. S. Psychrotrophic bacteria in frozen fish with special reference to pseudomonas species. Benha Veterinary Medical Journal. 2015. № 27, (1). P. 78–83.
18. Popelka P., Jevinova P., Marcinčák S. Microbiological and chemical quality of fresh and frozen whole trout and trout fillets. Potravinarstvo. Scientific Journal for Food Industry. 2016. № 10, (1). P. 431–436.
19. Comparison of chemical, microbiological and histological changes in fresh, frozen and double frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / P. Popelka et al. Acta Vet. Brno. 2014. № 83. P. 157–161.

20. Morita R. Y. Psychrotrophic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 1975. № 39. P. 189–190.
21. Rezaei M., Hosseini S. F. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food Sciences.* 2008. № 73, (6). P. 27–32.
22. Ninan G., Zynudheen A.A., Joseph J. Effect of Chilling on Microbiological, Biochemical and Sensory Attributes of Whole Aquacultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Journal of Aquaculture Research and Development.* 2011. №2. 5 p.
23. ДСТУ ISO 6887-3:2014 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Готування дослідних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного дослідження. Частина 3. Спеціальні правила готування риби та рибних продуктів. (ISO 6887-3:2003, IDT). [Чинний від 2015–05–01]. Київ: Держспоживстандарт України, 2014. 14 с. (Національний стандарт України).

## REFERENCES

1. Mohammed Saud, Al-J., & Fahad Mohammed, Al-J. (2011). Study the Chemical, Physical Changes and Microbial Growth as Quality Measurement of Fish. *Annual Research & Review in Biology.* Vol. 4, Issue 9, pp. 1406–1420.
2. Berkel, B.M., Boogaard, B.V., & Heijnen, C. (2004). Preservation of fish and meat. Agromisa Foundation, Wageningen, The Netherlands. Vol. 8, pp. 78–80.
3. Usydus, Z., Szlinder-Richert, J., Polak-Juszczak, L., Kanderska, J., Adamczyk, M., & Malesa-Cieciewicz, M. (2008). Food of marine origin: between benefits and potential risks. *Food Chemistry.* Vol. 111, pp. 556–563.
4. Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M.E., Robles-Burgueno, M.R. (2000). Postmortem biochemical characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. *Journal of Food Science.* Vol. 65, pp. 40–47.
5. Rey, M.S., García-Soto, B., Fuertes-Gamundi, J.R., Aubourg, S., Barros-Velázquez, J. (2012). Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *LWT, Food Science and Technology.* Vol. 46, pp. 217–223.
6. Akinbowale, O. L., Peng, H., Barton, M. D. (2006). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology.* Vol. 100, Issue 5, pp. 1103–1113.
7. Mikš-Krajnik, M., Yoon, Y. J., Ukuku, D. O., Yuk, H. G. (2016). Volatile chemical spoilage indexes of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) stored under aerobic condition in relation to microbiological and sensory shelf lives. *Food Microbiology.* Vol. 53, pp. 182–191. Available at: <http://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.001>. PMID:26678146.
8. Velu, S., Bakar, A. F., Mahyudin, N. A., Saari, N., Zaman, M. Z. (2013). Effect of modified atmosphere packaging on microbial flora changes in fishery products. *International Food Research Journal.* Vol. 20, Issue 1, pp. 17–26.
9. Riba samorozhena. Technitschni umowi [Frozen fish. Specifications]. (2007). HOST 4868:2007 from 01th January 2008. Kyiv National Standard of Ukraine.
10. Mulic, R., Giljanovic, S., Ropac, D., & Katalinic, V. (2004). Some epidemiologic characteristics of foodborne intoxications in Croatia during the 1992–2001 period. *Acta Medica Croatica.* Vol. 58, pp. 421–427.
11. Liston, J. Fish and shellfish and their products. In *International Commission on Microbiological Specifications for Foods – ICMSF (Ed.). (1980). Microbial ecology of food.* Vol. 2, pp. 567–605.
12. Zambuchini, B., Fiorini, D., Verdenelli, M.C., Orpianesi, C. (2008). Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. *Food Science and Technology.* Vol. 41, pp. 1733–1738.
13. Jeon, Y. J., Kamil, J. Y., Shahidi, F. (2002). Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol. 50, Issue 18, pp. 5167–5178. Available at: <http://dx.doi.org/10.1021/jf011693l>
14. Broekaert, K., Heyndrickx, M., Herman, L., Devlieghere, F., & Vlaemynck, G. (2011). Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. *Food Microbiology.* Vol. 28, Issue 6, pp. 1162–1169. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2011.03.009>
15. Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P., Villani F. (2009). Mesophilic and Psychrotrophic Bacteria from Meat and Their Spoilage Potential In Vitro and in Beef. *Applied and environmental microbiology.* Vol. 75, pp. 1990–2001.
16. Salata, W.S., Kuchtin, M.D. (2017). Mikrovflora ocholodzhenoj i primorozhenoj jalowitschini sa cholodil'nogo sberigannja [Microflora of cooled and frozen beef for cooling storage]. Kharkiv : Zbirnyk naukovykh prats Kharkivskoi derzhavnoi zooveterynarnoi akademii [Collection of scientific works of the Kharkov State Zoo Veterinary Academy. RV HDZVA]. Part 2, Issue 34, pp. 332–336.
17. Hassan, M. A., Shaltout, F. A., Maarouf, A. A., & El-Shafey, W. S. (2015). Psychrotrophic bacteria in frozen fish with special reference to pseudomonas species. *Benha Veterinary Medical Journal.* Vol. 27, Issue 1, pp. 78–83.
18. Popelka, P., Jevinova, P., Marcinčák, S. (2016). Microbiological and chemical quality of fresh and frozen whole trout and trout filets. *Potravinarstvo. Scientific Journal for Food Industry.* Vol. 10, Issue 1, pp. 431–436. doi:10.5219/599.
19. Popelka, P., Nagy, J., Pipová, M., Marcinčák, S., Lenhardt, L. (2014). Comparison of chemical, microbiological and histological changes in fresh, frozen and double frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. Brno.* Vol. 83, pp. 157–161. Available at: <https://doi.org/10.2754/avb201483020157>
20. Morita, R. Y. (1975). Psychrotrophic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, Vol. 39, pp. 189–190.
21. Rezaei, M., Hosseini, S. F. (2008). Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food Sciences.* Vol. 73, Issue 6, pp. 27–32.
22. Ninan, G., Zynudheen, A.A., Joseph, J. (2011). Effect of Chilling on Microbiological, Biochemical and Sensory Attributes of Whole Aquacultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Journal of Aquaculture Research and Development.* Vol. 5, Issue 2, 5 p. Available at: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.S5-001>
23. Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Готування дослідних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного дослідження. Частина 3. Спеціальні правила готування риби та рибних продуктів. (ISO 6887-3:2003, IDT). [Чинний від 2015–05–01]. Київ: Держспоживстандарт України, 2014. 14 с. (Національний стандарт України).

produktiv [Microbiology of food and animal feeding stuffs. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products]. (2014). HOST 6887-3:2014 from 01th May 2015. Kyiv National Standard of Ukraine.

#### **Анализ обсеменения мороженой рыбы мезофильной и психротрофной микрофлорой**

**Малимон З.В., Кухтын Н.Д., Гриневич Н.Е., Мех Н.Я.**

Физико-химические и органолептические изменения, которые возникают в рыбе при хранении в условиях холодильников, связанные с жизнедеятельностью психротрофной группы микрофлоры. Целью работы было провести сравнительный анализ обсеменности мороженой рыбы мезофильной и психротрофной микрофлорой для внесения коррективов в нормативы по микробиологическим критериям. В пробах мороженой рыбы определяли микробное число при температуре  $30 \pm 1$  °C и инкубации посевов в течение 72 часов (мезофильная микрофлора) и при температуре  $6,5 \pm 0,5$  °C – инкубация в течение 10 суток (психротрофная микрофлора). Установлено, что из проб мороженой рыбы с количеством мезофильных бактерий до  $10^2$  КОЕ/г выделяли в 1,4–1,8 раз ( $p < 0,05$ ) больше психротрофных микроорганизмов. Исследованные пробы с количеством мезофильных микроорганизмов от  $10^3$  до  $10^4$  КОЕ/г были контаминированные психротрофной микрофлорой, которая в 1,7–6,8 раз ( $p < 0,05$ ) превышала содержание мезофильной микрофлоры. При таком количестве мезофильных микроорганизмов обнаруживали в среднем до 25 % проб, которые имели содержание психротрофных микроорганизмов более  $10^3$  КОЕ/г рыбы. Пробы мороженой рыбы, которые по содержанию МАФАНМ укладывались в определенный норматив  $5 \times 10^4$  КОЕ/г, в основном по количеству психротрофной микрофлоры не соответствовали данному показателю, а превышали его в 2 и более раза.

Таким образом, установлено, что психротрофная микрофлора мороженой рыбы количественно преобладает содержание МАФАНМ на несколько порядков. В теплый период года выявлено в 3,0 раза ( $p < 0,05$ ) больше проб мороженой рыбы, которые по содержанию МАФАНМ превышали максимально допустимый уровень по сравнению с холодным периодом года. Выявлено, что  $92,6 \pm 2,5$  % проб мороженой рыбы по содержанию МАФАНМ отвечали требованиям ДСТУ 4868:2007 Рыба мороженая. В то же время при оценке такой рыбы по содержанию психротрофной микрофлоры установлено, что проб, превышающих показатель  $5 \times 10^4$  КОЕ/г, в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем проб с содержанием МАФАНМ.

**Ключевые слова:** мороженая рыба, психротрофная микрофлора, МАФАНМ, обсеменение, микробное число.

#### **Analysis of the insemination of the mesophilic and psychrotrophic microflora of frozen fish**

**Malimon Z., Kukhtyn N., Grynevych N., Mekh N.**

The article presents the results of research on the dehiscence of frozen fish with mesophilic and psychrotrophic microflora. Physico-chemical and organoleptic changes which appear in fish during refrigeration are connected with the life of the psychrotrophic group of microflora, which is more active than mesophilic. Fish are a nutrient medium for the development of microorganisms of all groups, due to its high nutritional and biological value, so the fish are perishable food products, the conditions and terms of their storage require appropriate temperature regimes to stop the development of microorganisms. The aim of the work was carrying out a comparative analysis of insemination of frozen fish with mesophilic and psychrotrophic microflora to make an amend to standards according to microbiological criteria.

The microbial number in frozen fish samples was estimated with the temperature of  $(30 \pm 1)$  °C incubation of crops for 72 hours (mesophilic microflora) and incubation for 10 days (psychrotrophic microflora) with the temperature  $(6.5 \pm 0.5)$  °C.

It was identified that there were taken the samples from frozen fish with a quantity of mesophilic bacteria to  $10^2$  CFU/g, 1.4-1.8 times ( $p < 0.05$ ) more psychrotrophic microorganisms. The researched samples with the number of mesophilic microorganisms from  $10^3$  to  $10^4$  CFU/g were contaminated with psychrotrophic microflora, which in 1.7-6.8 times ( $p < 0.05$ ) exceeded the content of the mesophilic microflora. With such amount of mesophilic microorganisms, on average of up to 25% of samples, this had a content of psychrotrophs of more than 105 CFU/g of fish. According to the content of mesophilic bacteria the samples of frozen fish, which were mated to a certain norm of  $5 \times 10^4$  CFU/g, basically in the number of psychrotrophic microflora did not correspond to this indicator, and exceeded it 2 times or more.

In the cold period of the year,  $63.6 \pm 2.1\%$  of frozen fish samples were mesophilic bacteria containing less than 101 CFU/g. At the same time, samples with such content mesophilic bacteria in the warm period of the year was 9.0%, or 7.0 times ( $p < 0.05$ ) less. In addition, in the cold period of the year, only 9.0% of samples were detected, which, according to the content of mesophilic bacteria exceeded the maximum allowable level. At the same time, during the warm period, the number of samples with an excess of mesophilic bacteria content was  $27.3 \pm 0.3\%$ . Practically the same pattern was observed regarding the insemination of the psychrotrophic microflora in these periods of the year, which was characterized by the fact that in the warm period of the year, frozen fish contains a large number of psychrotrophic microorganisms. Consequently, the results of studies on the amount of microflora in the warm period of the year established 3.0 times ( $p < 0,05$ ) more samples of frozen fish, which, according to the content of mesophilic bacteria, exceeded the maximum permissible level compared with the cold period of the year.

It was established that samples of frozen fish containing mesophilic microorganisms less than 101 CFU/g were most unevenly contaminated with psychrotrophic microflora. Among these samples, only  $30.1 \pm 1.4\%$  were with the number of psychrotrophic microflora less than 101 CFU/g, at the same time,  $60.0 \pm 0.5\%$  of the samples were contaminated with a psychrotrophic microflora of 101 to 105 CFU/g and 10,  $0 \pm 0.2\%$  over 105 CFU/g. In the study of frozen fish samples with the number of mesophilic bacteria from 101 to 102 CFU/g revealed a coincidence in the content of psychrotrophs in only  $16,7 \pm 0,3\%$  of samples, and  $33,3 \pm 0,3\%$  of fish samples were with the content of psychrotrophic microflora from 102 to 103 CFU/g and 103 to 104 CFU/g and  $16,7 \pm 0,3\%$  were contaminated with psychrotrophy more than 104 CFU/g. It was established that samples of frozen fish containing mesophilic microorganisms less than 101 CFU/g were most unevenly contaminated with psychrotrophic microflora. Among these samples, only  $30.1 \pm 1.4\%$  were with the number of psychrotrophic

microflora less than 101 CFU/g, at the same time,  $60.0 \pm 0.5\%$  of the samples were contaminated with a psychrotrophic microflora of 101 to 105 CFU/g and  $10.0 \pm 0.2\%$  over 105 CFU/g. In the study of frozen fish samples with the number of mesophilic bacteria from 101 to 102 CFU/g revealed a coincidence in the content of psychrotrophs in only  $16.7 \pm 0.3\%$  of samples, and  $33.3 \pm 0.3\%$  of fish samples were with the content of psychrotrophic microflora from 102 to 103 CFU/g and 103 to 104 CFU/g and  $16.7 \pm 0.3\%$  were contaminated with psychrotrophy more than 104 CFU/g.

It was found that that the psychrotrophic microflora of frozen fish is quantitatively predominantly content of mesophilic bacteria several orders of magnitude. During the warm period of the year, more samples of frozen fish were detected in 3,0 times ( $p < 0.05$ ), which, according to the content of mesophilic bacteria, exceeded the maximum permissible level in comparison in the cold period of the year. It was found that  $92.6 \pm 2.5\%$  of frozen fish samples were in compliance with the requirements of DSTU 4868: 2007. The fish is frozen. At the same time, during the fish evaluation, the contents of the psychrotrophic microflora showed that samples exceeding  $5 \times 10^4$  CFU/g was in 2.6 times ( $p < 0.05$ ) more than the mesophilic bacteria content.

In future the generic and species composition of the psychrotrophic microflora of frozen fish will be studied and the fish evaluating criteria according to the psychrotrophs in order to make corrections according to the microbiological criteria.

**Key words:** frozen fish, psychrotrophic microflora, mesophilic bacteria, contamination, microbial number.

*Надійшла 08.04.2019 р.*