

Міністерство освіти і науки України
Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя

КУХТИН МИКОЛА ДМИТРОВИЧ
МАЛІМОН ЗОЯ ВАСИЛІВНА

**МІКРОФЛОРА ЗАМОРОЖЕНОЇ РИБИ
ІМПОРТОВАНОЇ В УКРАЇНУ**

Монографія

Тернопіль

2024

УДК 579.67

М 59

Автори:

Кухтин Микола Дмитрович, докт. ветеринарних наук, професор
Малімон Зоя Василівна, канд. ветеринарних наук

Рецензенти:

Л.В. Баль-Прилипко, д.т.н., професор
Т.М. Димань, док.с.-г.н., професор
М.В. Кривцова, док.біол.н., професор

Схвалено та рекомендовано до друку на засіданні вченої ради
 Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя.
 Протокол №3 від 19 березня 2024 р.

М 59 Кухтин М.Д., Малімон З.В. Мікрофлора замороженої риби імпортованої в Україну / Кухтин М.Д., Малімон З.В. – Тернопіль: Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, 2024. – 137 с.

ISBN

УДК 579.67

Наукова монографія спрямована на обґрунтування мікробіологічних критеріїв замороженої риби імпортованої в Україну та її контролю за залишковими кількостями антибактеріальних речовин. Особливу увагу акцентовано на мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу з урахуванням визначення кількості психротрофних мікроорганізмів у замороженій рибі.

Акцентовано увагу, що психротрофна мікрофлора замороженої риби в 1,3–2,0 рази переважає кількість мезофільної мікрофлори та більшою мірою характеризує гігієнічні вимоги виробничого процесу. Виявлено, що $92,6 \pm 2,5$ % проб замороженої риби за кількістю мезофільних мікроорганізмів відповідали вимогам чинного стандарту. Розроблено мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу виготовлення замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори, які свідчать про дотримання гігієнічних вимог: $n=5$; $c=3$; $m=10000$ КУО/г; $M=50000$ КУО/г.

Встановлено, що найчастіше в імпортованій в Україну замороженій рибі виявляли антибактеріальні речовини із групи антибіотиків аміноглікозидів I–II покоління ($46,7 \pm 0,7$ %) та налідиксову кислоту ($19,0 \pm 0,2$ %) від загальної кількості встановлених позитивних випадків, що не перевищували максимально допустимий рівень. Крім того, доведено, що у замороженій рибі імпортного виробництва використовуються антибактеріальні речовини, дослідження яких не передбачено як планом державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів, так і Регламентом ЄС 37/2010.

Наукова монографія розрахована на викладачів, магістрів, аспірантів, які викладають та вивчають харчову мікробіологію, особливо м'яса і м'ясопродуктів, а також спеціалістів мікробіологічних лабораторій та держпродспоживслужби, які займаються інспектуванням харчової сировини і продуктів.

© Кухтин М.Д., Малімон З.В..... 2024

© Тернопільський національний технічний

ISBN

університет імені Івана Пулюя 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
ВСТУП	7
1.1. Порівняння законодавчої бази України з вимогами країн ЄС до безпеки та якості риби та морепродуктів.....	9
1.2. Санітарно-гігієнічна характеристика мікрофлори свіжої, охолодженої та замороженої риби.....	15
1.3. Кількісний вміст, родовий і видовий склад психротрофної мікрофлори риби.....	18
1.4. Мікробіологічні критерії визначення безпеки риби та гігієни виробничого процесу.....	20
1.5. Органолептичні та хімічні дослідження визначення якості риби.....	22
1.6. Способи зниження мікробного обсіменіння риби та морепродуктів.....	26
1.7. Висновок з огляду літератури і формування основних напрямків досліджень.....	28
ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	30
2.1. Матеріали досліджень.....	30
2.2. Етапи проведення досліджень.....	30
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	36
3.1. Аналіз невідповідностей мікробіологічним критеріям виявлених в імпортованій в Україну замороженій рибі і рибних продуктах	36
3.2. Обсіменіння мезофільною і психротрофною мікрофлорою замороженої риби імпортованої в Україну	43
3.3. Визначення контамінації мезофільними та психротрофними мікроорганізмами замороженої риби, залежно від хімічних показників її якості.....	49
3.4. Удосконалення способу гігієнічної оцінки безпеки замороженої	

риби за кількістю психротрофних мікроорганізмів.....	54
3.4.1. Динаміка зміни мікрофлори під час зберігання замороженої риби за різних температур.....	55
3.4.2. Визначення мікробіологічного критерію гігієни технологічного процесу замороженої риби на підставі оцінювання кількості психротрофної мікрофлори.....	60
3.5. Оцінка замороженої риби імпортованої в Україну на наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин.....	64
3.6. Вплив залишкових кількостей антибактеріальних речовин у замороженій рибі на її мікробіологічні та хімічні показники.....	69
3.7. Характеристика мікробіологічних показників замороженої риби за наявності залишків антибактеріальних речовин.....	75
3.8. Токсико-біологічна оцінка м'яса замороженої риби за наявності залишків антибактеріальних речовин.....	81
3.9. Мікробіологічні показники замороженої риби та чутливість психротрофної мікрофлори до антибіотиків за відсутності та наявності залишкових кількостей антибактеріальних речовин.....	85
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	99
ВИСНОВКИ.....	110
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	112
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	113

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БГКП	Бактерії групи кишкових паличок
БНіП	Будівельні норми і правила
ГДК	Гранично допустима концентрація
ДНДІЛДВСЕ	Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи
ДСТУ	Державний стандарт України
ЄС	Європейський Союз
КТК	Критична точка контролю
КУО	Колонієутворювальні одиниці
МАФАНМ	Мезофільні аеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми
МДР	Максимально допустимі рівні
МПА	М'ясо-пептонний агар
МПБ	М'ясо-пептонний бульйон
ОМР	Оцінка мікробіологічного ризику
ПОЛ	Перекисне окиснення ліпідів
ПсхМ	Психротрофні мікроорганізми
СанПіН	Санітарні правила та норми
СОУ	Стандарт організації України
США	Сполучені Штати Америки
НАССР	Hazard Analysis and Critical Control Points (Аналіз ризиків і критичні контрольні пункти)
GAP	Good Agricultural Practice (Належна сільськогосподарська практика)
GDP	Good Distributing Practices (Належна дистриб'юторська практика)

GMP	Good Manufacturing Practice (Належна виробнича практика)
GHP	Good Hygienic Practices (Належна гігієнічна практика)
GTP	Good Trading Practices (Належна торговельна практика)
GPP	Good Participatory Practice (Належна практика первинного виробництва)
GVP	Good Veterinary Practice (Належна ветеринарна практика)
SSOP	Sanitation Standard Operating Procedures (Стандарт забезпечення належного санітарно-гігієнічного стану приміщень, обладнання тощо)

ВСТУП

Риба і морепродукти відносяться до продуктів, які є джерелом легкозасвоюваного білку, містять жири, які є цінним джерелом енергії, макро- та мікроелементів тощо [113, 172]. Проте, завдяки високій харчовій та біологічній цінності риба є поживним середовищем для розвитку мікроорганізмів усіх видів [150, 191]. Тому рибу відносять до швидкопсувних харчових продуктів, умови та терміни її зберігання вимагають відповідних санітарно-гігієнічних і температурних режимів. Зазначають, що у харчових продуктах, які зберігаються за умов холодильника, домінує психротрофна мікрофлора [14, 19]. Саме з її розвитком пов'язують виникнення органолептичних і хімічних вад у продуктах.

На український ринок риба, рибні продукти імпортного виробництва надходять у замороженому стані та контролюються за мікробіологічними критеріями безпечності (наявність *Salmonella spp.*, *L. monocytogenes*) і критеріями гігієни технологічного процесу (вміст бактерій групи кишкових паличок, мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів, *S. aureus*). У дослідженнях [76, 83] повідомляється, що охолоджена і заморожена риба найчастіше контамінована психротрофними мікроорганізмами родів *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Moraxella spp.*, *Shewanella spp.* і *Aeromonas spp.*, які можуть спричинити псування риби в процесі її холодильного зберігання. Вживання такої риби в їжу може спричинити харчові токсикоінфекції. Нині у нашій країні відсутні науково-обґрунтовані дослідження щодо обсіменіння риби імпортного виробництва психротрофною мікрофлорою, тому під час контролю замороженої риби не надається належної уваги вивченню контамінації риби психротрофними мікроорганізмами.

Отже, проведення досліджень щодо обсіменіння психротрофними мікроорганізмами замороженої риби та порівняння їх кількості з контамінацією

мезофільними мікроорганізмами відіграли основоположну роль у розробленні мікробіологічних критеріїв оцінки замороженої риби.

Слід зазначити, що нині в галузі рибництва для профілактики та лікування хвороб тварин широко застосовують антибактеріальні препарати [144]. Безконтрольне використання антибактеріальних препаратів призводить до накопичення їх у рибі та морепродуктах [111, 104]. Крім того, використання значної кількості антибіотиків може призвести до появи антибіотикорезистентних бактерій у водному середовищі аквакультури, збільшенні стійких до антибіотиків збудників захворювань риб, а також передачі детермінант резистентності патогенам, що спричиняють хвороби людини [114, 142, 171].

Однак, згідно «Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження» визначення залишкових кількостей ветеринарних препаратів передбачено у рибі власного виробництва. Водночас, у замороженій рибі, яка імпортується в Україну, визначення залишкових кількостей антибактеріальних речовин не проводиться.

Отже, проведення досліджень замороженої риби, яка імпортується в Україну, за мікробіологічними показниками, зокрема вмістом психротрофної мікрофлори та її оцінка за залишковими кількостями антибактеріальних речовин, є актуальним.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Порівняння законодавчої бази України з вимогами країн ЄС до безпеки та якості риби та морепродуктів

Продовольча безпека – це основа благополуччя держави [31]. Ринок харчових продуктів в Україні представлений товарами як вітчизняного, так і іноземного виробництва [18, 63]. Невідповідність законодавства України в даній сфері законодавству Європейського Союзу призводить до проблем виробництва та обігу харчових продуктів між Україною і країнами Євросоюзу [1, 13, 31, 33, 92, 93].

Сучасне міжнародне та національне харчове законодавство спрямоване на запобігання виникненню захворювань у споживачів, які можуть спричинитися вживанням неякісних та небезпечних харчових продуктів, у тому числі рибопродуктів [31, 32, 73 74, 75, 76, 80, 81, 78, 79, 82]. Тому необхідність реформування української системи регулювання безпеки харчових продуктів з урахуванням кращих міжнародних практик є очевидною [7, 16, 28, 41, 66, 65, 85, 134].

У зв'язку із зростанням обсягів зовнішньоторговельних операцій в Україні актуальною є проблема виробництва високоякісних та безпечних харчових продуктів. Ряд вітчизняних авторів-науковців, зокрема, Л. Віткін [16], О. Скидан [94], Л. Зінченко та О. Юхновський [35], у своїх наукових працях описують основні положення законодавства щодо розміщення продуктів на європейському ринку, систему технічного регулювання та досвід країн-членів ЄС щодо контролю безпеки харчових продуктів.

Правові основи забезпечення якості харчових продуктів і здійснення їх контролю встановлює та здійснює низка законів, що набули чинності в Україні [29, 30, 31,].

В Україні чинними на сьогодні нормативно-правовими актами, що визначають вимоги до безпечності та якості харчових продуктів, а також гігієнічні нормативи і регламенти щодо вмісту в них хімічних, біологічних, фізичних факторів залишаються Наказ МОЗ від 19.07.2012 р. № 548 «Про затвердження мікробіологічних критеріїв для встановлення показників безпечності харчових продуктів» [57]; Наказ МОЗ України від 29.12.2012 р. № 1140 «Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Медичні вимоги до якості та безпечності харчових продуктів та продовольчої сировини» [56]; Наказ МОЗ України від 13.05.2013 р. № 368 «Про затвердження Державних гігієнічних правил і норм «Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах»; Наказ МОЗ України від 06.08.2013р № 696 «Про затвердження Гігієнічних вимог до продуктів дитячого харчування, параметрів безпечності та окремих показників їх якості» [58].

Законом України [30] Держпродспоживслужба запровадила виконання програм державного моніторингу щодо регламентації залишків ветеринарних препаратів та інших забруднюючих речовин у харчових продуктах [67]. Проте, цей план стосується аквакультури українського виробництва. Держпродспоживслужбою 20.09.2018 року видано наказ №786 «Про затвердження Плану державного моніторингу харчових продуктів тваринного походження при здійсненні прикордонного державного контролю вантажів, що ввозяться (пересилаються) на митну територію України у 2018 році» [59]. Даний план тільки впроваджується, за мікробіологічними критеріями передбачено дослідження риби та морепродуктів на наявність *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*. Однак, відповідно до європейського законодавства [76] окрім цих показників ще передбачено визначення *E. coli* в живих двостулкових молюсках та голкошкірих. Гігієнічним критерієм технологічного процесу при виробництві риби і продуктів, які пройшли теплову обробку є *E. coli* і коагулазопозитивні стафілококи.

Критерії мікробіологічної безпечності харчових продуктів в європейському законодавстві представлено у Регламентах [76, 80]. В Україні

мікробіологічні критерії для риби, морепродуктів та готових рибних виробів регламентуються нормативними документами [44, 57, 60, 83, 84]. Наказом [57] мікробіологічні критерії виробництва риби та морепродуктів в Україні гармонізовано до європейських вимог. У Регламентах [76, 80] та Наказі [57] представлено мікробіологічні показники безпеки харчових продуктів та мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу. Інші нормативно-правові акти [44, 60, 83, 84], які чинні в Україні також регламентують ряд мікробіологічних показників для риби і готових рибних виробів, але дещо в іншому ракурсі (немає поділу на критерії безпеки харчового продукту та критерії гігієни технологічного процесу). Також, дещо відрізняються максимально допустимі рівні вмісту МАФАНМ, БГКП. Так, у рибі океанічного промислу охолодженій, замороженій допускається вміст МАФАНМ не більше 1×10^5 КУО/г згідно [44], а згідно ДСТУ 4868:2007 [41] у рибі океанічного промислу замороженій дозволено вміст МАФАНМ не більше 1×10^4 КУО/г. Це вказує не те, що, мікробіологічні показники, що регламентуються в чинних в Україні нормативно-правових актах для риби і рибних продуктів, мають деякі суперечливі вимоги. Найбільш оптимальним на нашу думку є Наказ [57], гармонізований до європейських вимог щодо мікробіологічних критеріїв. Цей наказ містить мінімальні мікробіологічні критерії безпеки готових харчових продуктів та мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу. Отже такий європейський підхід позитивно впливає на впровадження коригуючих дій для уникнення імовірних мікробіологічних проблем, підтримки гігієни процесу та виключення випуску неякісних та небезпечних продуктів, у т.ч. рибних.

Регламент [76] визначає, що для дотримання мікробіологічних критеріїв оператори ринку харчових продуктів повинні розробити програми відбору проб та програми мікробіологічних досліджень відібраних проб [46, 61, 93, 116]. Розроблені програми повинні бути складовою частиною реалізації процедур, розроблених на основі належної гігієнічної практики та принципів системи НАССР [10, 4, 6, 92, 36, 64, 74, 96].

ДСТУ ISO 22000: 2007. Системи управління безпекою харчових продуктів. Це вимоги до будь-яких організацій харчового ланцюга [92], який чинний в Україні та зазначає, що небезпечний чинник у харчових продуктах може з'явитися на будь-якій ланці харчового ланцюга, тому відповідне управління всіма етапами харчового ланцюга є особливо важливим [92, 31, 74, 123]. Тому для підприємств харчової промисловості необхідно комплексно впроваджувати відповідність сучасним вимогам контролю на підставі управління якістю та безпекою, а саме звертати, особливо, увагу на належну виробничу практику – GMP (система оптимальної організації технологічного процесу і контролю якості продуктів відповідно специфікації (технічним умовам виробництва); належну сільськогосподарську практику – GAP; належну ветеринарну практику – GVP; належну гігієнічну практику – GHP; належну практику первинного виробництва – GPP; належну дистриб'юторську практику – GDP; належну торговельну практику – GTP; стандартні санітарні операційні процедури – SSOP (система забезпечення належного санітарно-гігієнічного стану приміщень, обладнання тощо) [30].

Система HACCP [10, 4, 6, 36, 64, 74, 96, 98] є частиною загальної системи управління підприємством, яка ґрунтується на чинних програмах обов'язкових попередніх заходів GHP – належної гігієнічної практики, GMP – належної виробничої практики і стандартних санітарних робочих процедурах SSOP, які забезпечують дотримання санітарних вимог до харчового підприємства відповідного профілю, устаткування, будівель та інших споруд. Метою GMP/GHP є мінімізація мікробіологічних, фізичних і хімічних ризиків під час виробництва харчових продуктів. Відповідно для впровадження правил GMP/GHP у різних країнах розробляють нормативні документи, які регламентують умови організації і ведення виробничого процесу на харчових підприємствах. В Україні нормативними документами є санітарні правила і норми, державні будівельні норми і правила, кодекси, технічні та технологічні регламенти, СанПіН та СНПП бувшого СРСР, які скасовані в Україні з 1 січня 2017 року, національні (ДСТУ) та галузеві (СОУ) стандарти України тощо.

Наказ № 548 «Про затвердження мікробіологічних критеріїв для встановлення показників безпеки харчових продуктів» [57] містить опис певних методів контролювання, що можуть бути використані як еталонні методи дослідження. Лабораторії, які здійснюють контролювання, повинні бути акредитовані згідно стандарту ДСТУ ISO/IEC 17025:2017 Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій.

Європейським законодавством впроваджено Регламент [75] «Про фармакологічно активні речовини та їх класифікація відносно максимальних допустимих кількостей в харчових продуктах тваринного походження». В Україні визначення фармакологічно активних речовин і їх класифікації щодо максимальних рівнів залишків у харчових продуктах тваринного походження передбачено Планом державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів [67], але це не стосується імпортованої риби та морепродуктів, оскільки це відповідальність країни-експортера.

Хімічні показники, а саме граничні показники загального вмісту летких сполук азоту для деяких категорій продуктів рибальства і методи аналізу, які застосовуються, передбачено Регламентом ЄС № 2074/2005 [80]. Необроблені продукти рибальства, що належать до видових категорій, перерахованих в частині II цього документу, повинні розглядатися, як непридатні для споживання людиною, якщо в результаті органолептичної оцінки виникли сумніви в її свіжості і хімічні перевірки виявляють, що перевищені наступні граничні показники загального вмісту летких сполук азоту: 25 мг азоту / 100 г м'яса для видів, зазначених у пункті 1 розділу II; 30 мг азоту / 100 г м'яса для видів, зазначених у пункті 2 розділу II; 35 мг азоту / 100 г м'яса для видів, зазначених у пункті 3 розділу II; 60 мг азоту / 100 г цільних рибних продуктів, які використовуються безпосередньо для приготування риб'ячого жиру для споживання людиною. Проте держави-члени ЄС можуть встановлювати граничні показники на більш високому рівні для деяких видів, поки не створено спеціальне законодавство в рамках Співтовариства.

Основні принципи безпечності харчових продуктів викладені в Регламенті [74] і трактуються, як Загальний продовольчий Закон. Підприємства, які виробляють харчові продукти, зобов'язані гарантувати простежуваність по всьому ланцюгу виробництва та обігу продуктів [4, 5, 28, 31, 32, 34, 33, 92, 93]. Особлива увага приділяється використанню пестицидів, харчових добавок, антибіотиків, гормонів та генетично модифікованих продуктів у виробництві харчових продуктів [75, 79]. З метою гармонізації законодавства України із законодавством ЄС у сфері безпечності і якості харчових продуктів, Закон [31] побудований на принципах і вимогах до безпечності харчових продуктів, які діють у ЄС і який має низку важливих особливостей.

Таким чином, враховуючи аналіз європейського та національного харчового законодавства щодо контролю безпечності харчових продуктів, впровадження та імплементація європейських стандартів з гігієни, сприятиме підвищенню рівня безпечності харчових продуктів. Одним із основних принципів безпечності харчових продуктів в ЄС є те, що відповідальність за дотримання законодавства у сфері харчової безпеки покладена на оператора ринку. Тому, й національні виробники будуть змушені впроваджувати науково-обґрунтовану систему самоконтролю [4, 6, 10, 31, 32, 64, 74, 96]. Світовий досвід свідчить, що доцільним й ефективним є контроль безпечності харчових продуктів не на кінцевому етапі їх виробництва або обігу (традиційна система інспектування) [29, 34], а у критичних точках – етапах технологічного процесу [93, 92, 64, 66, 94], які мають суттєве значення для запобігання, усунення або зменшення до прийняттого рівня ризику, що загрожує безпечності харчового продукту. Такий підхід покладено в концепцію системи НАССР, законодавчі основи якої регламентовані в стандарті Комісії Кодекс Аліментаріус [123].

Отже, аналізуючи нормативну базу з безпечності та якості харчових продуктів в Україні, необхідно виділити низку питань, які не регламентуються в національному законодавстві у сфері продовольчої безпеки. Особливо важливою проблемою, сьогодення, з безпечності та якості харчових продуктів в

Україні, у більшості випадків, є відсутність на виробництвах системи НАССР, яка забезпечує та контролює безпечність та якість харчових продуктів на всіх технологічних етапах під час виробництва продуктів харчування, проте на даний час процес технології виробництва продуктів харчування в Україні перебуває на неналежному рівні.

Крім того, в українських нормативно-правових документах не передбачено дослідження заморожена риби, яка імпортується в Україну на наявність залишкових кількостей антибактеріальних субстанцій.

1.2. Санітарно-гігієнічна характеристика мікрофлори свіжої, охолодженої та замороженої риби

Кожний фізіологічний вид мікроорганізмів розвивається в обмежених температурних інтервалах. Для одних ці температурні діапазони вузькі, для інших, навпаки, широкі. В цих межах для кожного виду є характерні мінімальні, оптимальні і максимальні температури розвитку. Мінімальна температура – це та, нижче якої мікроорганізми не розмножуються. Оптимальна температура відповідає найбільш інтенсивному розмноженню і розвитку мікроорганізмів. Максимальною вважається температура, вище якої розвиток мікроорганізмів припиняється. Щодо оптимальної температури розвитку мікроорганізми поділяються на три групи: психротрофи, мезофіли і термофіли [2, 14, 157].

Відомо, що мікрофлора свіжовиловленої риби та морепродуктів багато в чому залежить від району та способу лову. Тому, кількісний і якісний склад мікрофлори свіжої риби практично ідентичний мікрофлорі води, з якої вона була виловлена [15, 51, 138, 161, 207, 215]. Крім того, надмірна контамінація мікрофлорою охолодженої, примороженої чи замороженої риби пов'язана найчастіше, із порушенням гігієнічних умов виробництва, зберігання продуктів, недотриманням температурних режимів на всіх етапах виготовлення, переробки, транспортування та зберігання [11, 52, 57, 73, 78, 86,

115, 140, 181]. Мікробна забрудненість поверхні риби знаходиться в прямій залежності від кількості і якості мікрофлори водойми. У теплих морях значна частина її заселена мезофільними мікроорганізмами, водночас у помірних і холодних регіонах переважають психротрофні мікроорганізми [117, 118, 143, 180]. Крім того, дослідники виявляли залежність мікрофлори риби від солоності води. У сильно солених водоймах переважали галофільні мікроорганізми [145].

В Україні згідно з ДСТУ [83] у рибі регламентують такі мікробіологічні показники: кількість МАФАНМ – до 50 тис. КУО/г; БГКП – не дозволені в 0,001 г риби; золотистий стафілокок – не дозволений у 0,01 г; патогенні мікроорганізми, у т.ч. роду *Salmonella spp.* та *Listeria monocytogenes* – мають бути відсутні у 25,0 г, а *Vibrio parahaemolyticus* – у 1,0г.

Тому, в наукових публікаціях [168] вчені, в основному, звертають увагу на обсіменіння замороженої риби МАФАНМ та БГКП. У неохолодженій рибі та морепродуктах переважає мезофільна аеробна і факультативно анаеробна мікрофлора [137, 193, 183]. У той же час, за їхнього зберігання в умовах холодильних камер домінує холодолюбива – психротрофна мікрофлора, яка за даними багатьох вчених спричиняє органолептичні та хімічні зміни в рибі та впливає на санітарно-гігієнічні показники [193, 88]. Так, дослідники [122, 203] вказують, що при не дотриманні температурних режимів зберігання риба швидко псується внаслідок розвитку грамнегативних неферментуючих психротрофних мікроорганізмів, в основному, родів *Pseudomonas spp.* Проте, дослідження з визначення обсіменіння замороженої риби психротрофною мікрофлорою нормативно-правовими актами не передбачено.

Дані МАФАНМ вказують на розвиток, в основному, мезофільних сапрофітних мікроорганізмів, зокрема гнільних спорових і не спорових бактерій групи кишкової палички, кокової мікрофлори (стафілококів, мікрококів, сарцин) та деяких патогенних бактерій, наприклад, сальмонел тощо [23, 62, 68, 132]. Тому вважається, що чим більше мікробне обсіменіння

харчового продукту, тим більша ймовірність присутності в ньому патогенних мікроорганізмів [27, 39, 70, 87, 100, 102, 110, 126, 142, 151, 179].

Проте згідно з результатами досліджень [132, 88] дані кількісного вмісту МАФАНМ не мають значення для харчових продуктів, які зберігаються за низьких температур холодильника, тому, що значна частина мезофільної мікрофлори гине під час зберігання за температури від (- 5°C) і нижче [88, 103, 174, 219].

Тому, охолодження та замороження риби, морепродуктів як і всяка технологічна операція, повинна бути науково-обґрунтованою [2, 3, 9, 8, 70, 112, 113, 124, 131, 150, 49]. В основі такого обґрунтування лежить вчення про мікробіологічні процеси у рибі та морепродуктах на всіх етапах їх виготовлення, переробки, транспортування та зберігання. [26, 28, 31, 32, 52, 55, 70, 72, 89, 125, 142, 156, 192, 209, 214]. Мікробіологічний процес у рибі та морепродуктах тісно пов'язаний з однією із таких важливих, але недостатньо вивчених властивостей риби, як обсіменіння психротрофною мікрофлорою [15, 27, 101, 116, 133, 208, 174].

На сьогодні, коли гармонізують вимоги до безпечності та якості риби та рибних продуктів із вимогами Європейського Союзу [76, 80], значно підвищуються нормативи мікробіологічних критеріїв. Для досягнення таких високих санітарно-гігієнічних показників необхідно комплексно запроваджувати контроль, як за показниками безпечності, так і за показниками гігієни технологічного процесу з використанням широкого спектру індикаторних мікроорганізмів.

Отже, з літературних джерел доведено, що мікробіологічна оцінка замороженої риби за контамінації МАФАНМ не в повній мірі відображає обсіменіння риби мікрофлорою. Для її оцінки більш вірним є використання психротрофної мікрофлори. Власне, психротрофна мікрофлора викликає хімічні зміни в рибі та сприяє виникненню технологічних вад і має санітарно-гігієнічне значення. Таким чином, визначення МАФАНМ у замороженій рибі в процесі її зберігання не в повній мірі характеризує динаміку розвитку

мікрофлори та її безпечність. У зв'язку з цим, потрібно на науковій основі розробити санітарно-гігієнічні нормативи за кількістю психротрофної мікрофлори, які будуть характеризувати ефективність технологічних етапів виготовлення, переробки, транспортування та зберігання замороженої риби.

1.3. Кількісний вміст, родовий і видовий склад психротрофної мікрофлори риби

До психротрофних відносять мікроорганізми, які можуть розмножуватися за температури + 7°C і нижче незалежно від їх оптимальних температур росту [173]. Ці мікроорганізми широко розповсюджені в природі на рослинах, в ґрунті, воді [148, 195], тому вважається що мікрофлора замороженої риби відповідає складу мікрофлори води, з якої вона виловлена, і особливо риба, контамінована психротрофними мікроорганізмами за недотримання санітарії під час технології переробки, заморожування, зберігання та транспортування [191, 166]. Згідно досліджень науковців [116] виявлені 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 психротрофними мікроорганізмами риби в межах від 10^7 до 10^8 КУО/г виявляють органолептичні зміни в рибі, які роблять її непридатною до обігу і споживання. Повідомляються різні дані про обсіменіння замороженої риби психротрофними і мезофільними мікроорганізмами. Згідно даних дослідників [148, 201] у замороженій рибі виділяли психротрофні мікроорганізми від $8,2 \times 10^3$ до $5,7 \times 10^6$ КУО/г, у дослідження вчених [105] мезофільні і психротрофні мікроорганізми збільшувалися експоненціально при зберіганні в охолодженій рибі з 10^3 – 10^5 КУО/г на першій день до 10^8 КУО/г на 15 день і в цьому разі рибу вважали непридатною до вживання. За даними науковців [147] мікробіологічне дослідження показало, що середнє значення загальної кількості психротрофів, а саме *Pseudomonas spp.* в досліджених зразках замороженої риби: атлантичної

сайри складало $6,3 \times 10^3 - 5,7 \times 10^6$ КОУ/г; мокрелі $1,1 \times 10^4 - 2,4 \times 10^6$ КОУ/г; великої мокрелі $8,2 \times 10^3 - 6,9 \times 10^5$ КОУ/г. Частота виявлення бактерій роду *Pseudomonas* в досліджених зразка риби становила: атлантичної сайри – 76, 7 %, мокрелі – 66,7 %, великій мокрелі – 63,3 % в більшості досліджених зразках замороженої риби виявляли *Ps. fluorescents*, *Ps. putida* та *Ps. alicaligens*. Практично аналогічні результати досліджень були отримані іншими дослідниками [106, 121]. Тому науковці [15] вважають, що мікробне обсіменіння поверхні живої риби може становити від 1×10^2 до 1×10^7 КУО/см².

За даними [15, 148, 105, 141] мікрофлора поверхні свіжо виловленої морської риби була представлена в найбільшій кількості психротрофними бактеріями родини *Achromobacteriaceae* та родів *Alcaligenes* і *Achromobacter*. У дещо меншій кількості виділяли наступні роди: *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Corynebacterium* і *Bacillus*. Іноді на поверхні риби зустрічаються пігментоутворюючі бактерії видів *Sarcina*, *Klebsiela*, *Escherichia*, *Enterobacter* і *Citrobacter*.

Зазвичай при заморожуванні гине 60–90 % мікрофлори свіжої риби, проте такі роди бактерій, як *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* і *Enterococcus* є стійкішими до заморожування [184, 189, 205]. Повідомляється, що, бактерії роду *Pseudomonas* і *Achromobacter* інактивуються за -12°C протягом трьох місяців. Проте, заморожування добре витримують спори бактерій, дріжджі і цвілеві гриби [15].

Дослідники [159] виявляли у замороженої риби бактерії роду *Escherichiae*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, збудник ботулізму. Тому, щоб отримати заморожену рибу, безпечну з точки зору гігієни, для заморожування слід використовувати свіжу рибу, перероблену при суворому дотриманні гігієнічних вимог.

Вважається [159, 171, 197, 202], що мікроорганізмами псування охолодженої і примороженої риби є бактерії роду *Pseudomonas*, які є домінуючою мікрофлорою при зберіганні замороженої риби. З розвитком цієї мікрофлори пов'язують виникнення гнильних процесів, внаслідок утворення значної кількості летких з'єднань, зокрема триметиламіну – речовини, що

обумовлює появу специфічного, неприємного запаху, який характерний для риби, що псується [110, 112, 154, 148, 183, 196, 197]. Псевдомонади не тільки швидше розмножуються за інших бактерій, але і володіють вищою біохімічною активністю по відношенню до білкових речовин і жиру. До моменту псування охолодженої риби псевдомонади складають основну частку її мікрофлори до 80–90 %. Найбільш активними з них є *Pseudomonas putrificiens*, *P. fragi* і *P. fluorescens* – продуценти сірководню, аміаку і триметиламіна [139, 148]. Також у псуванні риби за холодильного зберігання беруть участь, хоча і в значно меншій мірі, бактерії родів *Alcaligenes*, *Flavobacterium* і *Micrococcus* [15, 148, 221].

Отже, аналізуючи оглянуті літературні джерела можна констатувати наступне. Дослідники виявляли у рибі холодильного зберігання переважно психротрофні види бактерій, і саме з ними пов'язують вади при її зберіганні. Для запобігання виникнення вад мікробіологічного характеру пропонується, щоб у рибі, яка призначена для холодильного зберігання мікробне обсіменіння психротрофною мікрофлорою було як найменше.

Таким чином, враховуючи вище наведене ми вважаємо, що дослідження з визначення найбільш активної мікрофлори замороженої риби, яка приймає участь у зниженні її безпечності та якості, дадуть можливість у перспективі розробити та запропонувати превентивні заходи з попередження її обсіменіння.

1.4. Мікробіологічні критерії безпечності для риби та гігієни виробничого процесу

Останні десятиліття у країнах Європейського союзу (ЄС) підвищилися вимоги до безпечності та якості риби та морепродуктів. Згідно прийнятих законів України [31, 32] виробник риби та морепродуктів несе повну відповідальність за його безпеку та якість. Для ефективного управління безпечністю харчових продуктів, у т. ч. імпортової продукції, необхідно регулярно збирати й аналізувати дані про будь які потенційні ризики, в т. ч.

щодо мікроорганізмів, які можуть спричинити харчові отруєння. [28, 36, 37, 38, 41, 42, 63]. Основні проблеми в рибній галузі, пов'язані з мікробними патогенними – збудниками харчових інфекцій та токсикозів, а також спричинені ними наслідками. Тому досить актуальним є дотримання нормативних вимог щодо мікробіологічного контролю [158].

Наукова оцінка мікробіологічного ризику (ОМР) стосовно нових та маловивчених мікроорганізмів – це ключ для вдосконалення контролю та запровадження адекватних гігієнічних заходів під час виробництва продовольчої сировини і харчових продуктів [6, 93, 92, 66]. На жаль, на сьогодні на національному рівні у практиці контролю такий новий міжнародний методологічний підхід, як ОМР, не широко розповсюджено [36].

Безпечності харчових продуктів можна досягти, дотримуючись певних критеріїв. Ці вимоги поширюються також і на імпортовані продукти. Розрізняють два типи мікробіологічних критеріїв: – критерії безпеки продуктів, що визначають прийнятність партії харчових продуктів, які продаються на ринку; та – критерії гігієни технологічного процесу, які свідчать про прийнятне функціонування виробничого процесу та встановлюють максимально допустиме значення мікроорганізмів, вище за яке потрібно впроваджувати на виробництві коригувальні дії для того, щоб підтримувати рівень гігієни [76].

При цьому вони повинні містити найменування мікроорганізмів та/або їх токсинів, що можуть спричинити шкоду організму людини, найменування методу, який слід застосовувати для визначення кількості вказаних мікроорганізмів та максимально допустимі рівні встановлені для конкретного продукту. Так, Регламентом ЄС № 2073/2005 «Мікробіологічні критерії для харчових продуктів» [76], який входить до п'яти основних документів міжнародного харчового законодавства, передбачено застосування методології відбору проб, основою якої є формування загальної проби із серії точкових проб «n», відібраних від однієї партії продукції. Інтерпретація відповідності партії мікробіологічним критерієм базується на результаті досліджень окремих точкових проб, які відібрані

випадковою вибіркою із партії харчового продукту та розглядають, як єдине ціле. Крім цього повинні бути встановлені значення «М», «m», «с». Значення «m» – мінімально-допустимий рівень, а значення «М» – максимально-допустимий рівень мікроорганізмів, які визначають у пробі. Показник «с» означає кількість допустимих точкових проб, в яких виявлено рівень контамінації даними мікроорганізмами між значенням «m» та «М». Висновки щодо відповідності мікробіологічним критеріям повинні формуватися за результатами отриманих по кожній із точкових проб, що формують загальну пробу. Перевищення значення «М», навіть в одній точковій пробі означає небезпечний рівень мікроорганізмів, а продукт в якому це виявлено, не може бути допущеним до обігу. Дослідження між m та «М» для кількості проб більшої за «с» свідчить про неприйнятність технологічного процесу, тобто дана ситуація вимагає впровадження коригуючи дій з метою зниження рівня контамінації продукції, що виробляється та запровадження на виробництві додаткових санітарних заходів.

Отже, сучасні міжнародні вимоги щодо оцінки безпеки та якості передбачають встановлення мікробіологічних критеріїв, що висуваються до конкретного продукту. При цьому ці критерії характеризують безпеку продукту або гігієну технологічного процесу виробництва. У зв'язку з тим, що у замороженій рибі переважає психротрофна мікрофлора, необхідно науково-обґрунтовано визначити мікробіологічні критерії оцінки гігієни технологічного процесу виробництва замороженої риби, саме за кількістю психротрофної мікрофлори.

1.5. Органолептичні та хімічні дослідження визначення якості риби

Органолептична оцінка – це найдавніший метод оцінки якості продуктів. Вона застосовувалася людиною з давніх часів, задовго до появи хімічних, фізичних, фізико-хімічних і мікробіологічних методів. Ця оцінка дозволяє

відрізнити високоякісний продукт від неякісного, фальсифікований від натурального, зіпсований – від свіжого. Вона широко використовується на етапі обговорення наукових експериментів і виробничих випробувань нових технологічних прийомів і режимів. Ця оцінка здійснюється, насамперед, за допомогою зору, слуху, нюху, дотику і смаку. Органолептична оцінка деяких показників якості харчових продуктів перевищує за швидкістю і чутливістю застосовувані дотепер апаратурні методи, основою яких є складна і трудомістка лабораторна методика [14, 22, 43, 69, 97, 153].

Оцінка якості продукції органолептичним методом виконується за визначеними якісними показниками (параметрами). Ці параметри повинні бути підібрані таким чином, щоб повно й об'єктивно охарактеризувати споживчі властивості оцінюваного продукту. В органолептичній оцінці якості харчового продукту беруть участь такі показники, як зовнішній вигляд, консистенція, запах і смак. Показник колір, будучи складовою частиною показника зовнішній вигляд, відокремлено як самостійний. Деякі види харчових продуктів оцінюються за такими специфічними показниками, як форма, вигляд у розрізі, структура (консистенція) тощо. Аналіз органолептичних показників проводиться для перевірки відповідності якості продукції та сировини вимогам, установленим нормативною документацією, рецептурами і технологічним режимом виробництва [40, 83, 84, 80]. Іноді дані органолептичного аналізу узагальнюють у вигляді позитивного або негативного висновку про якість продукту. Оцінка органолептичних показників передуює хімічному аналізу, що дозволяє більш повно оцінити якість продукції та підвищити оперативність контролю. Оцінку показників якості вимірювальними методами виконують з використанням технічних засобів. Застосування вимірювальних методів аналізу, застосування відповідних приладів і апаратури дозволяє виконати оперативний контроль показників на різних етапах технологічного процесу і спрямовано регулювати показники якості готових продуктів [97].

На рівень споживання риби і морепродуктів головним чином впливає хімічний склад, харчова цінність, спосіб виробництва і якість вихідної

сировини [12, 14, 18, 19, 20, 40, 43, 52, 53, 71, 90, 91, 95]. Однією з причин, що перешкоджає цьому і зменшує термін придатності рибної продукції, є окислення жирів [15, 33, 99, 100, 222]. Постійний контроль якості замороженої риби є невід'ємною частиною виробництва та обігу якісних продуктів [24, 25, 26, 29, 31, 32, 34].

Риба надзвичайно швидко псується, а термін зберігання таких продуктів обмежений за рахунок хімічного впливу атмосферного кисню та зростання аеробних мікроорганізмів псування [100, 102, 107, 108, 117, 130, 142, 151, 197, 212]. Загально визнано, що навколишнє середовище може впливати на мікрофлору шкіри, зябр та кишечника риби [21]. Взаємодія між ферментами та хімічними реакціями в м'язах риб прискорює погіршення її якості [119, 133, 135, 174, 155, 163, 167, 190, 199]. При збільшенні психротрофних бактерій в рибі, змінюється смак від фруктового, застійного, гіркого, прогорклого до гнилоного, а також з'являються інші фізичні дефекти [198]. *Pseudomonas spp.* визиває псування риби за рахунок виробництва кетонів, альдегідів, ефірів та метилсульфиду [186, 220, 222].

Розвиток мікроорганізмів супроводжується значними змінами хімічного складу м'яса риби. Розвиваються гнильні процеси, характер яких істотно не відрізняється від описаних для м'яса забійних тварин [87, 185, 187]. Зазнає зміни і жир. Крім ліполізу, деякі бактерії, володіючи ферментом ліпоксигеназою, викликають окислювальне псування жиру. Якість і свіжість риби швидко погіршується через мікробні і біохімічні механізми [102, 188, 194].

За даними вчених [99, 109, 112, 117, 126, 155, 179, 185, 194, 204] сенсорна оцінка свідчить про зниження якості риби під час тривалого періоду зберігання за такими показниками як зовнішній вигляд та консистенція. Одержані дані хімічних досліджень узгоджуються з сенсорною оцінкою. У рибі сумнівної свіжості зростала кількість аміно-аміачного нітрогену та величина рН, були сумнівними якісні реакції на сірководень та пероксидазу, що свідчить про накопичення в ній продуктів протеолітичного розпаду. Заморожена риба з

сумнівною органолептикою [99] мала підвищений вміст аміноаміачного нітрогену (вище 0,7 мг NaOH) та рН вище 6,9, що свідчить про накопичення продуктів протеолітичного розпаду. Для об'єктивної оцінки змін, які відбуваються в замороженій рибі, необхідним є моніторинг комплексу показників її якості та безпечності упродовж всього терміну холодильного зберігання.

За даними результатів досліджень [199] не встановлено значної різниці величини рН свіжої та замороженої риби, однак в заморожених зразках рН (6,75-6,99), порівняно зі свіжою рибою на 7-й день зберігання рН (6,64). У дослідженнях, проведених [177], величина рН збільшувалась на початку зберігання риби і становила 6,74, а на 15-й день охолодженого зберігання риби змінилась до 7,13, що вказує на зростання кількості бактерій та виробництво летких загальних сполук, таких як аміак, бактеріями псування. Є повідомлення про підвищення величини рН внаслідок накопичення лужних сполук через аутолітичну активність та мікробний обмін [199]. Багато мікроорганізмів, включаючи *Pseudomonas spp.*, виробляють аміак під час метаболізму амінокислот. Однак порівняння результатів досліджень для різних видів риби не показують кореляції між рН м'язів і кількістю летких сполук азоту, що містяться в рибі. Зміна величини рН під час зберігання риби залежить від утворення загальних летких сполук азоту [182].

Також вчені в своїх результатах досліджень зазначають, що значно високі концентрації загальних летких сполук азоту реєструються в замороженій рибі за тривалого її зберігання, порівняно зі свіжою рибою, але всі встановлені показники не перевищували 30 мг азоту на 100 г м'яса риби. Для деяких видів риби встановлено, що високий загальний вміст летких сполук азоту супроводжується псуванням свіжої риби. Так як, леткі сполуки азоту утворюються головним чином під час бактеріального розкладання м'яса риби, що характерно для замороженої риби тривалого зберігання [199].

1.6. Способи зниження мікробного обсіменіння риби та морепродуктів

Надто велика віддаленість районів промислу риби спричиняє проблему – це тривалі терміни доставки риби в порти. Тому, на риболовних суднах, з метою подовження терміну зберігання риби і захисту її від мікробного псування, рибу охолоджують, заморожують. Під час промивання риби проточною морською водою видаляється слиз, у якому наявні мікроорганізми і в наслідок цього кількість поверхневої мікрофлори зменшується на 80–90 % [15]. З видаленням кишкової кількості мікроорганізмів також суттєво зменшується [22]. Охолодження використовують для короткотривалого зберігання риби. При охолодженні клітинний сік у м'язах риби не замерзає. Проте, охолодження риби не може запобігти псуванню, але термін її зберігання може бути значно подовжений [251]. Максимальна температура охолодженої риби не повинна перевищувати 5°C. Рибу охолоджують різними способами: морською водою, льодом, льодяною сумішшю, льодосолевою сумішшю, холодним повітрям. Лід, який використовують для охолодження риби, за кількістю мікроорганізмів повинен відповідати вимогам, що висуваються до питної води. У процесі зберігання риби під льодом зменшується кількість психротрофних мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* [148].

Заморожена риба зберігається місяцями без ознак мікробного псування за температури -18-20°C і нижче. Заморожування риби має ту перевагу, що споживач отримує рибу, яка в більшому ступені зберігає аромат, запах, зовнішній вигляд і текстуру свіжої риби [210].

Інактивація мікроорганізмів в заморожених продуктах відбувається під впливом багатьох несприятливих для них чинників. Однак заморожування риби не є методом стерилізації. Передбачається, що процеси вилову, зберігання, транспортування заморожування та дифростації є факторами ризику

обсіменіння риби і в зв'язку з порушенням цих процесів понаднормовано контамінована риба є не придатною для споживання людиною [77].

Принцип дії низької температури на мікробну клітину полягає в тому, що її протоплазма ущільнюється, рідка фаза перетворюється в лід. При короткотривалій дії низьких температур цей процес зворотній, тобто після розморожування мікроорганізми зберігають свою життєдіяльність. При тривалому впливі низьких температур у протоплазмі клітин проходять незворотні зміни і бактерії інактивуються. Але деякі мікроорганізми, особливо цвіль, здатні розмножуватись, навіть, за дуже низьких температур [11, 27].

Патогенні для людини мікроорганізми не розмножуються за низьких температурах, але здатні зберігати життєздатність тривалий час: наприклад, паличка черевного тифу за температури -18°C зберігає життєздатність протягом 6 місяців, золотистий стафілокок і сальмонела – до 5 місяців. Тому, заморозувати потрібно доброякісні як в гігієнічному, так і в епідеміологічному відношенні продукти [3, 55].

Під час розморожування, особливо повільного, відбувається інактивація деяких мікробів, але ті, що збереглися починають швидко розмножуватися. У зв'язку з цим розморожувати продукт слід безпосередньо перед використанням [69, 97].

Додатковим способом, який подовжує термін зберігання риби є додавання до льоду антисептиків і антибіотиків. Наприклад, зберігання риби в біоміциновому льоду збільшує термін її придатності до споживання на декілька днів [97]. Проте значне і необмежене застосування антибактеріальних речовин, призводить до накопичення їх у водному середовищі, тканинах риби, і відповідно, в рибних продуктах. Крім того, нині в галузі рибництва для профілактики та лікування різних хвороб риб широко застосовують антибактеріальні препарати [144, 146, 204]. Безконтрольне використання антибактеріальних речовин, призводить до їх накопичення у рибі, морепродуктах та середовищі існування риби [123, 149, 159, 165, 170, 206]. Використання не контрольованої кількості антибіотиків може призвести до

появи антибіотикорезистентних бактерій у водному середовищі аквакультури, збільшенні резистентності до антибіотиків у збудників захворювань риб, а також передачі детермінант резистентності патогенам, що викликають хвороби людини [114, 142, 160].

Науковцями [120] повідомляється, що за останні десятиліття, гострого поширення набуло явище виникнення стійкості до антибіотиків мікрофлори риби і водного середовища в районах, призначених для розведення риби. На даний час розвиток антибіотикорезистентності у бактерій в аквакультурі стали предметом глобального занепокоєння [128, 129, 218]. Однак, у замороженій рибі, яка імпортується в Україну, визначення залишкових кількостей антибактеріальних речовин не проводиться. Тому, проблема залишкових кількостей антибактеріальних препаратів у сировині та харчових продуктах є актуальною в цілому світі.

Отже, для попередження надходження до споживачів риби із залишками антибактеріальних речовин необхідно запровадити моніторинг їх кількості у рибі на всьому ланцюгу від «виробництва до обігу».

1.7. Висновок з огляду літератури і формування основних напрямків досліджень

Підсумовуючи результати аналізу літературних джерел можна відмітити наступне. На даний час українські нормативно-правові акти, що регламентують безпеку і якість сировини і харчових продуктів, в тому числі і рибної, максимально наближені за вимогами до аналогічних Європейського Союзу. Однак, ще відмічається деякі суперечності у вітчизняних нормативних документах щодо безпеки рибних продуктів, зокрема за мікробіологічними показниками. Також літературних джерелах описано, що обсіменіння риби мікроорганізмами залежить від чинників, які пов'язані, в основному з дотриманням гігієнічних вимог під час технологічного процесу виробництва, зберігання, транспортування, обігу. Крім того, мікрофлора, яка приймає участь

у виникненні органолептичних і хімічних змін у рибі – це грамнегативні психротрофні бактерії . Проте, сучасних наукових досліджень, які б визначали обсіменіння психротрофними мікроорганізмами замороженої риби в Україні у доступній науковій літературі недостатньо. Тому, дослідження з визначення найбільш активної мікрофлори замороженої риби, яка приймає участь у зниженні її безпечності та якості, дадуть можливість у перспективі розробити та запропонувати превентивні заходи з попередження контамінації мікроорганізмами риби.

Також нами встановлено, що нормативно-правові акти України не регламентують дослідження замороженої риби імпортного виробництва на наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин. Враховуючи літературні дані, що антибактеріальні препарати широко використовують в аквакультурі, актуальним є проведення досліджень щодо виявлення залишкових кількостей антимікробних речовин в рибі, а також запропонування відповідним службам внесення можливих змін у законодавчі акти.

Отже, провівши аналіз огляду літератури, ми вважаємо, що визначена нами тема дисертаційної роботи є актуальною, містить низку невирішених перспективних завдань, розв'язанню яких сприятиме вдосконаленню системи контролю та виробництва безпечної та якісної риби та морепродуктів.

РОЗДІЛ 2

ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали досліджень

Під час виконання дисертаційної роботи проаналізовано результати досліджень за мікробіологічними показниками 6441 проби замороженої риби і рибних продуктів, які надійшли на дослідження до Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи протягом 2013–2017 років. Також 18261 проба риби та рибних продуктів, які досліджені регіональними державними лабораторіями Держпродспоживслужби за вказаний період.

Проведено дослідження 680 проб замороженої риби за кількістю мезофільної і психротрофної мікрофлори, 175 проб за органолептичними, мікробіологічними і хімічними показниками. Досліджено 100 проб замороженої риби на наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин, 63 проби на хімічні показники за наявності залишкових кількостей антибактеріальних речовин. Проведено токсико-біологічну оцінку 15 проб м'яса замороженої риби за наявності у ній залишків антибіотиків на культурі інфузорії *Tetrachymena pyriformis*. Виділено та ідентифіковано 75 культур психротрофних мікроорганізмів із замороженої риби за відсутності у ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин і 240 культур за наявності антибіотиків та проведено визначення їх чутливості до антибіотиків.

2.2. Етапи проведення досліджень

Схема проведених досліджень за темою дисертації наведена на рис. 1. Дослідження за темою дисертаційної роботи складалася з трьох основних етапів. Перший етап роботи охоплював аналіз невідповідностей

мікробіологічним критеріям у імпортованій в Україну замороженій рибі і рибних продуктах.

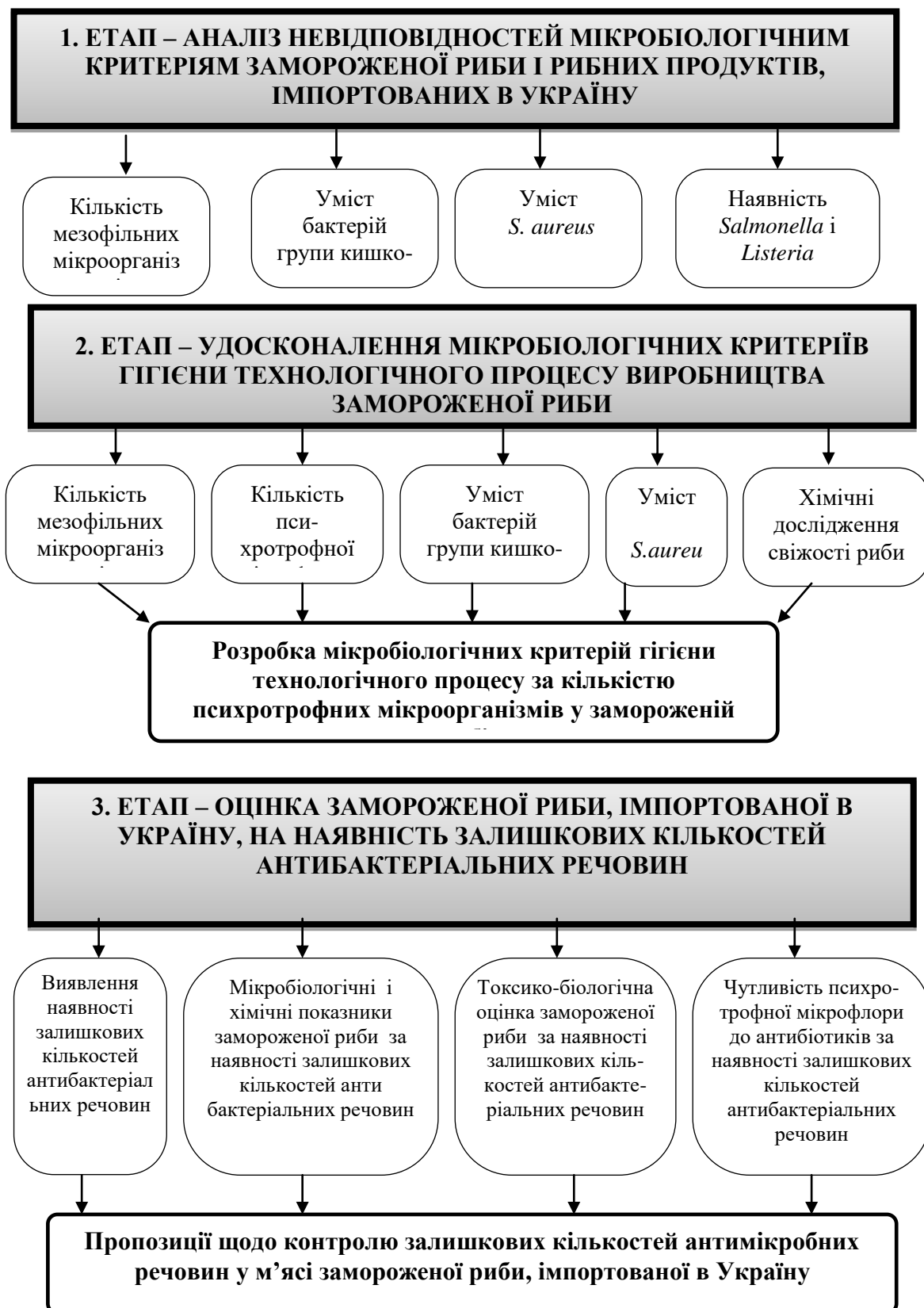


Рис. 2.1. Схема проведення досліджень

Для виконання даного етапу було проаналізовано дані ветеринарної звітності за мікробіологічними показниками замороженої риби та рибних продуктів, які імпортуються в Україну. Це дало змогу виявити найбільші небезпечні мікробіологічні агенти для здоров'я споживачів.

На другому етапі дослідження були спрямовані на удосконалення мікробіологічних критеріїв гігієни технологічного процесу виробництва замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори. Проведено порівняльні дослідження щодо обсіменіння мезофільною мікрофлорою і психротрофною мікрофлорою замороженої риби, імпортованої в Україну. Визначено контамінацію мезофільними та психротрофними мікроорганізмами замороженої риби, залежно від хімічних показників її якості. Проведено дослідження з визначення динаміки змін складу мікрофлори риби під час її зберігання у замороженому стані та зміни кількості мікроорганізмів за різних способів дефростації. Виконання програми експериментальних досліджень другого етапу дало можливість удосконалити мікробіологічні критерії оцінки замороженої риби, імпортованої в Україну, за кількістю психротрофних мікроорганізмів.

На третьому етапі дослідження були спрямовані на проведення оцінки замороженої риби, імпортованої в Україну, на наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин.

Визначено вплив залишкових кількостей антибактеріальних речовин у замороженій рибі на її мікробіологічні та хімічні показники. Проведено токсико-біологічну оцінку м'яса замороженої риби за наявності залишкових кількостей антибактеріальних речовин. Досліджено склад психротрофної мікрофлори замороженої риби за відсутності та наявності у ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин. Визначено чутливість психротрофної мікрофлори, виділеної із м'яса замороженої риби, до антибіотиків за відсутності та наявності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин. На підставі отриманих результатів досліджень запропоновано зміни до нормативно-правових актів, які регламентують безпечність замороженої

риби імпорного виробництва на наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин.

Таким чином, дисертаційна робота отримала логічне завершення щодо удосконалення оцінки замороженої риби, імпортованої в Україну, за кількістю психротрофної мікрофлори та за наявністю залишкових кількостей антибактеріальних речовин.

Органолептичні дослідження. Проби замороженої риби відбирали у супермаркетах м. Києва, Дніпра і Тернополя та доставляли у лабораторії цих міст для дослідження у сумці холодильника із холодоагентами за температури $+4\pm 1^\circ\text{C}$ протягом 1 години. Органолептичні дослідження замороженої риби проводили згідно з ДСТУ 4868:2007 [83].

Мікробіологічні дослідження. Підготовку проб замороженої риби до мікробіологічних досліджень проводили згідно з ДСТУ ISO 6887-3:2014 [46]. У пробах замороженої риби визначали кількість МАФАНМ за температури $30\pm 1^\circ\text{C}$, інкубація посівів становила 72 год згідно ДСТУ ISO 4833:2006 [48] та психротрофної мікрофлори за температури $6,5\pm 0,5^\circ\text{C}$ – інкубація протягом 10 діб. Бактерії групи кишкової палички (БГКП) у пробах риби визначали методом посіву проби у середовище Кеслер загально визнаним методом, *Staphylococcus aureus* згідно ДСТУ ISO 6888-1:2003 [49], а патогенні мікроорганізми роду *Salmonella* і *Listeria monocytogenes* – ДСТУ ISO 6579:2006 [50] і ДСТУ ISO 11290-1:2003 відповідно [51]. Мікроскопічні гриби та дріжджі визначали на середовищі Сабуро за температури $25\pm 1^\circ\text{C}$, інкубація посівів протягом 3–5 діб згідно ДСТУ ISO 7954:2006 [47].

Для біохімічної ідентифікації грамнегативних неферментуючих психротрофних мікроорганізмів використовували пластини «API-20 Gram-negative Bacilli» («BioMerieux S.A.», Франція). Ідентифікацію виділених мікроорганізмів проводили на підставі морфологічних, тинкторіальних, культуральних і біохімічних даних згідно з 9-им виданням визначника бактерій Берджі [217]. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів проводили на середовищі Мюллер-Хінтон (HiMedia, India) диско-

дифузійним способом за методом Bauer-Kirbi з використанням стандартних комерційних дисків з антибактеріальними препаратами: бензилпеніциліну (10 ОД), амоксициліну (20,0 мкг), доксициклін (10,0 мкг), тетрациклін (30,0 мкг), левофлоксацину (5,0 мкг), ципрофлоксацин (5 мкг), цефтріаксону (30,0 мкг), цефтазидим (30,0 мкг), гентаміцин (10,0 мкг), канаміцин (30 мкг), фурамагу (300 ОД). Приготування мікробних суспензій проводили відповідно до оптичного стандарту мутності 1,0 одиниць за шкалою McFarland з використанням приладу Densi-LaMeter (PLIVA-Lachema Diagnostika, Чехія).

Хімічні дослідження. Хімічні показники замороженої риби визначали загально визнаними стандартними методами. Загальний вміст летких сполук азоту визначали згідно Регламенту ЕС 2074/2005 [77].

Наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин проводили скринінговим методом: визначали 50 антибактеріальних речовин: сульфагуанідин, сульфацетамід, сульфапіридин, сульфадіазин, сульфаметоксазол, сульфатіазол, сульфамеразин, сульфаметізол, сульабензамід, сульфаметазин, сульфхіноксолін, сульфадоксин, сульфадиметоксин, пеніцилін G, цефалексин, ампіцилін, пеніцилін V, амоксицилін, триметопрім, нафцилін, оксацилін, йозаміцин, спіраміцин, налідиксова кислота, флумекін, оксалінова кислота, норфлоксацин, ципрофлоксацин, спектиноміцин, данофлоксацин, енрофлоксацин, марбофлоксацин, сарафлоксацин, дифлоксацин, лінкоміцин, гентаміцин, доксициклін, хлортетрациклін, тетрациклін, оситетрациклін, канаміцин, апраміцин, стрептоміцин, дигідрострептоміцин, паромоміцин, сульфамоксол, сульфафеназол, сульфаметоксипіридазин, сульфамонетоксин, тіамулін у продукції тваринного походження за допомогою рідинного хроматографа з подвійним мас-детектором (Новожицька Ю. М. 2014) [17] та мікробіологічним скринінг-методом (Новожицька Ю.М. 2016).

Підтвердження досліджень на кількісний вміст залишкових кількостей антибактеріальних речовин у м'ясі риби визначали методом рідинної

хроматографії на рідинному хроматомаспектометрі «Waters» TQD ACQITY (США) згідно методичних рекомендацій (Новожицька Ю. М. 2014) [17].

Токсикологічні дослідження. Токсико-біологічну оцінку м'яса замороженої риби проводили згідно з «Методичними рекомендаціями по токсико-біологічній оцінці м'яса, м'ясних продуктів і молока з використанням інфузорії *Tetrahyena pyriformis* (експрес метод)». У дослідженнях використовували лабораторний штам інфузорії *Tetrachytena pyriformis* W-14. Відносну біологічну цінність м'яса замороженої риби визначали за формулою:

$$ВБЦ = \frac{I_d}{I_k} \times 100, \text{ де} \quad (\text{формула 2.1})$$

ВБЦ – відносна біологічна цінність м'яса; *I_d* – кількість інфузорій в середовищі дослідної проби; *I_k* – кількість інфузорій в середовищі контрольної проби.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за загально визнаними методами варіаційної статистики з використанням програми Statistic 10. Використовували непараметричні методи досліджень (критерій Уїлкоксона, Манна – Уїтні). Визначали середнє арифметичне – *M*, стандартну похибку середньої величини – *M±m*. Різницю між порівнюваними величинами вважали вірогідною за *p*<0,05.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Аналіз невідповідностей мікробіологічним критеріям, виявлених в замороженій рибі і рибних продуктах, імпортованих в Україну

Безпечності харчових продуктів можна досягти, дотримуючись певних критеріїв. Ці вимоги поширюються також і на імпортовані продукти. Розрізняють два типи мікробіологічних критеріїв:

– критерії безпеки продуктів, що визначають прийнятність партії харчових продуктів, які продаються на ринку, до цих критеріїв відносять патогенні мікроорганізми, а саме *Listeria monocytogenes* та бактерії роду *Salmonella spp.*;

– критерії гігієни технологічного процесу, які свідчать про прийнятне функціонування виробничого процесу та встановлюють максимально допустиме значення мікроорганізмів, вище за яке потрібно впроваджувати на виробництві коригувальні дії для того, щоб підтримувати гігієнічні вимоги. Дані критерії представлені індикаторними мікроорганізмами, до яких відносяться мезофільні аеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми (МАФАНМ), а також представники родини *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus* тощо.

Питання контролю риби постійно стоїть перед фахівцями Держпродспоживслужби. Адже, незважаючи на всю корисність риби для людини, вона може бути джерелом багатьох захворювань, небезпечних для здоров'я людини.

Для ефективного виробництва безпечних харчових продуктів, у т. ч. імпортованих, необхідно регулярно збирати й аналізувати дані про будь-які потенційні ризики, в т. ч. щодо мікроорганізмів, які можуть спричинити харчові отруєння.

Нами проведено аналіз результатів досліджень замороженої риби та рибних продуктів, імпортованих в Україну за мікробіологічними показниками та визначення основних мікробіологічних небезпек.

До Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи протягом 2013–2017 років на дослідження надійшло 6441 проба риби і рибних продуктів.

На рис. 3.1 наведено результати дослідження ДНДІЛДВСЕ щодо невідповідностей мікробіологічним критеріям замороженої риби та рибних продуктів, які були імпортовані в Україну протягом 2013–2017 років.

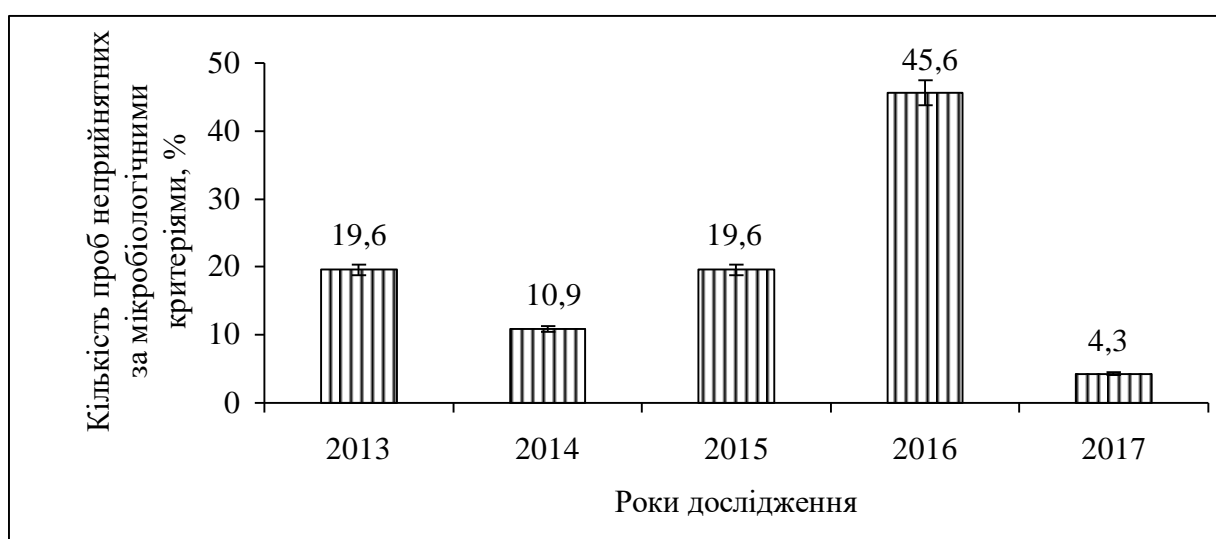


Рис. 3.1. Відсоток неприйнятності за мікробіологічними критеріями партій замороженої риби та рибних продуктів, імпортованих в Україну протягом 2013-2017 років, які виявлені ДНДІЛДВСЕ

Загалом було виявлено 34 партії риби і рибних продуктів, які було визнано такими, що не відповідають вимогам чинного законодавства за мікробіологічними критеріями, і становить 0,5 % від усіх досліджених проб протягом цих років. При цьому найбільше невідповідностей за мікробіологічними показниками було виявлено у 2016 році – 45,6 %, водночас у 2013 та 2015 роках партій риби за такими мікробіологічними показниками виявлено в 2,3 раза ($p < 0,05$) менше. Найменшу кількість партій риби, яка не відповідала за мікробіологічним критеріям було виявлено в 2017 р., що

становило 4,3 %. Це пов'язано із відсутністю затверджених програм моніторингу імпортованих продуктів.

Таким чином, результати досліджень вказують на те, що немає чіткої залежності по роках щодо виявлення невідповідностей за мікробіологічними критеріями риби і рибних продуктів, імпортованих в Україну.

На рис. 3.2 наведено країни і кількість партій риби і рибних продуктів, які визнано такими, що не відповідають вимогам чинного законодавства за мікробіологічними критеріями.

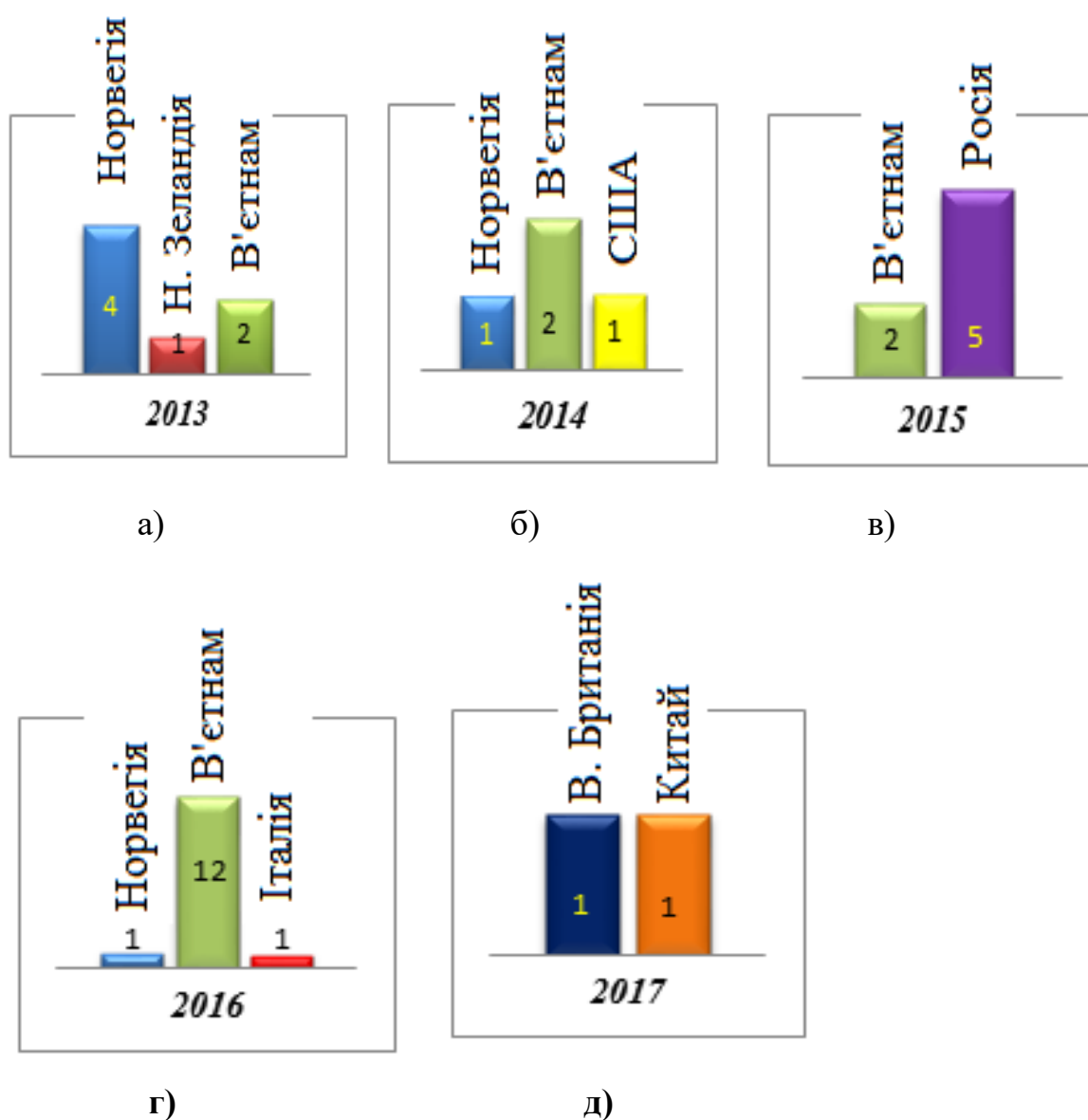


Рис. 3.2 (а, б, в, г, д). Кількість партій замороженої риби та рибних продуктів, імпортованих в Україну протягом 2013–2017 років, які досліджені в ДНДІЛДВСЕ та не відповідають мікробіологічним критеріям

З даних рис. 3.2 видно, що критеріям безпеки не відповідали імпортовані продукти, які надійшли з восьми країн: Норвегії, В'єтнаму, Російської Федерації, Китаю, Нової Зеландії, Італії, США, Великої Британії. При цьому, найчастіше не відповідала мікробіологічним критеріям риба, яка була імпортована з В'єтнаму, що становило 52,9 % від усіх невідповідних партій. Також за результатами досліджень виявлено, що не відповідала мікробіологічним вимогам риба і рибні продукти, які були імпортовані з високо розвинутих країн, таких як, США, Велика Британія, Норвегія та Італія.

Отже, отримані дані вказують на необхідність контролювання за мікробіологічними показниками риби і рибних продуктів незалежно від країни-імпортера.

На рис. 3.3 наведені дані щодо ідентифікації мікроорганізмів, які перевищували максимально допустимі рівні у замороженій рибі і рибних продуктах, які були імпортовані в Україну протягом 2013-2017 років та досліджені в ДНДІЛДВСЕ.

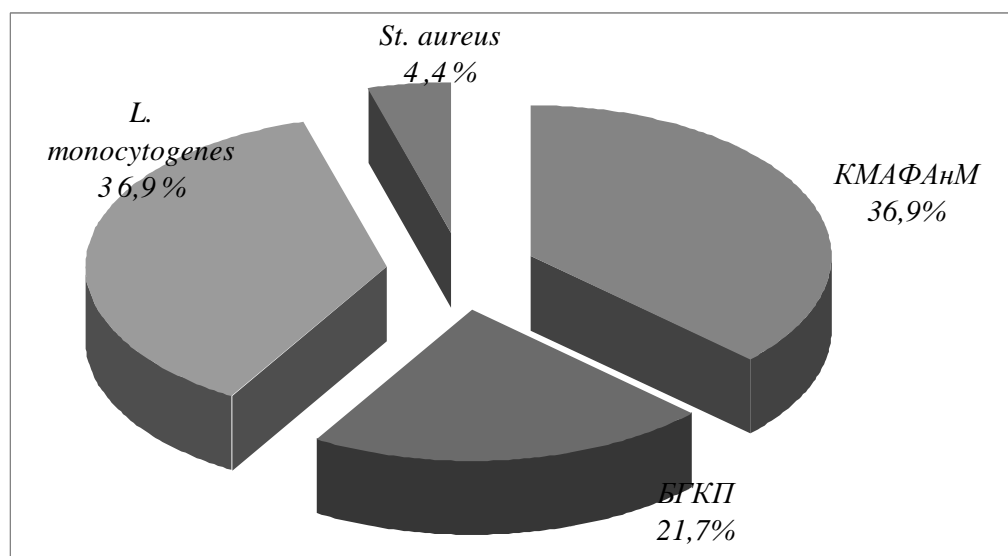


Рис. 3.3. Видовий спектр невідповідностей мікробіологічним критеріям замороженої риби та рибних продуктів, імпортованих в Україну за 2013–2017 роки, які виявлені ДНДІЛДВСЕ

З рис. 3.3 видно, що найчастіше в рибних продуктах виявляли такі патогени, як *L. monocytogenes* – у 17 випадках, що складає 36,9 % від загальної

кількості позитивних проб. Перевищення мікробіологічного критерію за наявністю золотистого стафілококу у рибі і рибних продуктах виявили у 8,4 раза ($p < 0,05$) менше, порівняно з вмістом *L. monocytogenes*. Це на нашу думку пов'язано з тим, що лістерії відносяться до холодолюбивої – психротрофної мікрофлори, яка може виживати за технології виробництва замороженої риби.

За критеріями гігієни технологічного процесу невідповідності були пов'язані із перевищенням рівня МАФАНМ – у 36,9 % випадків. Водночас за вмістом БГКП перевищення було в 1,7 раза ($p < 0,05$) менше, ніж за кількістю МАФАНМ. У загальному відсоток невідповідності за критеріями гігієни технологічного процесу становив, у середньому 63 % від загальної кількості виявлених позитивних проб.

Регіональними державними лабораторіями Держпродспоживслужби за вказаний період було проведено мікробіологічні дослідження 18261 проби риби та рибних продуктів. Результати досліджень наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Невідповідності мікробіологічним критеріям партій замороженої риби та рибних продуктів, імпортованих в Україну, протягом 2013–2017 років, виявлені регіональними державними лабораторіями Держпродспоживслужби, $n = 18261$

Роки	Мікробіологічні показники									
	МАФАНМ		БГКП		<i>Salmonella spp.</i>		<i>Staph. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
	досл. проб	перев. МДР	досл. проб	перев. МДР	досл. проб	перев. МДР	досл. проб	перев. МДР	досл. проб	перев. МДР
2013	5448	8	6156	14	6102	0	6097	0	6081	5
2014	4562	6	4562	1	4562	0	4561	1	4563	1
2015	3571	8	3569	0	3570	1	3565	0	3525	4
2016	3222	0	3219	0	3221	0	3178	2	3213	1
2017	1458	1	1453	2	1454	0	1452	0	1408	1
Всього	18261	23	18959	17	18909	1	18853	3	18853	12

Примітки. – МДР – максимально допустимий рівень; досл. – досліджено; перев. – перевищення.

Як видно з даних табл. 3.1, державними лабораторіями було виявлено невідповідності мікробіологічним критеріям в 56 випадках, що становить 0,3 % від загальної кількості проведених досліджень. Було зареєстровано невідповідності, як за критеріями безпечності, так і за критеріями гігієни технологічного процесу.

Перевищення максимально допустимого рівня найчастіше відмічали за критеріями гігієни технологічного процесу, тобто за вмістом МАФАНМ, яке виявлено у 23 партіях риби і рибних продуктів. Невідповідність за кількістю БГКП у рибі і рибних продуктах виявлено у 1,3 раза ($p < 0,05$) менше, а за *Staph. aureus* – в 7,7 раза ($p < 0,05$) менше, ніж за МАФАНМ. За критерієм безпечності зареєстровано 12 випадків невідповідностей за вмістом *Listeria monocytogenes* та один випадок за вмістом *Salmonella spp.*

Результати позитивних досліджень, які отримані лабораторіями Держпродспоживслужби в розрізі деяких областей, наведені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Невідповідності мікробіологічним критеріям партій замороженої риби та рибних продуктів, імпортованих в Україну протягом 2013–2017 років, отримані в регіональних державних лабораторіях, $n = 18261$

Область	Кількість позитивних результатів за мікробіологічними критеріями				
	МАФАНМ	БГКП	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Волинська	1	1	-	-	-
Дніпропетровська	9	1	-	-	-
Запорізька	2		-	-	1
Київська	7	11	-	3	6
Одеська	1	2	-	-	-
Полтавська	2	1	1	-	2
Рівненська	1	1	-	-	-

Черкаська	-	-	-	-	3
Всього	23	17	1	3	12

З даних табл. 3.2 видно, що найбільше виявлено партій риби і рибних продуктів, в яких було зареєстровано перевищення кількості МАФАНМ у Дніпропетровській та Київській областях – 9 та 7 партій відповідно. По інших областях кількість партій, які перевищували даний показник становила 1–2 партії. Перевищення кількості БГКП у рибних продуктах найчастіше виявляли у Київській області – 11 партій, у решті областей, в основному, по одній партії, окрім Одеської, де зареєстровано дві партії невідповідностей за даним показником. За вмістом золотистого стафілококу перевищення було зареєстровано тільки в Київській області – три партії.

За показником безпечності харчового продукту невідповідності найбільше виявляли за наявністю *L. monocytogenes*. Так, в Київській області було виявлено невідповідності у шістьох партіях риби і рибних продуктів, у Черкаській в 2 рази менше, а в Полтавській в 3 рази менше порівняно з Київською областю, у Запорізькій області виявлено одну партію риби, яка не відповідає за даним показником. У решті областей не зареєстровано партій риби, в яких виявляли *L. monocytogenes*.

Невідповідності риби і рибних продуктів за наявністю бактерій роду *Salmonella spp.* зареєстровано тільки в Київській області – три партії.

Отже, проведений аналіз результатів досліджень даного підрозділу дають змогу зробити такі узагальнення. За мікробіологічними показниками заморожена риба та рибні продукти, які імпортуються в Україну, у 99 % випадків відповідають чинним нормативам. Проте, із мікробіологічних небезпек, які були ідентифіковані в партіях імпортованих продуктів, найбільший ризик для здоров'я споживачів становить: *L.monocytogenes*, *Salmonella*, *Staph. aureus*. Також виявлено значний відсоток невідповідностей за кількістю МАФАНМ, що на нашу думку пов'язано із порушенням гігієнічних

умов виробництва, недотриманням температурних режимів на всіх етапах: виготовлення, переробки, транспортування, зберігання та обігу.

3.2. Обсіменіння мезофільною і психротрофною мікрофлорою замороженої риби, імпортованої в Україну

На український ринок морська риба надходить, в основному у замороженому стані за температури мінус 12–18°C. Відповідно до ДСТУ 4868:2007 Риба заморожена. Технічні умови [83] встановлено параметри і терміни зберігання замороженої риби, мікробіологічні нормативи безпечності риби, перевищення яких вказує на необхідність удосконалення гігієни виробничого процесу та його контролю. Так, згідно цього стандарту допускається до обігу заморожена риба з кількістю мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ) – 5×10^4 КУО/г, бактерії групи кишкових паличок не дозволені в 0,001 г риби, а золотистий стафілокок у 0,01 г. Враховуючи вимоги цього стандарту, у наукових публікаціях дослідники [174, 252], в основному звертають увагу на контамінацію замороженої риби мезофільними аеробними та факультативно-анаеробними мікроорганізмами (МАФАНМ) та бактеріями групи кишкових паличок (БГКП), які вважаються показниками дотримання гігієнічних вимог під час вилову і технологічного процесу заморожування, транспортування та обігу [221, 148, 116]. Проте, дослідження, які висвітлюють мікробіологічний процес у продуктах, за різних температур холодильного зберігання, встановлюють, що органолептичні та хімічні зміни у них відбуваються за рахунок життєдіяльності психротрофної (холодолюбивої) мікрофлори. Тому, актуальним є проведення комплексних експериментальних досліджень, які визначають кількісний вміст мезофільної і психротрофної мікрофлори замороженої риби. Метою роботи даного підрозділу було дослідити обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою.

Результати досліджень з визначення кількості мікрофлори замороженої риби, інкубація за різних температур наведено в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Кількість мікрофлори у замороженій рибі, виявленої за різних температур інкубації посівів, КУО/г, $M \pm m$, $n=66$

Назва риби	Мікробне число за температури	
	30±1°C–72 год (МАФАНМ)	6,5±0,5°C–10 діб (ПсхМ)
<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 °С

З даних табл. 3.3 видно, що за стандартної температури 30 °С, яка наведена в ДСТУ 4868 : 2007, не можна визначити найбільшу кількість мікрофлори замороженої риби. За результатами досліджень замороженої риби наявність мезофільної і психротрофної мікрофлори встановлено, що в 25 % проб, в яких виявлено менше 10^1 КУО/г мезофільних бактерій, кількість психротрофних мікроорганізмів перевищувала 10^5 КУО/г. Тобто дані проби за кількістю мезофільної мікрофлори відповідають нормативним вимогам до 5×10^4 КУО/г згідно ДСТУ 4868:2007, а за вмістом психротрофних мікроорганізмів даний показник перевищують.

Заморожена риба, у якої виявлено обсіменіння МАФАНМ у кількості 10^2 КУО/г за температури (30 ± 1 °С) була контамінована психротрофними мікроорганізмами в 1,4–1,8 разів більше ($p < 0,05$). Проби з кількістю мезофільних мікроорганізмів від 10^3 до 10^4 КУО/г, були контаміновані психротрофною мікрофлорою, яка в 1,7–6,8 рази ($p < 0,05$) перевищувала кількість мезофільних бактерій. Крім того, за такої кількості мезофільних мікроорганізмів реєстрували проби риби з кількістю психротрофів понад 10^5 КУО/г. Проби замороженої риби, які відповідали нормативу за кількістю МАФАНМ (5×10^4 КУО/г), в основному за кількістю психротрофної мікрофлори не відповідали даному показнику, а перевищували його в 2 рази.

Також, якщо порівняти обсіменіння мікрофлорою замороженої риби в холодний і теплий періоди року, то можна відмітити наступне. У холодний період року $63,6 \pm 2,1$ % проб замороженої риби були з кількістю МАФАНМ менше 10^1 КУО/г. Водночас проб з такою кількістю МАФАНМ у теплий період року виявлено – 9,0 %, або в 7,0 разів ($p < 0,05$) менше. Крім того, у холодний період року виявлено тільки 9,0 % проб, які за кількістю МАФАНМ

перевищували максимально допустимий рівень. При цьому у теплий період року кількість проб з понаднормованим обсіменінням МАФАНМ становила $27,3 \pm 0,3$ %. Практично аналогічну закономірність відмічали і щодо обсіменіння замороженої риби психротрофною мікрофлорою у ці періоди року, також це характеризувалася тим, що у теплий період року заморожена риба містить більшу кількість психротрофів.

Узагальнюючи одержані дані встановлено, що психротрофна мікрофлора замороженої риби, під час її зберігання, кількісно переважає вміст мезофільної мікрофлори та у більшій мірі характеризує гігієнічні умови виробничого процесу.

Для повної характеристики щодо кількості психротрофної мікрофлори у замороженій рибі, порівняно з мезофільною, нами проведено розподіл досліджених проб між цими мікроорганізмами. Результати досліджень наведено в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Порівняння кількості МАФАНМ і психротрофних мікроорганізмів у замороженій рибі, %, $M \pm m$, $n=680$

Кількість МАФАНМ, КУО/г	Досліджено проб, n	Кількість 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	16,6

						±2,1	±0,3
10^5-10^6	50	–	–	–	–	–	100,0

З даних табл. 3.4 видно, що проби з кількістю мезофільних мікроорганізмів менше 10^1 КУО/г нерівномірно обсеменені психротрофною мікрофлорою. Серед даних проб тільки $30,1 \pm 1,4$ % були з кількістю психротрофної мікрофлори менше 10^1 КУО/г, у той же час $60,0 \pm 0,5$ % 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 досліджень замороженої риби встановлено, що проби з кількістю МАФАНМ від 10^1 до 10^2 КУО/г тільки у $16,7 \pm 0,3$ % випадків співпадали з пробами за такою кількістю психротрофів, а по $33,3 \pm 0,3$ % проб риби були контаміновані психротрофними бактеріями від 10^2 до 10^3 КУО/г та від 10^3 до 10^4 КУО/г відповідно і $16,7 \pm 0,3$ % проб були контаміновані психротрофами більше 10^4 КУО/г.

Провівши аналіз результатів досліджень проб замороженої риби з кількістю МАФАНМ від 10^2 до 10^3 КУО/г встановлено, що за обсеменіння психротрофною мікрофлорою $20,0 \pm 0,4$ % проб риби були в межах величин, що виявлені для мезофільних бактерій. Водночас $40,0 \pm 0,7$ % проб риби були з кількістю психротрофної мікрофлори на два порядки більше ніж проб риби контамінованих МАФАНМ і по $20,0 \pm 0,3$ % проб риби на три і чотири порядки більше, відповідно.

За оцінкою результатів досліджень замороженої риби встановлено, що риба з кількістю МАФАНМ від 10^3 до 10^4 КУО/г за кількістю психротрофної мікрофлори більше на один порядок, ніж кількість проб, контамінованих мезофільними мікроорганізмами, що складає $37,5 \pm 1,1$ % проб і $12,5 \pm 0,4$ % проб більше, як на два порядки. Практично аналогічну тенденцію відмічали і при дослідженні риби за обсеменіння МАФАНМ з кількістю від 10^4 і більше КУО/г, порівняно з кількістю психротрофів.

Отже, отримані результати досліджень замороженої риби вказують на те, що кількість психротрофної мікрофлори, виділеної з риби не відповідає кількості МАФАНМ. Психротрофні бактерії кількісно перевищують МАФАНМ на декілька порядків і їх кількість не залежать від кількості мезофільної мікрофлори.

На рис. 3.4 наведено дані досліджень щодо перевищення максимально допустимого рівня МАФАНМ у замороженій рибі, порівняно з кількістю психротрофних мікроорганізмів.

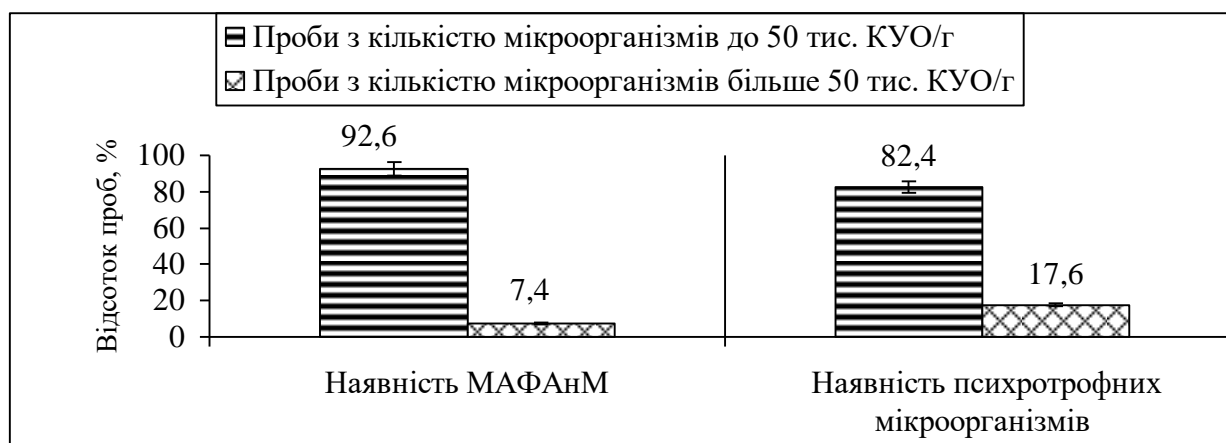


Рис. 3.4. Оцінка проб замороженої риби за контамінацією мезофільними та психротрофними мікроорганізмами

На рис. 3.4 показано, що $92,6 \pm 2,5$ % проб риби за кількістю МАФАНМ відповідали вимогам ДСТУ до 5×10^4 КУО/г, водночас $7,4 \pm 0,2$ % – перевищували максимально допустимий рівень. Під час оцінки замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори виявлено, що проб, які перевищували показник 5×10^4 КУО/г було в 2,6 рази ($p < 0,05$) більше, ніж проб за обсіменінням МАФАНМ. Отже, отримані нами дані результатів досліджень вказують на те, що психротрофна мікрофлора риби в процесі її вилову, зберігання і обігу переважає мезофільну і має важливіше значення для оцінки гігієнічних умов виробничого процесу. Тому необхідно провести дослідження направлені на удосконалення критеріїв оцінювання риби за кількістю психротрофних мікроорганізмів з метою внесення коректив до нормативних актів за мікробіологічними критеріями гігієни технологічного процесу.

3.3. Визначення контамінації мезофільними та психротрофними мікроорганізмами замороженої риби, залежно від хімічних показників її якості

До першочергових досліджень відносять органолептичні та хімічні, які тривають не довго та підтверджують свіжість і якість продукту. Нами було проведено вивчення обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорами, залежно від хімічних показників, які характеризують її свіжість. Досліджено 175 проб замороженої риби за органолептичними, мікробіологічними і хімічними показниками. У дослідженнях використано проби риби, у яких не виявлено залишків антибіотиків мікробіологічним методом, та які за органолептичними показниками не мали ознак псування (сторонні не властиві запахи тощо). У рибі визначали хімічні показники за реакціями: з купруму сульфатом, на пероксидазу, величини рН та загальний вміст летких сполук азоту.

На рис. 3.5 наведено данні досліджень з розподілу проб замороженої риби за кількістю мезофільної і психротрофної мікрофлори, яка за реакції з купруму сульфатом характеризувалась як свіжа

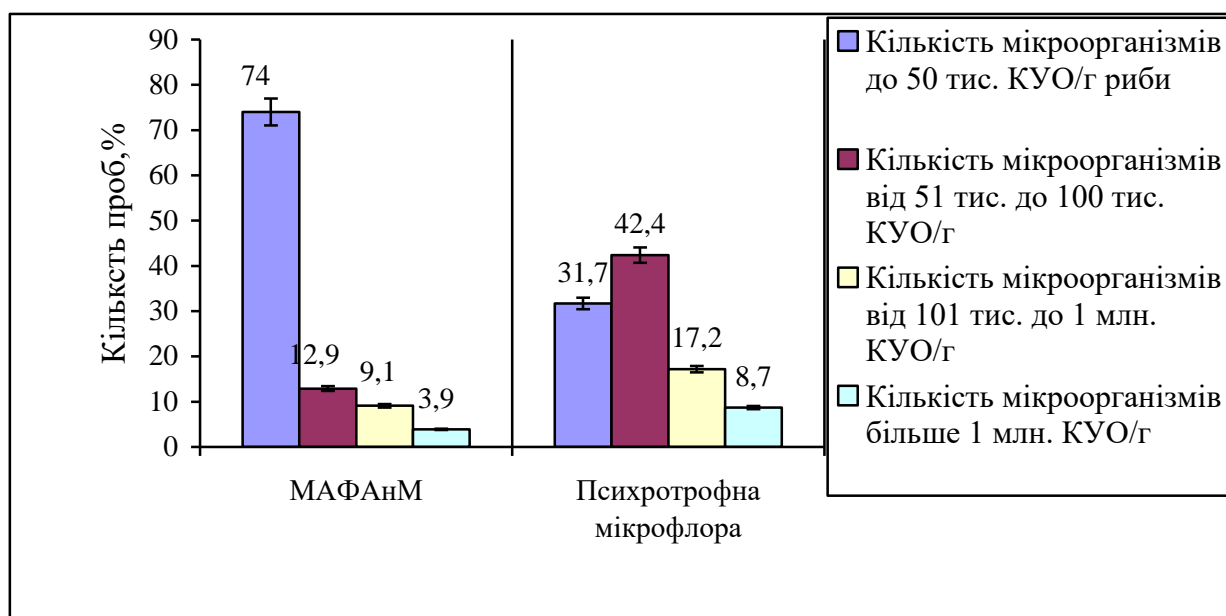


Рис. 3.5. Розподіл проб замороженої риби за кількістю МАФАнМ і психротрофної мікрофлори, які за реакції з купруму сульфатом відносились до свіжої риби

За даними рис. 3.5, проби замороженої риби, які за реакції з купрум сульфатом в 100 %, відносилися до свіжої за кількістю МАФАНМ відповідали нормативу (50 тис. КУО/г) лише – $74,0 \pm 3,2$ % випадків. Близько 20 % проб риби були контаміновані мезофільними мікроорганізмами до 1 млн. КУО/г і $3,9 \pm 0,2$ % – більше 1 млн. КУО/г. Кореляція між кількістю психротрофної мікрофлори і свіжістю риби, що встановлена за реакції з купрум сульфатом в 2,1 раза ($p < 0,05$) менше, порівняно з кореляцією за мезофільними мікроорганізмами до 50 тис. КУО/г. Психротрофна мікрофлора замороженої риби кількісно перевищує мезофільну мікрофлору, проте тільки $31,7 \pm 1,5$ % проб свіжої риби, контаміновані психротрофами, відповідали визначеному для мезофільних мікроорганізмів нормативу до 50 тис. КУО/г. $42,4 \pm 2,1$ % проб риби, контамінованої психротрофною мікрофлорою були в межах від 50 тис. КУО/г до 100 тис. КУО/г, та $17,2 \pm 0,4$ % – до 1 млн. КУО/г і в 2,0 раза менш проб мали перевищення більше 1 млн. КУО/г.

Отже, результати досліджень вказують на те, що заморожена риба, яка за реакцією з купрум сульфатом відносилася до свіжої, за кількістю МАФАНМ, у середньому, в 25 % не відповідала визначеному ДСТУ мікробіологічному нормативу. Водночас, виявлено близько 70 % проб замороженої риби з кількістю психротрофної мікрофлори більше 50 тис. КУО/г, та $25,9 \pm 1,4$ % проб – понад 100 тис. КУО/г. Загалом можна підсумувати, що обсіменіння психротрофною мікрофлорою риби не мало кореляції з реакцією купрум сульфатом.

На рис. 3.6 наведено результати досліджень з розподілу проб замороженої риби, щодо кількості МАФАНМ та психротрофної мікрофлори, які мали позитивну реакцію на пероксидазу, тобто риба відносилася до свіжої.

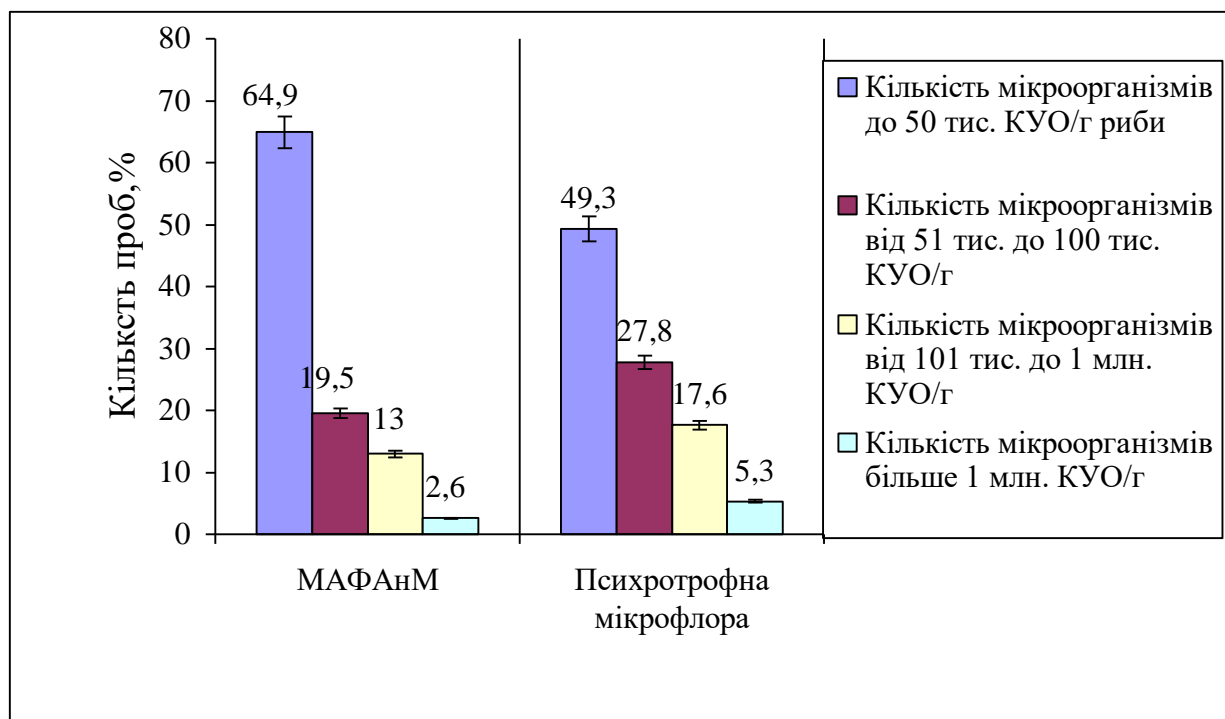


Рис. 3.6. Розподіл проб замороженої риби за кількістю МАФАНМ і психротрофної мікрофлори, які за реакції на пероксидазу, відносилися до свіжої риби

З даних рис. 3.6 видно, що за позитивної реакції на пероксидазу кількість проб замороженої риби, які відповідали мікробіологічному нормативу за кількістю МАФАНМ становила $64,9 \pm 2,7$ %, що в 1,6 раза ($p < 0,05$) більше ніж, проб з такою кількістю психротрофних мікроорганізмів. Риба, яка за реакцією на пероксидазу характеризувалась, як свіжа була контамінована мезофільною мікрофлорою від 50 тис. до 1 млн. КУО/г в $32,5 \pm 1,3$ % випадків, а психротрофними бактеріями в 1,7 раза більше ($p < 0,05$) порівняно з МАФАНМ. Це вказує на можливість більшого обсіменіння мікрофлорою риби, яка за цією реакцією характеризується як свіжа. Крім того, виявлено обсіменіння риби психротрофною мікрофлорою понад 1 млн. КУО/г, що становило $5,3 \pm 0,2$ % випадків, в середньому в 2,0 раза ($p < 0,05$) більше, ніж проб, які контаміновані мезофільними мікроорганізмами.

Заморожена риба, яка за позитивної реакції на пероксидазу, характеризується як свіжа у в меншій мірі корелює з визначеним

мікробіологічним нормативом для МАФАНМ, порівняно рибою, яка за реакції з купруму сульфатом була свіжою.

На рис. 3.7. наведено результати досліджень з розподілу проб замороженої риби, щодо кількості МАФАНМ та психротрофної мікрофлори, які за загальним вмістом летких сполук азоту відносилися до свіжої риби.

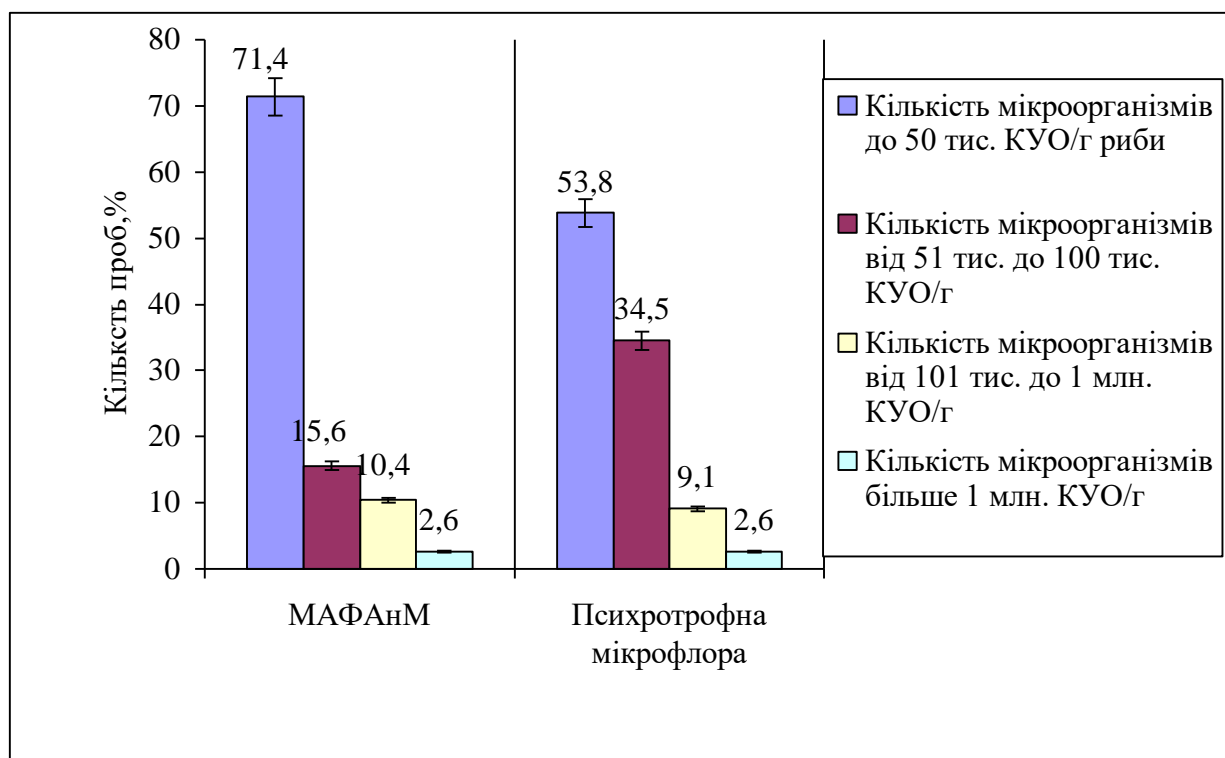


Рис. 3.7. Розподіл проб замороженої риби за кількістю МАФАНМ і психротрофної мікрофлори, які за загальним вмістом летких сполук азоту відносилися до свіжої риби

З даних рис. 3.7 видно, що проби замороженої риби, у яких загальний вміст летких сполук азоту не перевищував МДР у 30 мг/100 г були контаміновані МАФАНМ до 50 тис. КУО/г у $71,4 \pm 4,3$ % випадків, а психротрофною мікрофлорою в 1,3 раза ($p < 0,05$) менше. У той же час, виявлено в 2,2 раза ($p < 0,05$) більше проб замороженої риби з кількістю психротрофів від 51 до 100 тис. КУО/г, порівняно з такою контамінацією МАФАНМ. Проби свіжої риби за загальним вмістом летких сполук азоту були контаміновані МАФАНМ і психротрофними мікроорганізмами в $10,4 \pm 0,3$ і $9,1 \pm 0,3$ % випадках відповідно в кількості від 100 тис. до 1 млн. КУО/г.

Отже, отримані дані вказують, що за загальним вмістом летких сполук азоту в рибі, який не перевищував МДР виявлено, в середньому, 30 % проб замороженої риби, які були контаміновані МАФАНМ більше 50 тис. КУО/г і $46,2 \pm 1,8$ % психротрофними мікроорганізмами.

На рис. 3.8. наведено результати досліджень щодо обсіменіння мезофільною і психротрофною мікрофлорою замороженої риби, яка за величини рН характеризується як свіжа (рН 6,6–6,8 од).

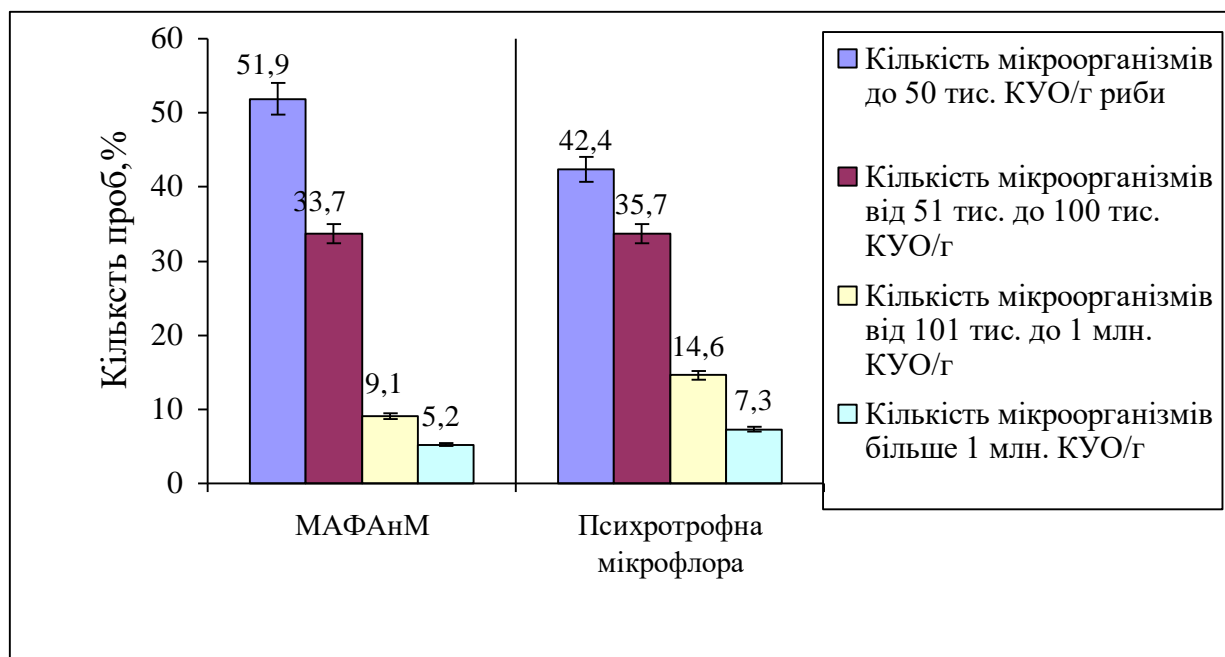


Рис. 3.8. Розподіл проб замороженої риби за кількістю МАФАНМ і психротрофної мікрофлори, які за величини рН, відносилися до свіжої риби

З даних рис. 3.8. видно, що за величини рН, яке характерне для свіжої риби (6,6-6,8 од), кількість проб контамінованих МАФАНМ до 50 тис. КУО/г становила $51,9 \pm 2,7$ %, а за вмістом психротрофних бактерій у 1,2 раза ($p < 0,05$) менше. Тобто, в середньому 48 % проб риби за кількістю МАФАНМ не відповідали нормативу згідно з ДСТУ, але за величини рН риба характеризувалась, як свіжа. У середньому $34,2 \pm 1,9$ % проб, свіжої за величини рН замороженої риби, були контаміновані мезофільними і психротрофними мікроорганізмами від 50 до 100 тис. КУО/г. Водночас, виявлено збільшення в 1,6 раза ($p < 0,05$) кількості проб риби за кількістю психротрофної мікрофлори від 100 тис до 1 млн. КУО/г, порівняно з кількістю проб за такого ж

обсіменіння МАФАНМ. Також виявлено в 1,4 раза ($p < 0,05$) більше проб з кількістю психротрофів понад 1 млн. КУО/г, ніж проб з такою ж кількістю мезофільних мікроорганізмів.

Отже, отримані результати досліджень вказують, на те що за задовільних показників, що характеризують свіжість замороженої риби в реакціях: з купруму сульфатом, на пероксидазу, загальний вміст летких сполук азоту та величини рН, виявлено від 25 % і більше проб риби з понаднормованою (більше 50 тис. КУО/г) кількістю МАФАНМ. Також виявлено, що психротрофна мікрофлора кількісно перевищує МАФАНМ у замороженій рибі. У пробах риби, які за хімічними показниками відносилися до свіжої, психротрофні мікроорганізми в 60–65 % випадків перевищували кількість 50 тис. КУО/г.

Отримані дані вказують на необхідність проведення досліджень обсіменіння замороженої риби психротрофною мікрофлорою та обґрунтування мікробіологічних критеріїв за кількістю цих мікроорганізмів. А також удосконалення нормативно-правових актів щодо контролю замороженої риби імпортованого виробництва.

3.4. Удосконалення способу гігієнічної оцінки безпеки замороженої риби за кількістю психротрофних мікроорганізмів

Для комплексної характеристики мікробіологічних зміни, які відбуваються у замороженій рибі, з метою удосконалення способу оцінки безпеки риби та гігієних вимог технологічного процесу за кількісним вмістом психротрофної мікрофлори, нами, на першому етапі даної частини роботи було проведено дослідження з визначення динаміки зміни мікрофлори під час зберігання риби у замороженому стані за температури $-18 \pm 1^\circ\text{C}$. При цьому досліджували мікрофлору: мезофільну, психротрофну і мікроскопічні гриби.

На другому етапі цієї частки досліджень було визначено вплив дефростації риби на зміну кількості вище згадуваних мікроорганізмів.

3.4.1. Динаміка зміни мікрофлори під час зберігання замороженої риби за різних температур

На рис. 3.9 показано зміни кількості мезофільної мікрофлори замороженої риби з різною контамінацією під час зберігання за температури -18°C протягом 8 місяців.

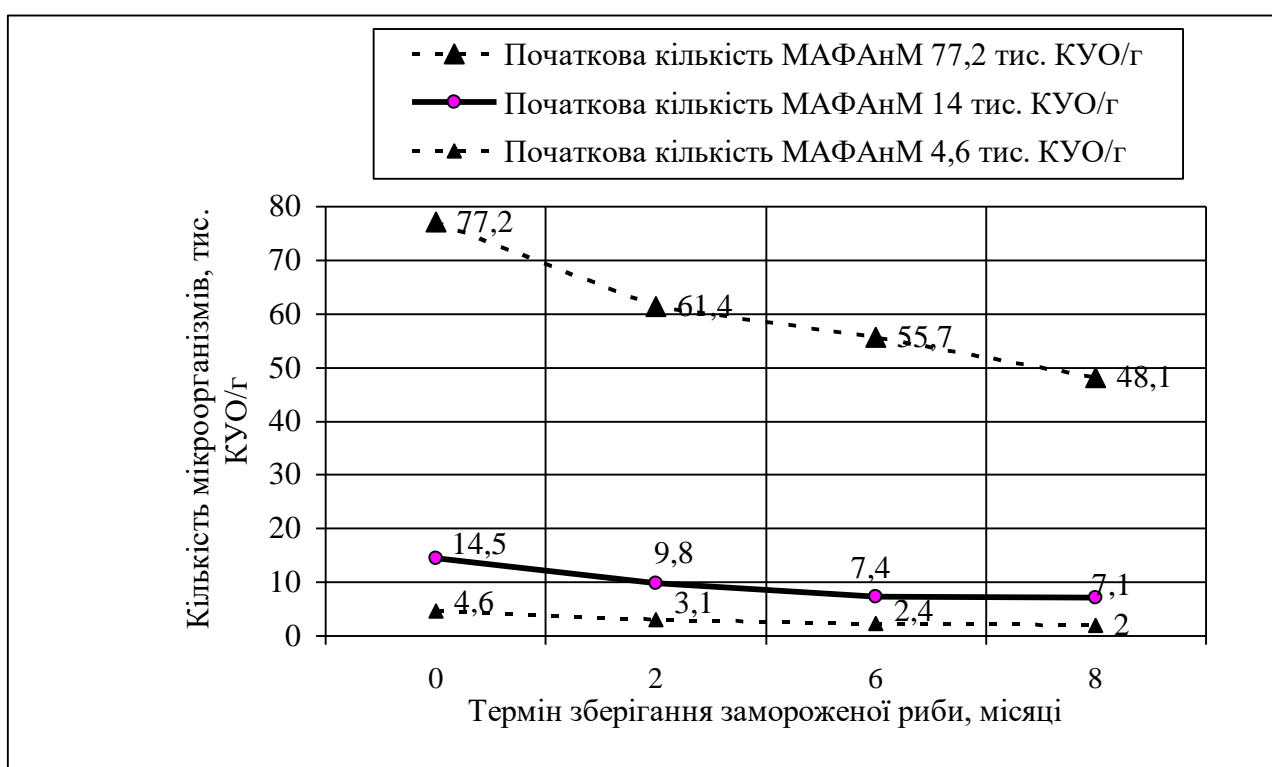


Рис. 3.9. Зміни мезофільної мікрофлори під час зберігання замороженої риби за температури $-18\pm 1^{\circ}\text{C}$ протягом 8 місяців

З даних рис. 3.9. видно, що під час зберігання замороженої риби за температури -18°C мезофільна мікрофлора інактивується, як наслідок її кількість поступово зменшується. Однак, інтенсивність загибелі мезофільної мікрофлори залежала від її початкової кількості на момент заморожування, чим більша кількість мезофільних мікроорганізмів на момент заморожування риби, тим повільніше відбувається її інактивація. Так, у пробах замороженої риби з початковою

кількістю МАФАНМ $77,2 \pm 3,8$ тис. КУО/г, під час зберігання протягом 8 місяців, кількість мікроорганізмів зменшилася в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Водночас у пробах риби з початковою кількістю МАФАНМ $14,5 \pm 0,5$ тис. КУО/г кількості мікроорганізмів, протягом цього періоду, зменшилась в 2,0 раза ($p < 0,05$), а в пробах з початковою кількістю – $4,6 \pm 0,2$ тис. КУО/г зменшилась в 2,3 раза ($p < 0,05$). Тобто інтенсивність інактивації мезофільних бактерій у пробах з незначним мікробним обсіменінням, у середньому, в 1,4 раза швидша, порівняно з пробами з більшою кількістю мікроорганізмів. Це на нашу думку пов'язано з тим, що склад мезофільної мікрофлори у більшій мірі представлений родами бактерій, які проявляють толерантність до холоду.

На рис. 3.10 наведено динаміку зміни кількості психротрофної мікрофлори під час зберігання замороженої риби із різною контамінацією за температури $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 8 місяців.

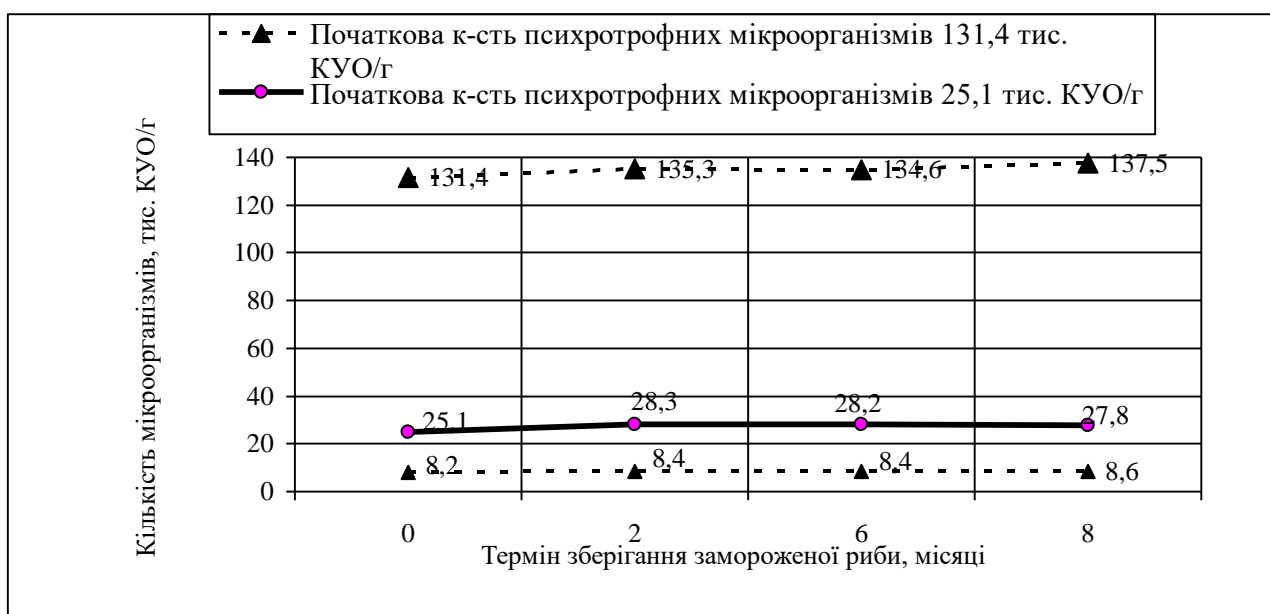


Рис. 3.10. Зміни психротрофної мікрофлори під час зберігання замороженої риби за температури $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 8 місяців

З даних рис. 3.10 видно, що кількість психротрофних мікроорганізмів у всіх групах замороженої риби під час її зберігання протягом 8 місяців залишається, практично на однаковому рівні. Тобто суттєвого збільшення чи зменшення кількості мікроорганізмів не відмічали.

Загалом отримані дані вказують на те, що психротрофна мікрофлора замороженої риби протягом 8 місячного терміну зберігання за температури -18°C не інактивується, і є більш стабільною, порівняно з мезофільною. У результаті цього за кількістю психротрофної мікрофлори замороженої риби, визначеною на будь якому етапі зберігання, можна судити про її кількість на момент заморожування.

Як відомо мікроскопічні гриби відрізняються психотолерантністю до низьких температур, так як деякі їх представники можуть розвиватися у продуктах харчування за температури -12°C .

На рис. 3.11 наведено результати досліджень щодо зміни мікроскопічної грибкової мікрофлори під час зберігання замороженої риби із різною контамінацією за температури $-18\pm 1^{\circ}\text{C}$ протягом 8 місяців.

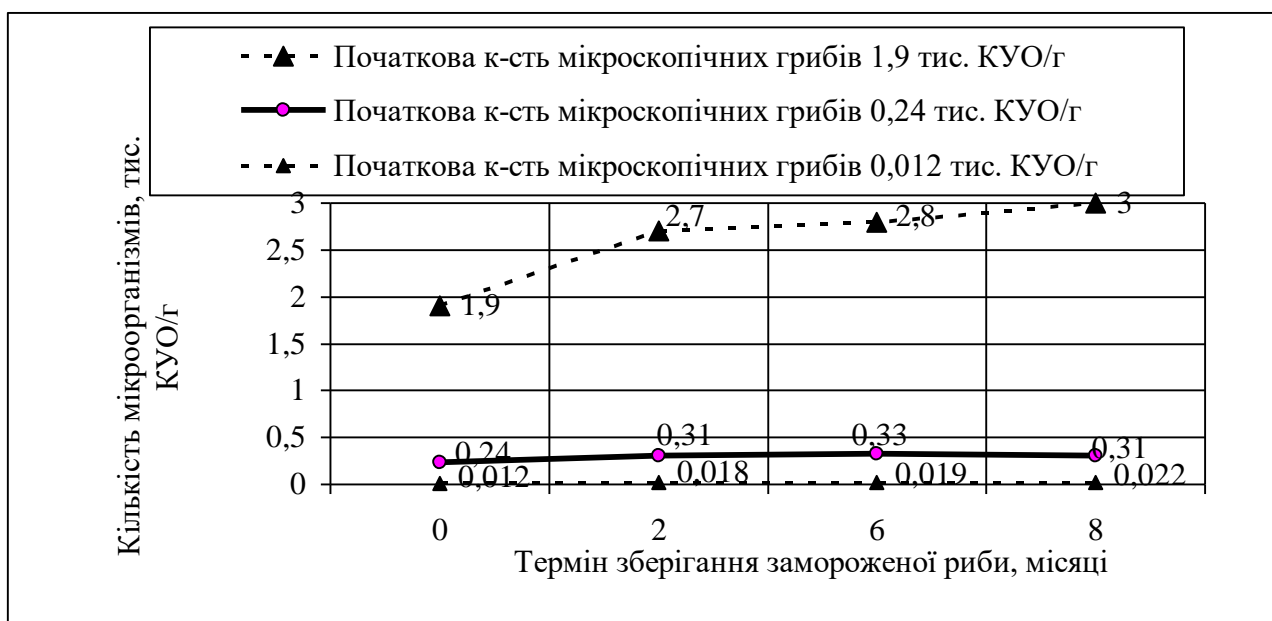


Рис. 3.11. Зміни кількості грибів під час зберігання замороженої риби із різною контамінацією за температури $-18\pm 1^{\circ}\text{C}$ протягом 8 місяців

Дані на рис. 3.11 вказують на те, що відбувається аналогічна закономірність розвитку мікроскопічної грибової мікрофлори, як і психротрофної мікрофлори. На початку процесу холодильного зберігання кількість мікроскопічної грибкової мікрофлори зростала в 1,3–1,5 рази ($p < 0,05$), в подальшому її кількість стабілізувалась і залишилась, на рівні другого місяця зберігання.

Отже, не зважаючи на те, що мікроскопічні гриби у замороженій рибі не нормуються ДСТУ, результатами досліджень виявлено незначне їх зростання у пробах із більшим мікробним обсіменінням, навіть, під час зберігання за температури -18°C . Це дає підставу, вважати за необхідність, контролювання цієї мікрофлори у замороженій рибі і у випадку її виявлення, навіть, незначних кількостей, проводити коригувальні дії щодо гігієнічних вимог зберігання риби.

Під час розморожування риби, завдяки підвищенню температури, відбувається вихід мікрофлори із стану анабіозу. Якщо процес розморожування проходить довго мікрофлора здатна швидко розвиватись і впливати на мікробіологічні, органолептичні і хімічні показники риби. Відповідно до ДСТУ 4868:2007 заморожену рибу розморожують за температури навколишнього середовища, або розміщують в пакеті з полімерних матеріалів і занурюють у воду за кімнатної температури (не вище, ніж 35°C). Також, можливо використовувати спосіб розморожування риби у мікрохвильовій печі. Для об'єктивної оцінки кількісних змін мікрофлори, які відбуваються у замороженій рибі на кінцевому етапі її підготовки до теплової обробки нами досліджено вплив двох способів розморожування на мікробіологічні показники замороженої риби: перший – розморожування за кімнатної температури; другий – у мікрохвильовій печі.

На рис. 3.12 наведено зміни кількості мікрофлори замороженої риби під час розморожування за температури $+20\pm 1^{\circ}\text{C}$.

З даних рис. 3.12 видно, що процес дефростації замороженої риби за температури $+20\pm 1^{\circ}\text{C}$ сприяє розвитку різної мікрофлори. Проте, інтенсивність розмноження психротрофної мікрофлори упродовж чотирьох годинного процесу розморожування була в 1,3 раза ($p < 0,05$) швидша, ніж мезофільної, а упродовж шести годин, у середньому в 1,4 раза ($p < 0,05$) швидшою. Мікроскопічна грибкова мікрофлора за інтенсивністю розмноження дещо поступається психротрофній, але переважає мезофільну. Інтенсивніші темпи розвитку психротрофної мікрофлори за даних умов дефростації риби пов'язані із поступовим підняттям температури продукту і перебування його тривалий

час за сприятливих температурних режимів, саме для цих мікроорганізмів. Водночас, оптимальна температура для розвитку мезофільної мікрофлори починається, в середньому від 19°C. В м'язах риби досягнення даної температури, практично буде на завершальному етапі розморожування.

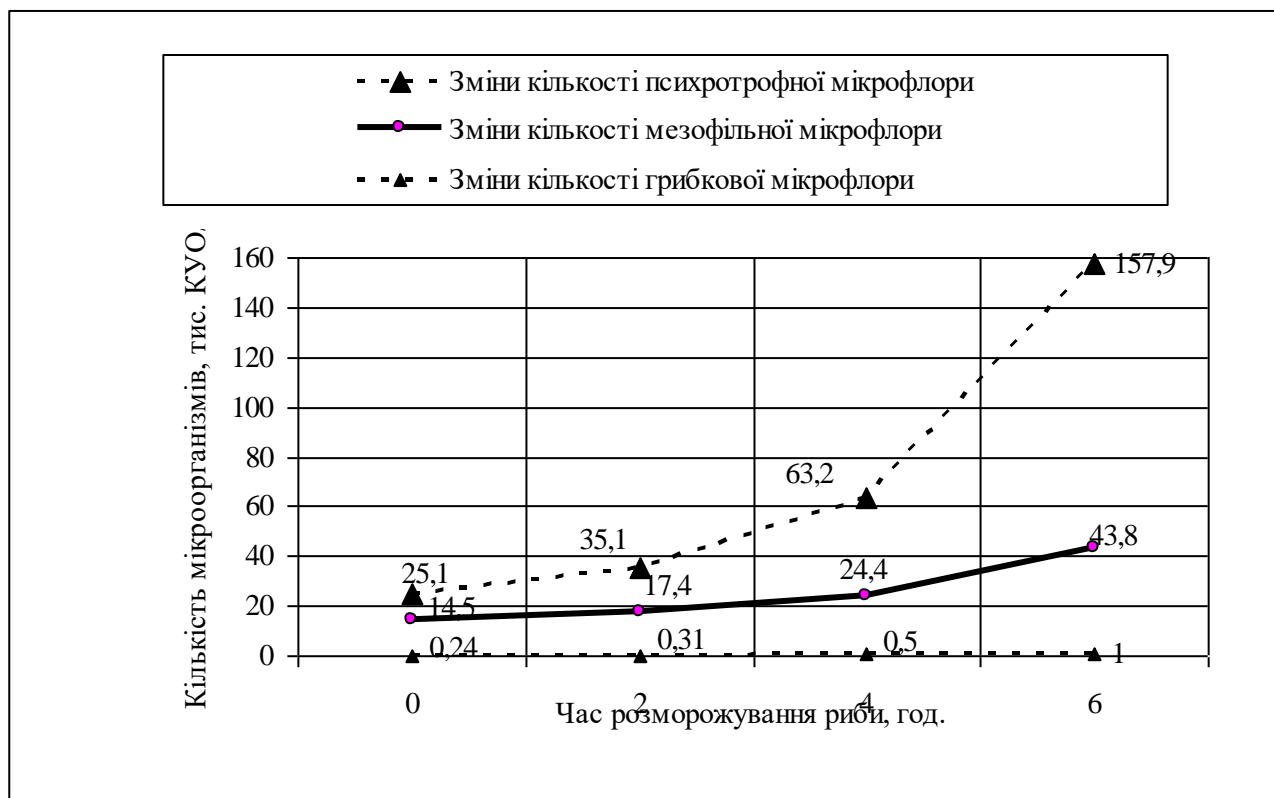


Рис. 3.12. Зміни кількості мікрофлори замороженої риби під час розморожування за температури $+20\pm 1^\circ\text{C}$

Результати даних досліджень вказують на те, що можливі зміни кількості мікрофлори у рибі після її розморожування пов'язані, в основному, з розвитком психротрофної мікрофлори. Це відбувається при порушенні умов її розморожування, або за наявності значного обсіменіння замороженої риби. Отже, процес дефростації замороженої риби повинен проходити як найшвидше, для сповільнення активності психротрофної мікрофлори.

На рис. 3.13 наведено результати зміни кількості мікрофлори замороженої риби під час дефростації у мікрохвильовій печі.

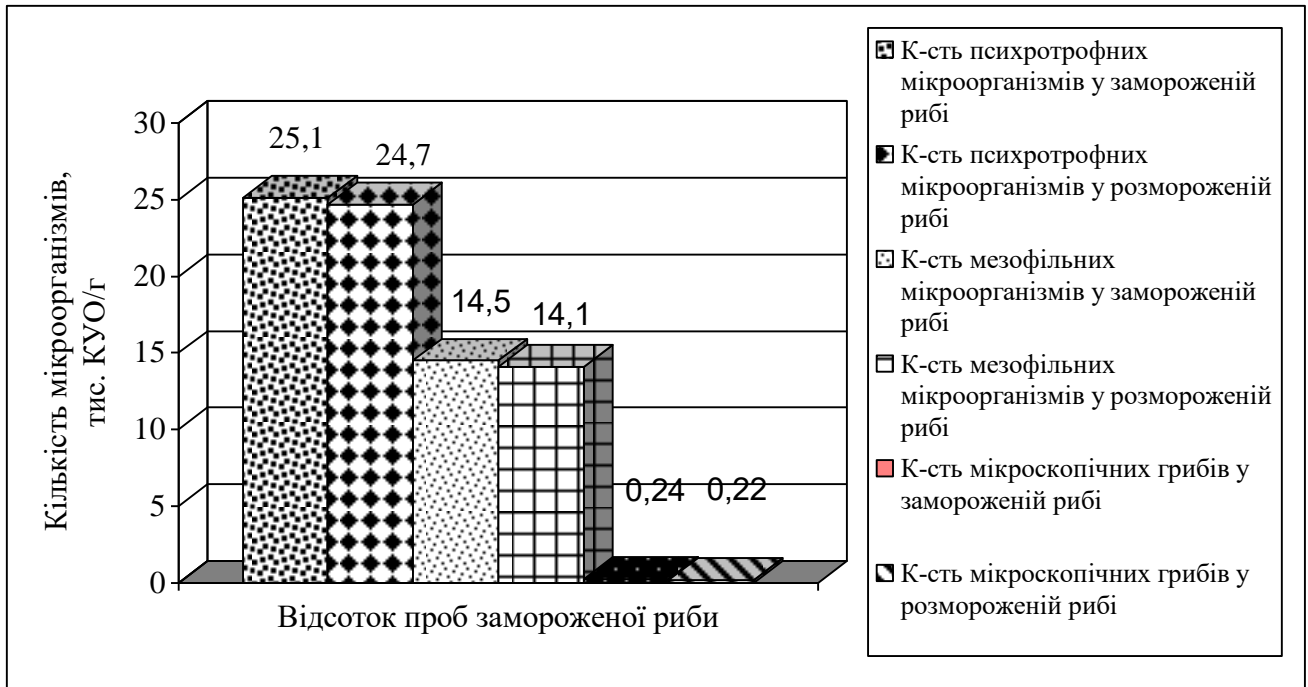


Рис. 3.13. Зміни кількості мікрофлори замороженої риби під час її розморожування за допомогою мікрохвильової печі

Результати досліджень, які наведені на рис. 3.13 вказують на те, що за умов розморожування риби за допомогою мікрохвильової печі, суттєвої зміни у кількості мікрофлори риби до і після дефростації не виявлено.

Отже, отримані дані дають підставу вважати, що найкращим способом розморожування риби, без зростання кількості мікрофлори є використання мікрохвильової печі.

3.4.2. Визначення мікробіологічного критерію гігієни технологічного процесу замороженої риби на підставі оцінювання кількості психротрофної мікрофлори

Результати проведених досліджень щодо контамінації психротрофними мікроорганізмами замороженої риби та порівняння їх кількості з мезофільними бактеріями, дозволили удосконалити мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу, що ґрунтуються на наступних доведених наукових фактах:

1) психротрофні мікроорганізми є холодолюбивими та тривалий час зберігають свою життєдіяльність за умов температур заморожування (-12-18°C), а тому відносяться до «нормальної» мікрофлори замороженої риби, і безпечна їх кількість завжди присутня на її поверхні та не становить загрози для споживачів;

2) серед психротрофних мікроорганізмів замороженої риби, в основному, переважають неферментуючі грамнегативні сапрофітні бактерії родів *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* і *Enterobacter* (від 85 до 95 %). Проте серед видів психротрофних мікроорганізмів роду *Pseudomonas*, трапляються умовно-патогенні види, що є небезпечними для здоров'я людини;

3) психротрофні бактерії продукують протеолітичні і ліполітичні ензими, які внаслідок протеолізу та ліполізу призводять до псування (вад) риби. Тому, мікробіологічний критерій обсіменіння психротрофною мікрофлорою замороженої риби має бути визначений з урахуванням технології заморожування, транспортування та її зберігання, а наявність кількості психротрофної мікрофлори в рибі, яка призводить до невідповідностей, буде свідчити про неналежну гігієну технологічного процесу та ризику для споживачів;

4) визначений гігієнічний критерій оцінювання замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори одночасно має характеризувати гігієну технологічного процесу і відповідність харчового продукту вимогам чинних нормативно-правових актів. Крім того, має бути додатковим мікробіологічним показником до вже існуючих методів визначення безпечності замороженої риби і дотримання вимог гігієни під час технологічного процесу виробництва, зберігання і обігу замороженої риби.

Враховуючи результати наших досліджень, було встановлено, що кількість психротрофної мікрофлори замороженої риби перевищує в 1,3–2,0 рази кількість мезофільної мікрофлори визначеної за температури 30°C протягом 72 год (табл. 3.3, 3.4, рис. 3.5–3.8). Також, виявлено (рис. 3.9, 3.10), що при зберіганні замороженої риби за температури -18°C протягом 8 місяців

кількість психротрофної мікрофлори практично не змінюється і знаходиться на початковому рівні. Водночас кількість мезофільної мікрофлори протягом цього терміну зберігання зменшується в 1,8–2,6 рази – це залежить від її кількості на початок заморожування. Тому, ми вважаємо, що за кількістю психротрофної мікрофлори замороженої риби можна судити про її безпечність, а також про дотримання гігієнічних вимог під час технологічного процесу виробництва (від вилову до обігу) замороженої риби.

Отже, результатами наших досліджень встановлено, що обсіменіння замороженої риби психротрофною мікрофлорою, яка імпортується в Україну, є більш стабільним, порівняно з контамінацією риби мезофільними мікроорганізмами. Кількість психротрофної мікрофлори більш об'єктивно характеризує гігієнічні умови виробництва, дотримання температури заморожування.

Отже, на підставі наших досліджень з урахуванням європейської методології [31, 32, 76] нами було удосконалено мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу виробництва замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори, які наведені в табл. 3.5.

3.4.2.1 Інтерпретація отриманих результатів досліджень замороженої риби за критеріями гігієни технологічного процесу з визначення психротрофної мікрофлори та плану трьох рівнів оцінювання.

Якщо під час мікробіологічного дослідження п'яти проб риби від однієї партії хочаб в одній пробі виявлятимуть кількість психротрофних мікроорганізмів понад 50 000 КУО/г ($\geq M$), то таку партію замороженої риби вважають незадовільною і вживають заходи щодо удосконалення гігієни технологічного процесу.

У разі виявлення у трьох пробах замороженої риби кількості психротрофних мікроорганізмів від 10 000 КУО/г до 50 000 КУО/г, (у межах між m і M), то таку партію вважають прийнятною.

Якщо при мікробіологічному дослідженні п'яти проб замороженої риби виявлятимуть кількість психротрофних мікроорганізмів менше 10 000 КУО/г (m) у всіх пробах, то таку партію вважають задовільною.

Таблиця 3.5

Мікробіологічне оцінювання замороженої риби за критеріями гігієни технологічного процесу з визначення психротрофної мікрофлори

Категорія харчових продуктів	Мікроорганізми	План відбору зразків		Допустимі межі		Стадія, де застосовується показник	Дії у випадку незадовільних результатів
		n	c	m	M		
Риба заморожена	Психротрофні	5	3	10 000 КУО/г	50 000 КУО/г	Під час зберігання у замороженому стані або реалізації	Заборона реалізації. Рекомендації щодо удосконалення гігієни технологічного процесу

Примітка. n – кількість проб, що відбиралося від одної партії.

c – кількість проб, параметричні значення, яких знаходяться між m і M .

m – мінімальне значення вмісту психротрофних мікроорганізмів у 1 г риби.

M – максимальне значення вмісту психротрофних мікроорганізмів у 1 г риби.

Таким чином, запропонована нами модель з використанням мікробіологічних критеріїв гігієни технологічного процесу з урахуванням контамінації психротрофною мікрофлорою замороженої риби, характеризує дотримання комплексу гігієнічних вимог на всіх етапах (від заморожування до її обігу) та в разі потреби, дозволяє вжити відповідних коригувальних дій. Визначений мікробіологічний критерій кількості психротрофної мікрофлори у замороженій рибі доповнює існуючі методи оцінювання гігієни технологічного

процесу та має на меті бiль широко оцiнити мiкробiологiчну безпечнiсть замороженої риби.

3.5. Оцiнка замороженої риби, iмпортваної в Україну, на наявнiсть залишкових кiлькостей антибактерiальних речовин

Ринок морської риби в Україні, в основному, представлений iмпортною рибою, яка надходить в замороженому станi за температури -12- 18°C. У той же час, згiдно «Плану державного монiторингу залишкiв ветеринарних препаратiв та забруднювачiв у живих тваринах i необроблених харчових продуктах тваринного походження», визначення залишкових кiлькостей ветеринарних препаратiв передбачено у рибi власного виробництва згiдно Регламенту ЄС 37/2010 «Про фармакологiчно активнi речовини та їх класифiкацiя вiдносно максимальних допустимих кiлькостей в харчових продуктах тваринного походження» [75]. Заморожена риба, яка iмпортується в Україну, не досліджується на наявнiсть залишкових кiлькостей антибактерiальних речовин, якi можуть бути використанi при вирощуванi аквакультури або як консервант.

Отже, проблема залишкових кiлькостей антибактерiальних речовин у рибi є актуальною в Україні.

Нами було проведено дослідження замороженої риби, iмпортваної в Україну, на наявнiсть залишкових кiлькостей антибактерiальних речовин. Також проведено кiлькiсне визначення виявлених залишкiв антибактерiальних речовин у замороженiй рибi та визначено види риби, якi мiстили антибiотики з перевищенням МДР. Дослідження щодо визначення залишкiх кiлькостей антибактерiальних речовин у замороженiй рибi наведено на рис. 3.14.

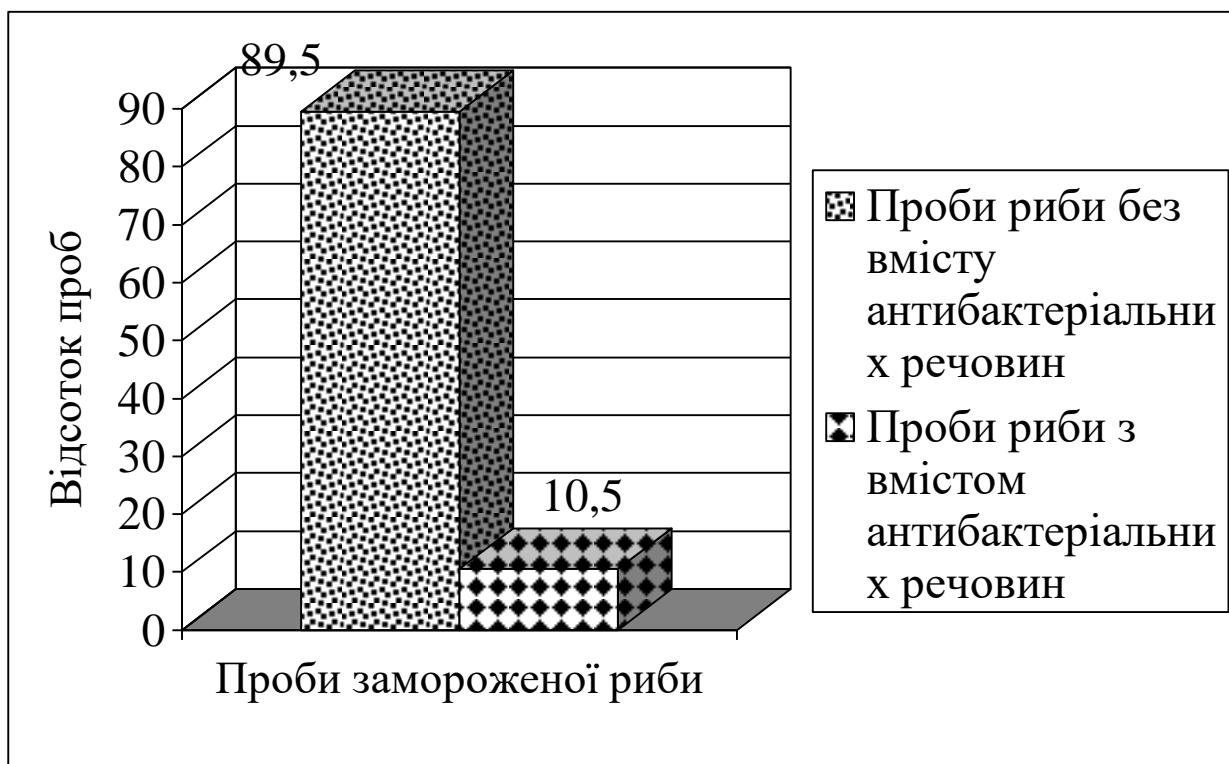


Рис. 3.14. Виявлення антибактеріальних речовин у замороженій рибі

З даних рис. 3.14 видно, що з 100 % досліджених проб замороженої риби, кількість зразків, які містили антибактеріальні речовини становила $10,5 \pm 0,3$ %. Це вказує на те, що дану рибу вирощували із застосуванням антибактеріальних речовин або їх використовували під час заморожування

Отже, закордонні виробники та імпортери замороженої риби не завжди дотримуються вимог щодо застосування антимікробних препаратів і періоду їх каренції під час вирощування аквакультури або порушують вимоги щодо заморожування.

У той же час, національним законодавством не передбачено дослідження замороженої риби на залишкові кількості антибактеріальних речовин у аквакультури, яка надходить на український ринок із-за кордону.

На рис. 3.15. наведено дані досліджень щодо ідентифікації наявних антибактеріальних речовин у імпортованій замороженій рибі.

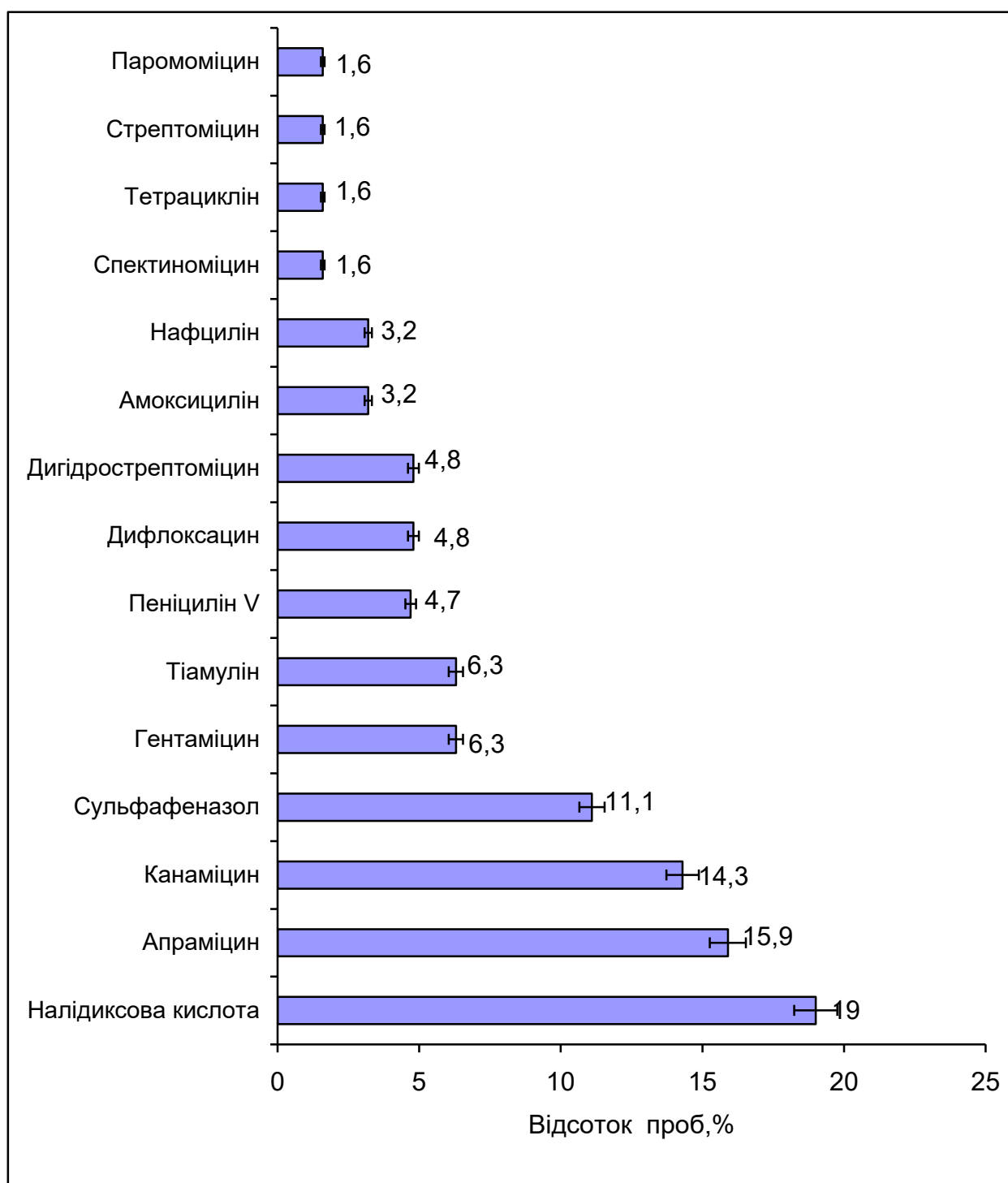


Рис. 3.15. Найбільш поширені антибактеріальні речовини, виявлені у замороженій рибі

З даних рис. 3.15 видно, що найчастіше у замороженій рибі, імпортованій в Україну виявляли антибактеріальну речовину – налідиксову кислоту в $19,0 \pm 0,2$ % випадках досліджених проб. Антибіотик із групи аміноглікозидів –

апраміцин виявляли у рибі в $15,9 \pm 0,2$ % випадків. Найбільш часто виявляли у рибі інший антибіотик-аміноглікозид – канаміцин у $14,3 \pm 0,2$ % випадків.

Більше 11 % – виділяли речовину із групи сульфамідних препаратів – сульфафеназол, який також проявляє широкий спектр антимікробної дії на різні мікроорганізми. Аміноглікозид – гентаміцин і ветеринарний антибіотик тіамулін виявляли в однаковій кількості в досліджених пробах замороженої риби по $6,3 \pm 0,1$ % випадків. Антибіотики пеніцилінового ряду: пеніцилін, амоксицилін і нафцилін, незважаючи на протимікробну дію цих препаратів переважно щодо грампозитивної мікрофлори, виявляли у сумарній кількості $11,1 \pm 0,2$ % випадків. Дигідрострептоміцин і стрептоміцин, які також відносяться до антибіотиків-аміноглікозидів виявляли в $6,4 \pm 0,3$ % випадків. В замороженій рибі виявляли антибіотик тетрациклінової групи – тетрациклін в $1,6 \pm 0,1$ % випадків.

З одержаних даних встановлено, що у імпортованій в Україну замороженій рибі виявляли антибіотики – аміноглікозиди I-II покоління (апраміцин, канаміцин, гентаміцин, спектиноміцин, паромоміцин, дигідрострептоміцин) у – $46,4 \pm 0,7$ % випадків, від усіх проб із залишковими кількостями антимікробних речовин.

Ймовірно це пов'язано з широким спектром їхньої бактерицидної дії на більшість грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів. Крім того, в 19 % випадків, виявляли налідиксову кислоту, що ймовірно пов'язано із її активністю щодо бактерій родини *Enterobacteriaceae*. Однак, необхідно зазначити, що Регламент комісії ЄС № 37/2010 «Про фармакологічно активні речовини та їх класифікація відносно максимальних допустимих кількостей в харчових продуктах тваринного походження», не регламентує МДР залишків налідиксової кислоти.

На рис. 3.16 наведено результати досліджень щодо видів риби, які містили залишки антибактеріальних речовин.

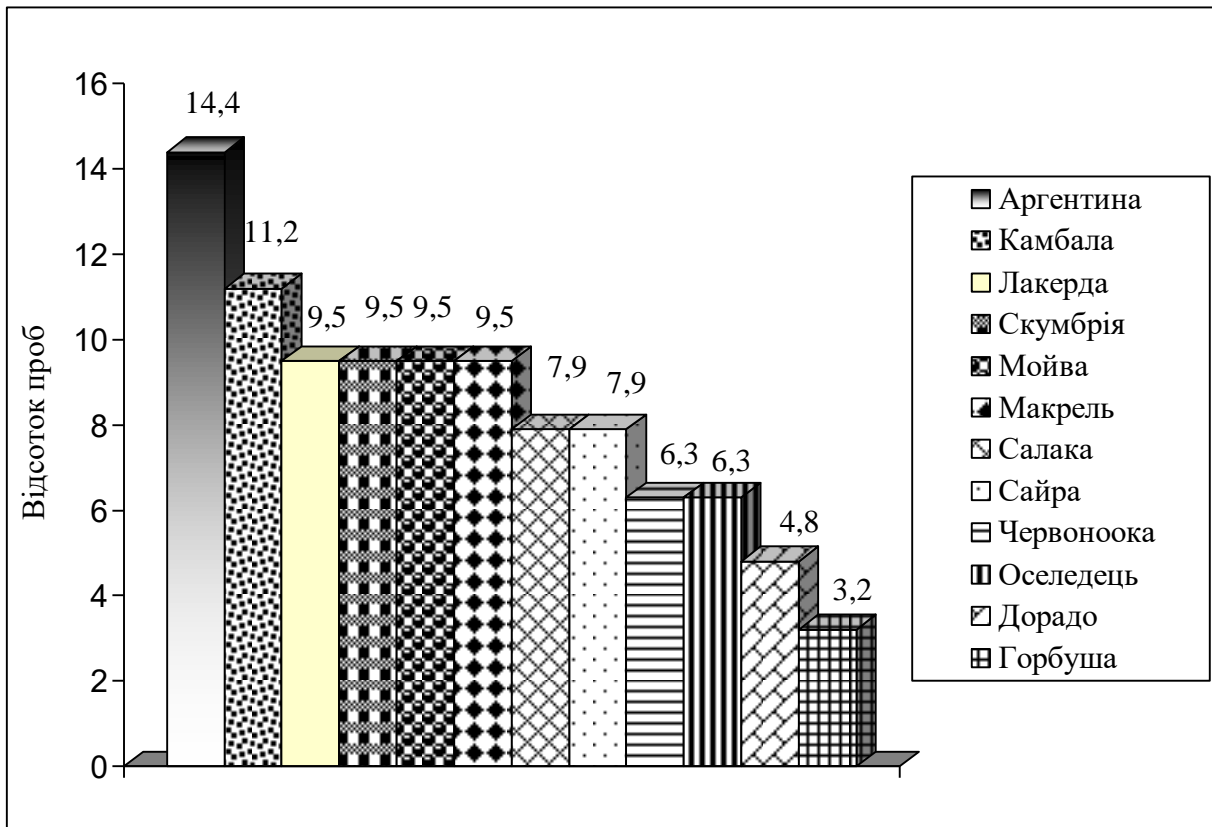


Рис. 3.16. Види риби, які містили залишки антибактеріальних речовин

З даних рис. 3.16 видно, що частота виявлення залишків антибактеріальних речовин у замороженій рибі різнилася між видами. У більшій кількості від $11,2 \pm 0,2$ до $14,4 \pm 0,2$ % залишки антибактеріальних речовин виявляли у таких видів риби, як аргентина та камбала. У пелагічних видів риби, як лакерда, скумбрія, мойва і макрель виявляли залишки антибактеріальних речовин в однаковій кількості, близько 10 % випадків усіх досліджених проб. Салака і сайра містили залишки антибактеріальних речовин – близько 8 % випадків. До $6,3 \pm 0,2$ % досліджених проб таких океанічних риб, як оселедець і червоноока містили залишки ветеринарних речовин. Рідше залишки антибактеріальних речовин виявляли у таких морських риб, як дорадо і горбуша (до 5 %) від усіх позитивних проб.

Отже, одержані дані досліджень вказують на те, що види замороженої риби, які надходять в Україну, за наявності залишкових кількостей антибактеріальних речовин відрізняються між собою. Найбільш часто виявляли

залишки антибактеріальних речовин в таких видах риб як аргентина і камбала та в 3-4,5 рази($p < 0,05$) менше виявляли їх у дорадо і горбуші.

Підсумовуючи результати досліджень необхідно визначити наступне. Заморожена риба, яка надходить на український ринок не досліджується на виявлення залишкових кількостей антибактеріальних препаратів, як наслідок нами виявлено $10,5 \pm 0,3$ % проб риби, які містили залишки антибактеріальних речовин. Найчастіше, нами, в імпортованій в Україну замороженій рибі були виявлені антибіотики-аміноглікозиди (апраміцин, канаміцин, гентаміцин, спектиноміцин, паромоміцин, дигідрострептоміцин) – $46,4 \pm 0,7$ % випадків та налідиксову кислоту – в 19 % випадків від позитивних проб. У той же час, ми виявили у рибі залишкові кількості налідиксової кислоти, яку не визначають у рибі. Найбільш часто залишки антибактеріальних препаратів містили такі види риб як аргентина і камбала від $11,2 \pm 0,2$ до $14,4 \pm 0,2$ % випадків, а у найменшій кількості до 5 % виявляли антибактеріальні речовини у таких морських риб, як дорадо і горбуша.

Встановлено наявність залишків антибактеріальних речовин у замороженій рибі, визначення, яких не передбачено національним законодавством, і Регламентом ЄС № 37/2010. Тому, враховуючи вище наведені результати досліджень, вважаємо за необхідність включити до плану державного моніторингу імпортової продукції визначення залишкових кількостей антибактеріальних речовин.

3.6. Вплив залишкових кількостей антибактеріальних речовин у замороженій рибі на її мікробіологічні та хімічні показники

Попередніми результатами наших досліджень встановлено, що заморожена риба, яка надходить на український ринок, в 10,5 % випадків, містила залишки антибактеріальних речовин. Тому нами було проведено кількісне визначення залишків антибактеріальних речовин методом рідинної

хроматографії з метою встановлення відповідності максимально допустимим рівням цих речовин, згідно Регламенту ЄС. Дослідження наведено в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Виявлення антибактеріальних речовин у м'язах замороженої риби,
 $M \pm m$, $n=63$

Назва антибактеріальної речовини	Виявлено у м'язах, мкг/кг	Максимально допустимий рівень, мкг/кг, згідно Регламенту ЄС № 37/2010
Налідиксова кислота	88,3±4,2	Не регламентується у рибі
Апраміцин	920,1±73,5	Не регламентується у рибі
Канаміцин	123,7±56,4	Не регламентується у рибі
Сульфафеназол	77,5±5,1	100
Гентаміцин	95,1±7,3	100
Тіамулін	79,8±4,1	Не регламентується у рибі
Пеніцилін V	24,1±2,0	50
Дифлоксацин	98,7±7,6	100
Дигідрострептоміцин	354,6±25,2	500
Амоксицилін	29,1±2,4	50
Нафцилін	175,4±11,6	Не регламентується у рибі, тільки для жуйних - 300
Спектиноміцин	342,1±21,5	300
Тетрациклін	112,5±7,2	100
Паромоміцин	465,8±30,3	500

З даних табл. 3.6 видно, що виявлені нами у замороженій рибі залишки антибактеріальної речовини – налідиксової кислоти і антибіотиків: апраміцину, канаміцину, тіамуліну та нафциліну які не регламентуються Регламентом ЄС № 37/2010. Також встановлено наявність у рибі залишкових кількостей таких антибіотиків, як гентаміцин, дифлоксацин і пароміцин на верхній межі максимально допустимих рівнів для даних антибіотиків – 100 мкг/кг. Залишки

антибіотиків пеніцилінового ряду – пеніцилін V, амоксицилін – виявляли у рибі в 2 рази менше, порівняно з іншими антибіотиками, максимально допустимий рівень для пеніциліну V, амоксициліну – 50 мкг/кг. Перевищення максимально допустимого рівня залишків антибіотиків у замороженій рибі виявлено для тетрацикліну – $112,5 \pm 7,2$ мкг/кг (МДР – 100 мкг/кг) та для спектиноміцину – $342,1 \pm 21,5$ мкг/кг (МДР – 300 мкг/кг).

Отже, за результатами одержаних даних встановлено, що заморожена риба містить антибактеріальні речовини, які не регламентуються ні національним ні європейським законодавством, тому не можна зробити висновок щодо відповідності антибіотиків МДР. Крім того, виявлено перевищення максимально допустимого рівня для таких антибіотиків, як тетрациклін та спектиноміцин.

Наступним етапом нашої роботи були дослідження направлені на визначення впливу залишкових кількостей антибактеріальних речовин на мікробіологічні та хімічні показники замороженої риби. Адже, відомо, що антибактеріальні речовини використовують з метою зниження кількості мікрофлори у сировині та харчових продуктах.

У табл. 3.7 наведено результати досліджень обсіменіння мікрофлорою замороженої риби, яка містила залишки антибактеріальних речовин.

Таблиця 3.7

Мікробіологічні показники замороженої риби із наявністю антибактеріальних речовин, $M \pm m$, $n=63$

Назва антибактеріальної речовин	Кількість МАФАНМ, КУО/г	Кількість <i>S. aureus</i> , КУО/г	Титр БГКП
Налідиксова кислота	$8,5 \pm 0,1 \times 10^3$	Не виділено	> 1
Апраміцин	$2,1 \pm 0,1 \times 10^3$	Не виділено	0,1
Канаміцин	$2,5 \pm 0,2 \times 10^2$	Не виділено	> 1
Сульфафеназол	$7,6 \pm 0,1 \times 10^3$	Не виділено	1
Гентаміцин	$7,2 \pm 0,2 \times 10^2$	Не виділено	> 1

Тіамулін	$4,3 \pm 0,1 \times 10^4$	$8,3 \pm 0,3 \times 10^1$	0,01
Пеніцилін V	$2,7 \pm 0,2 \times 10^4$	$2,8 \pm 0,1 \times 10^2$	0,01
Дифлоксацін	$7,9 \pm 0,2 \times 10^1$	Не виділено	> 1
Дигідрострептоміцин	$5,1 \pm 0,1 \times 10^3$	$8,2 \pm 0,2 \times 10^1$	0,1
Амоксицилін	$8,4 \pm 0,3 \times 10^3$	Не виділено	0,01
Нафцилін	$2,8 \pm 0,2 \times 10^4$	$5,7 \pm 0,1 \times 10^2$	0,01
Спектиноміцин	$2,8 \pm 0,1 \times 10^3$	Не виділено	> 1
Тетрациклін	$3,5 \pm 0,3 \times 10^2$	Не виділено	> 1
Паромоміцин	$3,8 \pm 0,3 \times 10^3$	$6,1 \pm 0,2 \times 10^1$	0,01

З результатів наведених в табл. 3.7 видно, що всі проби замороженої риби, які містили залишки антибактеріальних речовин за обсіменіння МАФАНМ відповідали мікробіологічному нормативу (5×10^4 КУО/г) згідно ДСТУ 4868:2007 [83]. Титр БГКП також не перевищував допустимий мікробіологічний критерій у 0,001 г риби, а золотистий стафілокок у 0,01 г. Крім того, заморожена риба, яка містила залишки препарату фторхінолонової групи – дифлоксаціну, була менш контамінована МАФАНМ ($7,9 \pm 0,2 \times 10^1$ КУО/г), порівняно з кількістю МАФАНМ у рибі, яка містила інші антибіотики, золотистий стафілокок в 1 г не виділено, а титр БГКП був більше 1. На один порядок більше було обсіменіння риби МАФАНМ за виявлення у ній залишків тетрацикліну, порівняно з кількістю МАФАНМ за наявності у рибі дифлоксаціну. За наявності у замороженій рибі залишків антибіотиків-аміноглікозидів (канаміцину, гентаміцину) кількість МАФАНМ становила $2,5 \pm 0,2 \times 10^2$ КУО/г і $7,2 \pm 0,2 \times 10^2$ КУО/г відповідно, а золотистий стафілокок і БГКП не виділено в 1 г риби. За наявності залишків інших аміноглікозидів у рибі кількість МАФАНМ становила від $2,1 \pm 0,1 \times 10^3$ до $5,1 \pm 0,1 \times 10^3$ КУО/г. При цьому золотистий стафілокок виділяли у кількості $8,2 \pm 0,2 \times 10^1$ КУО/г за виявлення у рибі дигідрострептоміцину і $6,1 \pm 0,2 \times 10^1$ КУО/г – паромоміцину. Титр БГКП за наявності залишків цих антибіотиків не перевищував 0,1.

Мікробіологічні показники замороженої риби, яка містила залишки антибіотиків пеніцилінової групи (пеніциліну V, амоксициліну, нафциліну) були найбільші, так кількість МАФАНМ становила від $8,4 \pm 0,3 \times 10^3$ до $2,8 \pm 0,2 \times 10^4$ КУО/г, що на один порядок більше, ніж за наявності антибіотиків-аміноглікозидів. Також, за наявності цих препаратів виділяли золотистий стафілокок – до $5,7 \pm 0,1 \times 10^2$ КУО/г риби, а титр БГКП становив 0,01.

У рибі, яка містила залишки налідиксової кислоти і сульфафеназолу кількість МАФАНМ була $8,5 \pm 0,5 \times 10^3$ і $7,6 \pm 0,1 \times 10^3$ КУО/г відповідно, золотистий стафілокок не виділено у 1 г, титр БГКП – більше 1. Залишки препарату тіамуліну найменше впливали на кількість МАФАНМ, порівняно з залишками інших антибактеріальних речовин, так як їх кількість була найбільшою і становила $4,3 \pm 0,1 \times 10^4$ КУО/г.

Отже, результати проведених дослідження вказують на те, що за наявності у замороженій рибі залишків антибактеріальних речовин мікробіологічні показники не перевищують нормативних критеріїв згідно ДСТУ 4868:2007. Найменше мікробне обсіменіння риби виявляли за наявності у ній залишкових кількостей антибіотиків фторхінолонової, тетрациклінової груп та аміноглікозидів.

У табл. 3.8 наведено результати досліджень замороженої риби за наявності в ній залишків антибактеріальних речовин за хімічними показниками.

Таблиця 3.8

Хімічні показники замороженої риби за наявності залишків антибактеріальних речовин, $M \pm m$, $n=63$

Назва антибактеріальної речовини	Реакція з купрум сульфатом	Реакція на пероксидазу	Загальний вміст летких сполук азоту, мг/100 г
Налідиксова кислота	–	+	$11,85 \pm 0,02$
Апраміцин	–	+	$11,24 \pm 0,02$
Канаміцин	–	+	$11,21 \pm 0,02$
Сульфафеназол	+	–	$11,99 \pm 0,03$

Гентаміцин	–	+	11,14±0,02
Тіамулін	+	–	10,72±0,02
Пеніцилін V	+	–	12,05±0,03
Дифлоксацин	–	+	11,09±0,02
Дигідрострептоміцин	–	–	11,95±0,02
Амоксицилін	+	–	12,10±0,03
Нафцилін	+	–	12,11±0,02
Спектиноміцин	–	+	10,05±0,02
Тетрациклін	–	+	10,04±0,02
Паромоміцин	–	+	11,97±0,03

Примітки: (+) – позитивна реакція; (–) – негативна реакція

Як видно з даних табл. 3.8, що попри допустимі мікробіологічні показники замороженої риби, у якої виявлені залишки антибактеріальних речовин, за реакцій: з купруму сульфатом, на пероксидазу не вся риба відповідала ознакам свіжої. Так, виявлено, позитивну реакцію з купруму сульфату та негативну реакцію на пероксидазу у пробах замороженої риби, у яких наявні залишки таких антибактеріальних речовин, як сульфафеназол, тіамулін, пеніцилін V, амоксицилін, нафцилін. Це може бути пов'язано з тим, що у рибі пройшли значні автолітичні і ліполітичні зміни м'язової тканини під впливом власних ферментів і риба за таких хімічних показників характеризується, як не свіжа. За загальним вмістом летких сполук азоту риба відносилась до свіжої, так як показники не перевищували максимально допустимий рівень згідно Регламенту ЄС №2074/2005 (30 мг/100 г риби).

Отже, отримані результати досліджень вказують на те, що заморожена риба з наявністю залишків антибактеріальних речовин за хімічними показниками може бути свіжою. Тому, тільки за проведення комплексних досліджень, можна виявити небезпечну рибу, яка непридатна для споживання.

Підсумовуючи вище наведені факти можна відмітити, що заморожена риба, яка містила залишки антибактеріальних речовин за кількістю МАФАНМ відповідала мікробіологічному нормативу 5×10^4 КУО/г. Титр бактерій групи

кишкових паличок не перевищував допустимий мікробіологічний критерій в 0,001 г риби, а золотистий стафілокок у 0,01 г. Виявлено наявність антибактеріальних речовин у рибі МДР, яких не регламентується Регламентом ЄС № 37/2010. Також, виявлено перевищення максимально допустимого рівня у м'ясі замороженої риби для таких антибіотиків, як тетрациклін та спектиноміцин.

Попри допустимі мікробіологічні параметри замороженої риби, у якої наявні залишки антибактеріальних речовин за хімічними показниками не вся риба характеризується, як свіжа. Тому необхідно передбачити дослідження з визначення залишкових кількостей антибактеріальних речовин у «Плані моніторингу імпортової продукції».

3.7. Характеристика мікробіологічних показників замороженої риби за наявності залишків антибактеріальних речовин.

Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що за задовільних показників, які характеризують свіжість замороженої риби та за відсутності в ній залишків антибактеріальних речовин, виявлено 25 % випадків з понаднормованою (більше 50 тис. КУО/г) кількістю МАФАНМ. Також встановлено, що у даних пробах риби кількість психротрофних мікроорганізмів у 65 % випадків перевищувала показник – 50 тис. КУО/г. Тому, нами було проведено дослідження на визначення обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою, яка за показниками реакцій: з купруму сульфату, на пероксидазу, на загальний вміст летких сполук азоту та величини рН, характеризується, як несвіжа. При цьому у даних пробах риби не виявляли залишки антибактеріальних речовин. Результати досліджень наведено на рис. 3.17.

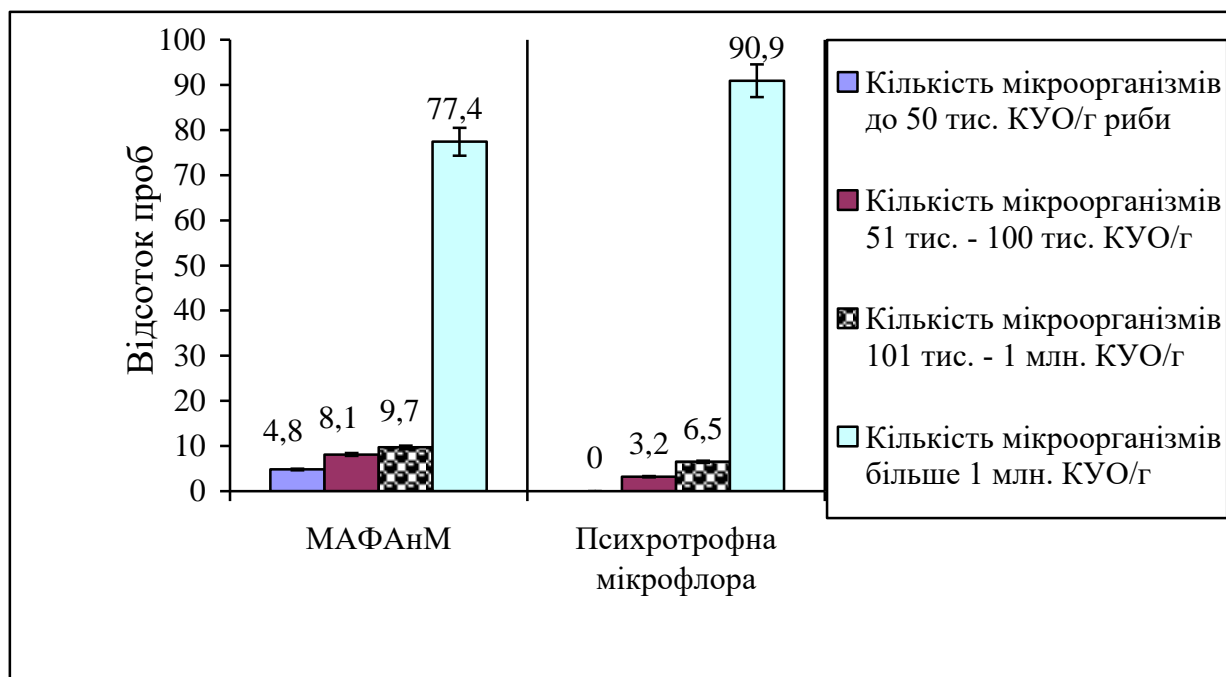


Рис. 3.17. Розподіл проб замороженої риби за кількістю МАФАНМ і психротрофної мікрофлори, яка за хімічними показниками характеризувалась як несвіжа та не містила залишків антибактеріальних речовин

На рис. 3.17 показано, що $4,8 \pm 0,2$ % проб замороженої риби були контаміновані мезофільною мікрофлорою до 50 тис. КУО/г, тобто відповідали мікробіологічному нормативу згідно ДСТУ. Проте більша кількість проб замороженої риби ($77,4 \pm 2,1$ %), які за хімічними показниками відносилися до несвіжої, були контаміновані МАФАНМ більше 1 млн. КУО/г. Обсіменіння психротрофною мікрофлорою даної риби було кількісно більшим, порівняно з обсіменінням МАФАНМ. Так, проб із кількістю психротрофів до 50 тис. КУО/г взагалі не виявлялося, а з вмістом до 1 млн. КУО/г проб – у 1,8 раза ($p < 0,05$) менше, порівняно з кількістю МАФАНМ на такому ж рівні. Основна ж частина замороженої риби ($90,9 \pm 2,7$ % проб) була контамінована психротрофною мікрофлорою, кількість якої перевищувала 1 млн. КУО/г.

Власне, при порушенні технологічних режимів заморожування, транспортування та зберігання риби і відбувається розвиток в ній психротрофної мікрофлори, а саме тому органолептичні і хімічні вади такої риби пов'язують з розвитком цієї мікрофлори.

На рис. 3.18 наведено результати досліджень щодо обсіменіння БГКП і золотистим стафілококом проб замороженої риби.

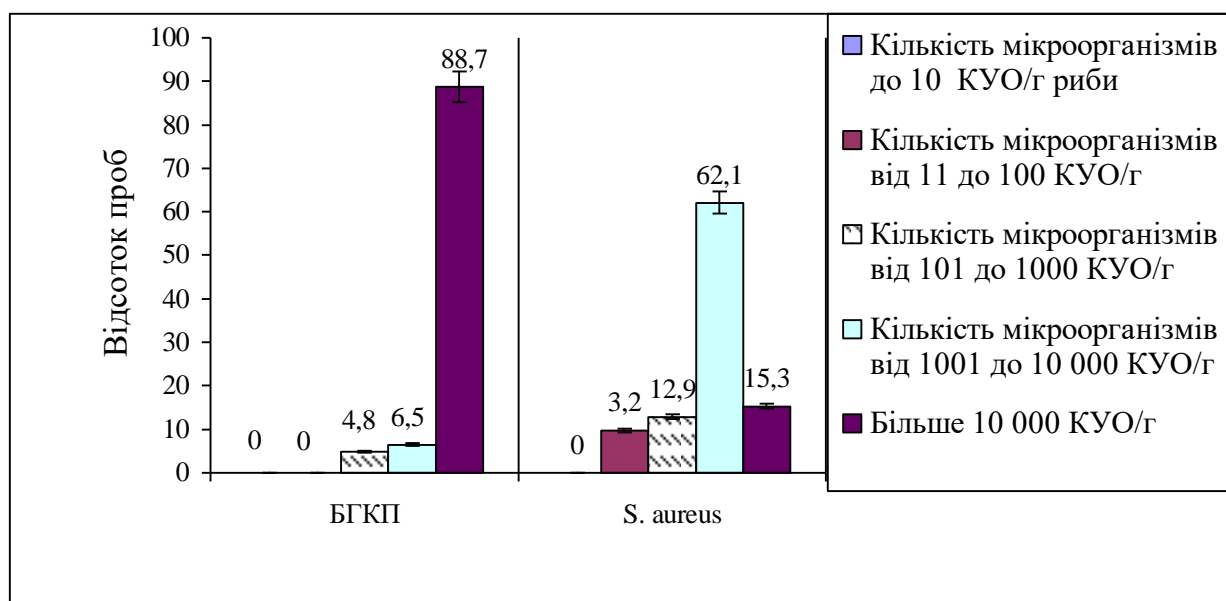


Рис. 3.18. Розподіл проб замороженої риби за кількістю БГКП і золотистого стафілококу, яка за хімічними показниками характеризувалась як несвіжа та не містила залишків антибактеріальних речовин

Санітарно-показові мікроорганізми БГКП і золотистий стафілокок, які регламентуються ДСТУ, також виділяли із несвіжої риби, яка не містила залишків антибактеріальних речовин у кількості, що перевищує норматив ДСТУ. При цьому за обсіменіння БГКП, кількість проб риби, які відповідали вимогам стандарту (до 1 тис. КУО/г або відсутність у 0,001 г продукту) становила $4,8 \pm 0,2$ %, а за кількістю золотистого стафілококу – $9,7 \pm 0,3$ % (норматив до 100 КУО/г або відсутність у 0,01 г продукту). Виявлено $88,7 \pm 3,4$ % проб замороженої риби з кількістю БГКП більше 10 тис. КУО/г, що в 5,8 рази ($p < 0,05$) більше, ніж проб з такою наявністю золотистого стафілококу.

У замороженій рибі, яка за органолептичними і хімічними показниками характеризувалась як несвіжа виділяли золотистий стафілокок у кількості від 1 тис. до 10 тис. КУО/г в $62,1 \pm 2,7$ % випадків.

Отже, отримані результати досліджень вказують, на те, що риба, яка за органолептичними і хімічними показниками характеризувалась як несвіжа, в

77,4±2,1 % випадків була контамінована МАФАНМ і в 90,9±2,7 % випадків психротрофною мікрофлорою, що перевищувало кількість 1 млн. КУО/г. 88,7±3,4 % проб риби були контаміновані БГКП – більше 10 тис. КУО/г. Ймовірно саме з цими мікроорганізмами пов'язані зміни у м'ясі риби, що характеризують її як несвіжу.

Другою частиною наших досліджень було визначення мікробіологічних показників замороженої риби, яка за хімічними показниками відносилася до несвіжої, та яка містила залишки антибактеріальних речовин.

На рис. 3.19 наведено результати досліджень щодо обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою, яка за показниками реакцій: з купруму сульфату, на пероксидазу, на загальний вміст летких сполук азоту та рН, характеризувалась як несвіжа, та містила залишки антибактеріальних речовин.

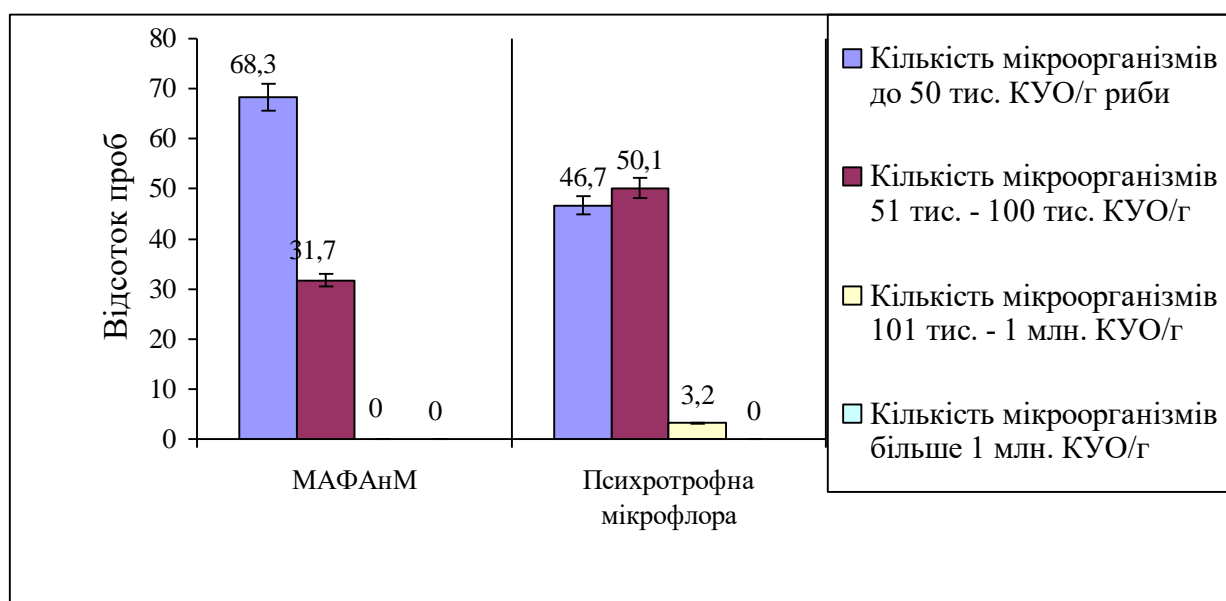


Рис. 3.19. Розподіл проб замороженої риби за кількістю МАФАНМ і психротрофної мікрофлори, яка за хімічними показниками характеризувалась як несвіжа, та містили залишки антибактеріальних речовин.

З даних рис. 3.19 видно, що заморожена риба у 68,3±2,9 % випадків відповідала за кількістю МАФАНМ, згідно вимог ДСТУ (до 50 тис. КУО/г), та в 31,7 % випадків – їх кількість не перевищувала 100 тис. КУО/г. За кількістю

психротрофної мікрофлори виявлено в 1,5 раза ($p < 0,05$) менше проб риби із показником до 50 тис. КУО/г. Також всановлено зростання в 1,6 раза ($p < 0,05$) проб риби, яка контамінована психротрофною мікрофлорою – до 100 тис. КУО/г, порівняно з такою ж кількістю мезофільної мікрофлори. Також виявлено $3,2 \pm 0,2$ % проб контамінованих психротрофами більше 100 тис. КУО/г.

За результатами отриманих даних всановлено, що риба, яка за хімічними показниками характеризувалась як не свіжа, та яка містила антибактеріальні речовини за кількістю МАФАНМ відповідала вимогам чинного стандарту у 14 разів ($p < 0,05$) більше, порівняно з такою рибою, яка не містила залишки антибактеріальних речовин. Отже, результати досліджень вказують на те, що залишки антибактеріальних речовин, які наявні в замороженій рибі, гальмують розвиток мікрофлори. Разом з тим виявлено, що психротрофна мікрофлора більш чисельно представлена у складі мікрофлори замороженої риби незалежно від того наявні чи відсутні залишки антибактеріальних речовин. Виникнення у замороженій рибі, яка містить залишки антибактеріальних речовин, змін за хімічними показниками, ймовірно пов'язане з процесами автолізу під впливом нативних ензимів.

Аналогічні зміни у замороженій рибі, яка містила залишки антибактеріальних речовин та за хімічними показниками характеризувалась як несвіжа отримали і за обсіменіння її БГКП і золотистим стафілококом (рис. 3.20).

За результатами досліджень, які наведені на рис. 3.20 видно, що за кількістю БГКП і золотистого стафілококу дана риба в $90,9 \pm 2,7$ % випадків відповідала вимогам ДСТУ, що в 18,9 та 9,3 раза ($p < 0,05$) відповідно більше, порівняно за такими показниками риби без вмісту антибактеріальних речовин (рис 3.19).

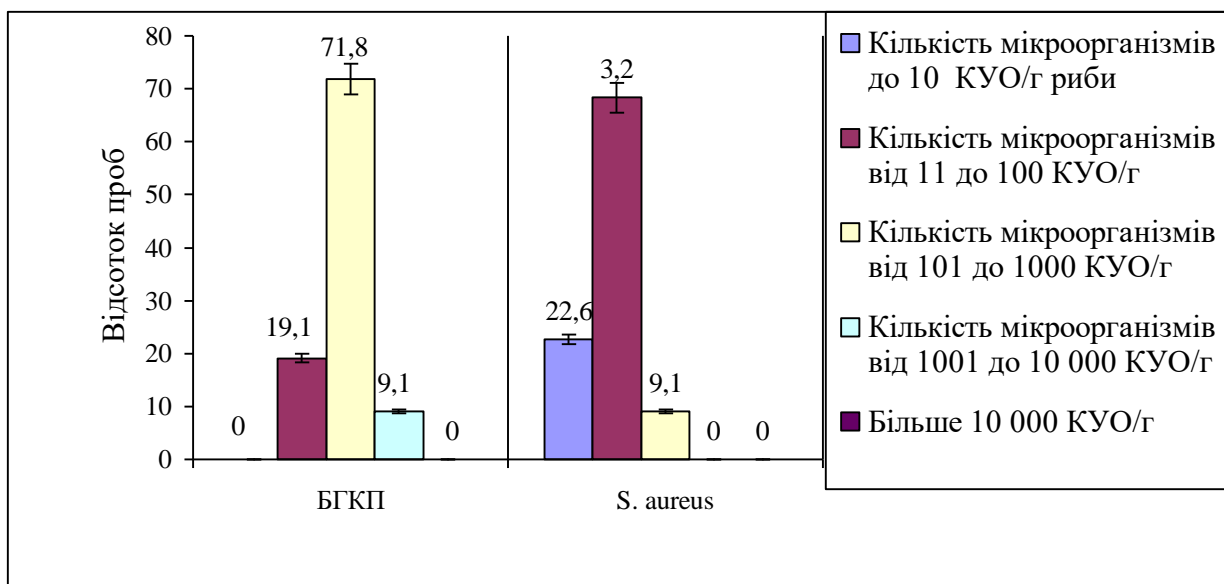


Рис. 3.20. Розподіл проб замороженої риби за кількістю золотистого стафілококу і БГКП, яка за хімічними показниками характеризувалась, як несвіжа, та містила залишки антибактеріальних речовин

Отже, підсумовуючи отримані дані можна відмітити, що заморожена риба, яка не містила залишкових кількостей антибактеріальних речовин і за хімічними показниками характеризувалась як несвіжа у $95,2 \pm 2,7$ % випадків за кількістю МАФАНМ не відповідають вимогам ДСТУ, а за контамінації психротрофими мікроорганізмами всі 100 % проб риби не відповідали показнику до 50 тис. КУО/г. За обсіменіння БГКП, кількість проб риби, які відповідали нормативу, визначеному стандартом, становила $4,8 \pm 0,2$ %, а за кількістю золотистого стафілококу – $9,7 \pm 0,3$ %. Заморожена риба, яка за хімічними показниками відносилася до несвіжої, і яка містила залишки антибактеріальних речовин, у $68,3 \pm 2,9$ % випадках за кількістю МАФАНМ відповідала вимогам стандарту. Санітарно-показові мікроорганізми (БГКП і золотистий стафілокок) у замороженій рибі із наявністю залишків антибактеріальних речовин виділяли в значно меншій мірі, порівняно з рибою без залишків антибіотиків.

Виявлено, що кількість психротрофної мікрофлори замороженої риби перевищує кількість МАФАНМ і більш повно характеризує хімічні процеси, які визначають її свіжість. Тільки комплексний контроль замороженої риби, яка

імпортується в Україну, за хімічними, мікробіологічними показниками та визначенням залишків антибактеріальних речовин дозволить виявити і не допустити в обіг небезпечну продукцію.

3.8. Токсико-біологічна оцінка м'яса замороженої риби за наявності залишків антибактеріальних речовин

Залишки антибактеріальних речовин у харчових продуктах негативно впливають на організм споживачів, спричиняючи різні алергічні стани та порушують мікробіоценоз шлунково-кишкового тракту [114, 142, 158, 161]. Крім того, в процесі постійного надходження залишків антибактеріальних речовин з харчовими продуктами в кишечнику людини формуються антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів [133, 126, 127, 128, 129, 131].

Визначити токсичний вплив залишків антибактеріальних препаратів, які наявні в харчових продуктах, на живі об'єкти та визначити їх біологічну цінність можна за допомогою методу біологічної оцінки з використанням простіших, зокрема інфузорій *Tetrachylena pyriformis*.

Нами було проведено токсико-біологічну оцінку м'яса замороженої риби за наявності у ній залишків антибактеріальних речовин на культурі інфузорії *Tetrachylena pyriformis*.

Проведеним нами аналізом досліджень встановлено, що заморожена риба, яка імпортується на український ринок, не досліджується на наявність залишків антибактеріальних речовин. У замороженій рибі виявлено залишкові кількості антибактеріальних речовин різних фармакологічних груп, зокрема: тетрациклінової, пеніцилінової, фторхінолонової та аміноглікозидів. Враховуючи отримані дані було проведено токсико-біологічну оцінку м'яса замороженої риби за наявності у ній антибіотиків на культурі інфузорії *Tetrachylena pyriformis*. Результати дослідження наведено в табл. 3.9.

Токсичність м'яса замороженої риби за наявності у ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин різних фармакологічних груп, $M \pm m$, $n=15$

Об'єкт дослідження	Залишкова кількість антибактеріальних речовин у рибі, мкг/кг	Оцінка активності та форми культур <i>Tetrachylena pyriformis</i> , бали			
		активність та рухливість	неприродні рухи	пригніченість росту	зміна форми
Риба, яка не містила залишкових кількостей антибактеріальних речовин (контроль)	Не виявлено	0	0	0	0
Риба з вмістом антибіотиків тетрациклінової групи	112,5±7,2	1	0	1	0
Риба з вмістом антибіотиків аміноглікозидів	95,1±7,5	0	0	0	0
Риба з вмістом антибіотиків пеніцилінової групи	24,1±2,0	0	0	0	0
Риба з вмістом препаратів фторхінолонової групи	98,7±7,6	0	0	0	0

Примітки. «0» балів – ознаки притаманні культурі *Tetrachymena pyriformis* у нормі; «1 – 4» – бали міри токсичності, де «1» – найменша міра токсичності: пригнічення росту, активності та рухливості інфузорій до 20 % культур; «4» – найвища міра токсичності: зниження розмноження інфузорій на 50 % і більше, зміна форми (наявність цист, деформованих клітин).

З даних табл. 3.9 видно, що проби замороженої риби, які містили залишки антибактеріальних речовин; аміноглікозидів, пеніцилінової і фторхінолонової груп були не токсичними для культури *Tetrachymena pyriformis*. Так як, інфузорії були активні, їх рух був природно-поступальний, колоподібний, пригнічення росту, змін форми тіла також не виявляли, порівняно з інфузоріями у контрольній групі. Водночас, у м'ясі риби з наявністю антибіотиків тетрациклінової групи спостерігали пригнічення росту та зниження активності і рухливості (до 20 %) інфузорій *Tetrachymena pyriformis*, порівняно з контрольними зразками риби без вмісту антибіотиків. Однак, неприродних рухів (манежних чи коливальних) та патологічних змін у формі культури інфузорії не виявляли. Дослідне м'ясо замороженої риби, за результатами досліджень згідно «Методичних рекомендацій по токсико-біологічній оцінці м'яса, м'ясних продуктів і молока з використанням інфузорії *Тетрахімена піріформіс*» (експрес метод) (Лемеш В.М. 1997), нами було охарактеризоване, як помірно токсичне.

У табл. 3.10. наведено результати досліджень з визначення відносної біологічної цінності м'яса замороженої риби, яка містить антибактеріальні речовини різних фармакологічних груп.

З даних табл. 3.10 видно, що відносна біологічна цінність м'яса замороженої риби, яка містить антибіотики аміноглікозиди, пеніцилінової і фторхінолонової груп, виявилася нижчою (на 0,27-0,73 %), порівняно з відносною біологічною цінністю м'яса контрольних зразків риби без наявності антибіотиків. У той же час, відносна біологічна цінність м'яса риби з наявністю залишків антибіотиків тетрациклінової групи виявилася (на 4,12 %) меншою ($p < 0,05$), порівняно з м'ясом риби контрольних зразків.

Показник відносної біологічної цінності м'яса замороженої риби за наявності у ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин різних фармакологічних груп, $M \pm m$, $n=15$

Об'єкт дослідження	Залишкова кількість антибактеріальних речовин у риби, мкг/кг	Кількість живих інфузорій в 1 см ³ середовища, шт.	Кількість загиблих інфузорій в 1 см ³ середовища, шт.	Відносна біологічна цінність, %
Риба, яка не містила залишкових кількостей антибактеріальних речовин (контроль)	Не виявлено	45,71±0,21 ×10 ⁴	1,33±0,21 ×10 ³	100
Риба з вмістом антибіотиків тетрациклінової групи	112,5±7,2	43,83±0,18 ×10 ⁴	4,25±0,22 ×10 ³	95,88*
Риба з вмістом антибіотиків аміноглікозидів	95,1±7,5	45,46±0,20 ×10 ⁴	2,45±0,41 ×10 ³	99,45
Риба з вмістом антибіотиків пеніцилінової групи	24,1±2,0	45,38±0,32 ×10 ⁴	1,84±0,36 ×10 ³	99,27
Риба з вмістом препаратів фторхінолонової групи	98,7±7,6	45,59±0,86 ×10 ⁴	2,51±0,49 ×10 ³	99,73

Примітка. * $p < 0,05$ – порівняно з контролем

Таким чином, при проведенні досліджень виявили, що антибіотики тетрациклінового ряду, наявні в м'ясі замороженої риби проявляли помірну

токсичність на культуру *Tetrachymena pyriformis*, а відносна біологічна цінність була (на 4,12 %) нижчою, порівняно з контрольними зразками риби. Це, на нашу думку, пов'язано з тим, що згідно Регламенту ЄС 37/2010 «Про фармакологічно активні речовини та їх класифікацію відносно максимальне допустимих рівнів в харчових продуктах тваринного походження» максимально допустимий рівень (МДР) антибіотиків тетрациклінового ряду у рибі допускається до 100 мкг/кг. У замороженій рибі, яка взята у дослід, кількість антибіотиків тетрациклінової групи становила $112,5 \pm 7,2$ мкг/кг, тобто перевищувала МДР. Отже, дана кількість цього антибіотику проявляла помірну токсичну дію на культуру інфузорії та вірогідно знижувала біологічну цінність м'яса. Однак, нами не виявлено токсичного впливу на інфузорії антибіотиків інших груп, наявних в м'ясі замороженої риби, які використовувалась у досліді, ймовірно тому, що їх кількість відповідає МДР. Так, кількість залишків антибактеріальних препаратів пеніцилінового, аміноглікозидного і фторхінолонового ряду, наявних у замороженій рибі, не перевищувала максимально допустимий рівень, визначений Регламентом ЄС 37/2010.

Отже, проведені нами дослідження вказують на необхідність контролю залишкових кількостей антибактеріальних речовин у замороженій рибі, яка імпортується в Україну. Риба у якій виявлено перевищення максимально допустимих рівнів антибактеріальних речовин є небезпечною, проявляє помірно токсичну дію на інфузорії *Tetrachymena pyriformis*, а тому не може бути рекомендована для споживання.

3.9. Мікробіологічні показники замороженої риби та чутливість психротрофної мікрофлори до антибіотиків за відсутності та наявності залишкових кількостей антибактеріальних речовин

Нами виявлено, що заморожена риба, яка імпортується на український ринок до 10,5 % випадків містить залишки антибактеріальних речовин різних фармакологічних груп (налідиксову кислоту, сульфаніламід, антибіотики:

аміноглікозиди, тетрацикліни, пеніциліни, фторхінолони та ін.). Кількісне визначення залишкових кількостей антибактеріальних речовин у м'ясі риби хроматографічним методом встановило перевищення максимально допустимого рівня згідно Регламенту ЄС 37/2010 [75] за наявності тетрацикліну та спектиноміцину. Також встановлено, наявність у рибі залишкових кількостей антибіотиків гентаміцин, дифлоксацин і пароміцин, які були на верхній межі максимально допустимого рівня для даних антибіотиків – 100 мкг/кг. Тому, враховуючи дані результати досліджень нами проведено визначення контамінації мікрофлорою замороженої риби, імпортованої в Україну, залежно від наявності в ній залишків антибактеріальних речовин (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

Контамінація мікрофлорою замороженої риби, залежно, від наявності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин, $M \pm m$, $n=30$

Проби замороженої риби	Кількість мезофільних мікроорганізмів, КУО/г риби	Кількість психротрофних мікроорганізмів, КУО/г риби	Кількість <i>S. aureus</i> , КУО/г риби	Титр коліформних бактерій
Риба, яка не містила залишкових кількостей антибіотиків	$3,8 \pm 2,1 \times 10^4$	$8,3 \pm 3,5 \times 10^{4*}$	$78,5 \pm 4,2$	0,1–0,001
Риба з залишковими кількостями антибіотиків тетрациклінової групи	$7,1 \pm 3,5 \times 10^2$	$9,5 \pm 6,1 \times 10^{2*}$	$< 10^1$	< 1
Риба ³ залишковими кількостями антибіотиків пеніцилінової групи	$4,4 \pm 2,6 \times 10^3$	$7,1 \pm 5,3 \times 10^{3*}$	$< 10^1$	0,1
Риба ³ залишковими кількостями антибіотиків аміноглікозидів	$3,7 \pm 1,8 \times 10^3$	$6,1 \pm 2,9 \times 10^{3*}$	$< 10^1$	1

Риба з залишковими кількостями препаратів фторхінолонової групи	$8,7 \pm 4,1 \times 10^2$	$9,2 \pm 5,7 \times 10^2$	$< 10^1$	< 1
---	---------------------------	---------------------------	----------	-------

Примітка. $p < 0,05$ – щодо мезофільної мікрофлори

Також встановлено, що кількість психротрофних мікроорганізмів у замороженій рибі без наявності антибіотиків перевищувала в 2,2 раза ($p < 0,05$) кількість мезофільних мікроорганізмів. У замороженій рибі з наявністю залишкових кількостей антибіотиків тетрациклінової, пеніцилінової і аміноглікозидної груп кількість психротрофних мікроорганізмів перевищувала мезофільну мікрофлору в 1,3 та в 1,6 раза ($p < 0,05$) відповідно.

За наявності у рибі залишків препаратів фторхінолонової групи виявили найменше обсіменіння її мікроорганізмами. Кількість психротрофних мікроорганізмів не перевищувала – 10^3 КУО/г і вірогідної різниці між кількістю психротрофних і мезофільних мікроорганізмів не встановлено.

Золотистий стафілокок в замороженій рибі з наявністю антибіотиків не виділяли, а в рибі за їх відсутності виділяли у кількості – $78,4 \pm 4,2$ КУО/г, що також відповідає нормативним вимогам. Аналогічні закономірності відмічали і щодо обсіменіння коліформними бактеріями. Титр коліформних бактерій у рибі без антибіотиків був у діапазоні від 0,1 до 0,001, кількість, яка не допускається згідно стандарту – в 0,001 г риби. Отже, виявлено проби риби з понаднормованою кількістю коліформних бактерій у рибі за відсутності в ній антибактеріальних речовин. той же час, усі проби з наявністю антибіотиків мали титр коліформних бактерій, який не перевищував 0,1 г.

За результатами отриманих даних встановлено, що заморожена риба з наявністю залишків антибактеріальних речовин, в середньому на два порядки менше контамінована мікрофлорою. Незалежно від наявності чи відсутності антибіотиків у замороженій рибі, основну частку її мікрофлори становлять

психротрофні мікроорганізми, які перевищують кількість мезофільних бактерій в 1,3–1,6 рази.

Наступним етапом роботи цього підрозділу було визначити і порівняти родовий склад психротрофної мікрофлори, виділеної із замороженої риби за відсутності та за наявності в ній залишків антибактеріальних речовин. Результати досліджень з ідентифікації психротрофної мікрофлори замороженої риби за відсутності у ній антибіотиків наведено на рис. 3.21.

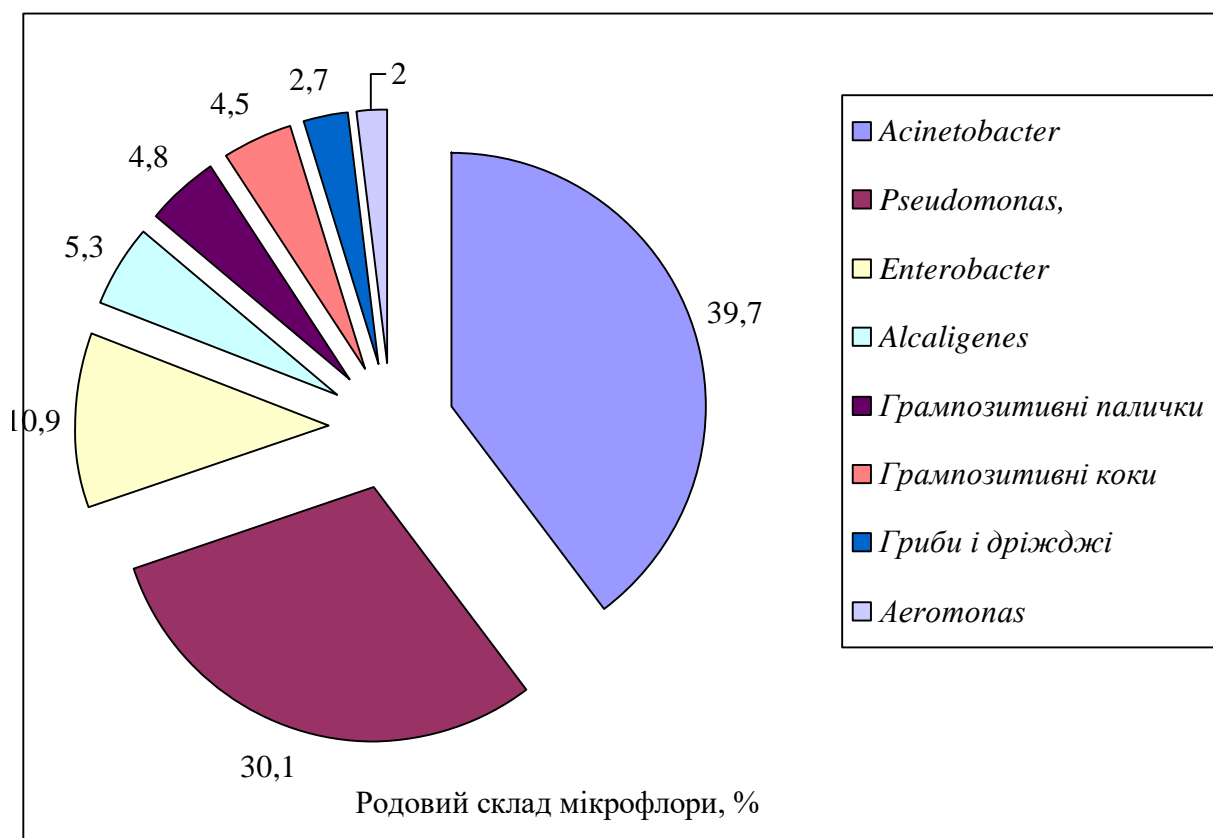


Рис. 3.21. Родовий склад психротрофної мікрофлори замороженої риби за відсутності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин

З даних рис. 3.21 видно, що найбільшу частку психротрофної мікрофлори становлять бактерії роду *Acinetobacter* – $39,7 \pm 2,8$ %, третя частка серед ідентифікованих мікроорганізмів припадає на рід *Pseudomonas*, $10,3 \pm 1,1$ % становлять бактерії роду *Enterobacter*. Ці ідентифіковані три роди бактерій становлять основну частку психротрофної мікрофлори замороженої риби близько 80 %.

У межах від 4,5 % до 5,3 % виділяли три види мікроорганізмів. Рід *Alcaligenes*, грампозитивні паличковидні форми та грампозитивні кокові форми бактерій, найменшу нішу в складі виявленої психротрофної мікрофлори склали мікроорганізми роду *Aeromonas* і мікроскопічні гриби від 2 до 2,7 %.

При ідентифікації психротрофної мікрофлори замороженої риби з наявністю залишкових кількостей антибіотиків (рис. 3.22), встановлено, зростання в 1,4 раза ($p < 0,05$) кількості бактерій роду *Enterobacter*, зростання в 1,7 раза ($p < 0,05$) бактерій роду *Pseudomonas*, вони становили половину виділеної мікрофлори. Також виявлено, зменшення в 1,8 раза ($p < 0,05$) бактерій роду *Acinetobacter*, порівняно з їх наявністю у замороженій рибі, яка не містила антибіотиків. Проте, дані три роди бактерій займали, практично ту саму частку складу психротрофної мікрофлори, що і в рибі без наявності залишків антибактеріальних речовин – 85 ± 3 %.

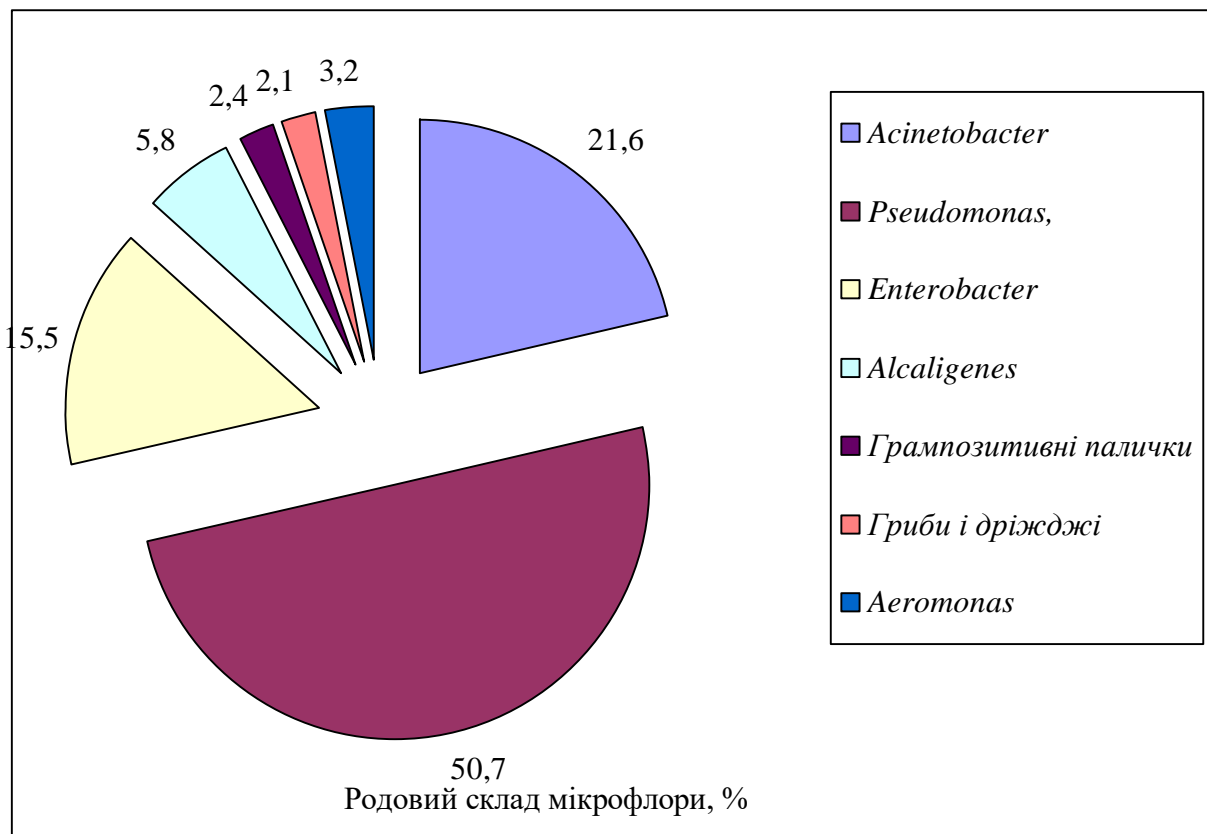


Рис. 3.22. Родовий склад психротрофної мікрофлори замороженої риби за наявності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин

Відносно інших родів, ідентифікованих мікроорганізмів, можна відмітити наступне. Бактерії роду *Alcaligenes* і мікроскопічні гриби виділяли у тій кількості, що і в рибі, яка не містила антибіотики, але частка бактерій роду *Aeromonas* становила в 1,5 раза ($p < 0,05$) більше, а грампозитивні палички в 2,0 рази ($p < 0,05$) менше. Також у складі психротрофної мікрофлори у рибі з наявністю антибіотиків не ідентифікували грампозитивні кокові бактерії, що очевидно пов'язано з їх високою чутливістю до виявлених залишкових кількостей антибактеріальних речовин.

Отже, отримані дані вказують на те, що у рибі, яка містить залишкові кількості антибактеріальних речовин відбувається зміна родового складу психротрофної мікрофлори за рахунок зростання бактерій роду *Pseudomonas*, *Enterobacter* та *Aeromonas*, що ймовірно пов'язано з стійкістю даних мікроорганізмів до антибактеріальних речовин.

Наступним етапом роботи цього підрозділу було визначити чутливість психротрофної мікрофлори до антибіотиків та порівняти чутливість у мікроорганізмів, виділених з м'яса замороженої риби за відсутності та за наявності залишків антибактеріальних речовин

У табл. 3.12 наведено результати досліджень щодо визначення чутливості мікроорганізмів, які виділені з замороженої риби до антибіотиків, за відсутності у м'ясі риби залишків антибактеріальних речовин.

Таблиця 3.12

Чутливість психротрофної мікрофлори, виділеної з замороженої риби до антибіотиків, за відсутності у ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин, %, n=75

Антибактеріальні препарати, кількість діючої речовини в диску	Види бактерій				
	<i>Pseudomonas</i> spp., n=15	<i>Acinetobacter</i> spp., n=15	<i>Enterobacter</i> spp., n=15	<i>S. aureus</i> , n =15	<i>Alcaligenes</i> spp., n = 15
Бензилпеніцилін, 10 ОД	0	86,7	60,0	86,7	86,7

Амоксицилін, 20 мкг	0	86,7	73,3	93,3	93,3
Доксициклін, 10 мкг	86,7	93,3	80,0	86,7	86,7
Тетрациклін, 30 мкг	80,0	86,7	80,0	80,0	93,3
Левофлоксацин, 5 мкг	93,3	100	86,7	93,3	100
Ципрофлоксацин, 5 мкг	93,3	100	93,3	93,3	100
Цефтриаксон, 30 мкг	93,3	100	100	100	100
Цефтазидим, 30 мкг	100	100	100	93,3	100
Гентаміцин, 10 мкг	93,3	100	86,7	83,3	93,3
Канаміцин, 30 мкг	93,3	100	93,3	86,7	100
Фурамаг, 300 ОД	86,7	100	100	93,3	100

З даних табл. 3.12 видно, що в основному, мікроорганізми, які виділені з риби за відсутності в ній залишків антибактеріальних речовин були чутливими до антибіотиків. Так, чутливість *Pseudomonas spp.* до антибіотиків тетрациклінової групи: тетрацикліну і доксицикліну та нітрофуранового препарату – фурамагу була в межах від 80,0 до 86,7 % випадків.

Препарти фторхінолонової групи (лево- і ципрофлоксацин), аміноглікозиди (гентаміцин і канаміцин) та цефалоспорини III-покоління проявляли бактерицидну дію практично на всі виділені культури *Pseudomonas spp.* – чутливість становила від 93,3 до 100 % випадків. Не діяли на культури *Pseudomonas spp.* антибіотики пеніцилінового ряду: бензилпеніцилін і амоксицилін, що пов'язано з природною стійкістю даних бактерій до цієї групи антибіотиків.

Бактерії виду *Acinetobacter spp.* та *Alcaligenes spp.* в однаковій кількості були високочутливими до антибіотиків різних груп. При цьому ефективність більшості антибіотиків, взятих у дослід становила 100 % випадків. Тільки ефективність препаратів пеніцилінової та тетрациклінової груп була дещо нижча і становила від 86,7 до 93,3 %.

Бактерії виду *Enterobacter spp.* були чутливими до антибіотиків, проте виявились стійкішими, ніж види *Acinetobacter spp.* та *Alcaligenes spp.* Так, тільки антибіотики цефалоспорини і нітрофурановий препарат – фурамаг проявляли високу протимікробну активність – чутливість до них становила 100 % випадків. Чутливість *Enterobacter spp.* до інших антибіотиків була в межах від 80,0 до 93,3 %, а до препаратів пеніцилінової групи від 60,0 до 73,3 % випадків.

Золотистий стафілокок, який виділяли із риби за відсутності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин, був високочутливий в 86,7–100% випадків, практично до всіх антибіотиків, які були взяті в дослід.

Отже, отримані результати досліджень вказують на те, що найбільш поширені види психротрофної мікрофлори, які виділені із замороженої риби за відсутності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин, в основному були високочутливими до антибіотиків.

У табл. 3.13 наведено результати досліджень чутливості до антибактеріальних препаратів психротрофних мікроорганізмів, які виділені із замороженої риби за наявності в ній залишкових кількостей антибіотиків тетрациклінової групи.

Таблиця 3.13

Чутливість бактерій, виділених із замороженої риби до антибіотиків, за наявності у ній залишкових кількостей тетрацикліну, %, n=60

Антибактеріальні препарати, кількість діючої речовини	Види бактерій			
	<i>Pseudomonas spp.</i> , n=15	<i>Acinetobacter spp.</i> , n=15	<i>Enterobacter spp.</i> , n=15	<i>Alcaligenes spp.</i> , n = 15
Бензилпеніцилін, 10 ОД	0	40,0	33,3	40,0
Амоксицилін, 20 мкг	0	46,7	46,7	53,3
Доксициклін, 10 мкг	13,3	13,3	20,0	20,0
Тетрациклін, 30 мкг	6,6	13,3	13,3	6,6
Левофлоксацин, 5 мкг	73,3	73,3	73,3	73,3

Ципрофлоксацин, 5 мкг	73,3	80,0	73,3	86,7
Цефтриаксон, 30 мкг	73,3	93,3	86,7	100
Цефтазидим, 30 мкг	93,3	100	100	100
Гентаміцин, 10 мкг	73,3	80,0	86,7	86,7
Канаміцин, 30 мкг	73,3	80,0	80,0	86,7
Фурамаг, 300 ОД	86,7	100	100	100

З даних табл. 3.13 видно, що психротрофні мікроорганізми, виділені з риби за наявності в ній залишкових кількостей тетрацикліну, виявилися значно стійкішими до антибактеріальних препаратів. Так, препарати пеніцилінової групи не діяли на культури *Pseudomonas spp.*, чутливість інших видів бактерій до пеніциліну була в межах від 33,3 до 40,0 %, а до амоксициліну виявилися чутливими близько 50 % досліджених культур. Ефективність антибіотиків тетрациклінової групи була дуже низька, кількість чутливих культур до тетрацикліну і доксицикліну не перевищувала 20,0 % випадків. Препарати фторхінолонової групи (лево- і ципрофлоксацин) проявляли стабільну бактерицидну дію на всі виділені психротрофні бактерії, чутливість їх становила від 73,3 до 86,7 % випадків. Необхідно відзначити досить високу протимікробну активність антибіотиків цефалоспоринів: цефтриаксону та цефтазидиму, а також нітрофуранового препарату – фурамагу. Кількість чутливих штамів *Pseudomonas spp.* до даних препаратів становила від 73,3 до 93,3 %, всі інші виділені бактерії виявилися більш чутливими до цих препаратів від 86,7 до 100 % випадків.

Протимікробна активність аміноглікозидів: гентаміцину і канаміцину також була високою, чутливість всіх виділених бактерій становила від 73,3 до 86,7 % випадків.

Таким чином, результатами наших досліджень встановлено, що за наявності у замороженій рибі залишкових кількостей антибіотиків тетрациклінової групи виділяється мікрофлора, яка стійка до препаратів цієї

фармакологічної групи. Крім того, уся досліджувана мікрофлора проявляла нижчу чутливість до антибіотиків інших груп.

У табл. 3.14 наведено результати досліджень чутливості психротрофних мікроорганізмів, виділених з риби до антибактеріальних речовин, за наявності в ній залишкових кількостей антибіотиків пеніцилінової групи.

Таблиця 3.14

Чутливість бактерій, виділених із замороженої риби до антибіотиків за наявності у ній залишкових кількостей пеніциліну, %, n=60

Антибактеріальні препарати, кількість діючої речовини	Види бактерій			
	<i>Pseudomonas spp.</i> , n=15	<i>Acinetobacter spp.</i> , n=15	<i>Enterobacter spp.</i> , n=15	<i>Alcaligenes spp.</i> , n = 15
Бензилпеніцилін, 10 ОД	0	13,3	0	13,3
Амоксицилін, 20 мкг	0	13,3	6,7	13,3
Доксициклін, 10 мкг	66,7	80,0	73,3	80,0
Тетрациклін, 30 мкг	60,0	86,7	73,3	86,7
Левофлоксацин, 5 мкг	93,3	100	93,3	100
Ципрофлоксацин, 5 мкг	93,3	100	100	100
Цефтриаксон, 30 мкг	93,3	93,3	86,7	100
Цефтазидим, 30 мкг	100	100	86,7	100
Гентаміцин, 10 мкг	93,3	100	86,7	100
Канаміцин, 30 мкг	100	100	86,7	93,3
Фурамаг, 300 ОД	93,3	100	93,3	100

З даних табл. 3.14 видно, що у виділених психротрофних мікроорганізмів сформувалася стійкість до препаратів пеніцилінової групи, так як чутливість бактерій не перевищувала 13,3 %. Це ймовірно пов'язано із наявністю залишків даних антибіотиків у замороженій рибі. Водночас, препарати інших фармакологічних груп були високоактивні до виділених мікроорганізмів. Так,

тетрацикліни проявляли стабільну бактерицидну дію на всі виділені психротрофні мікроорганізми, взяті у дослід – від 60,0 до 86,7 % випадків.

Антибактеріальні препарати фторхінолонової, цефалоспоринової та аміноглікозидної груп проявляли найвищу ефективність – чутливість бактерій до них становила від 86,7 до 100 % випадків.

Результати досліджень чутливості психротрофних мікроорганізмів, які виділені з риби до антибіотиків, із наявністю в ній залишкових кількостей антибіотиків аміноглікозидів наведено в табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Чутливість бактерій, виділених із замороженої риби до антибіотиків за наявності у ній залишкових кількостей гентаміцину, %, n=60

Антибактеріальні препарати, кількість діючої речовини	Види бактерій			
	<i>Pseudomonas spp., n=15</i>	<i>Acinetobacter spp., n=15</i>	<i>Enterobacter spp., n=15</i>	<i>Alcaligenes spp., n = 15</i>
Бензилпеніцилін, 10 ОД	0	53,3	20,0	60,0
Амоксицилін, 20 мкг	0	66,7	46,7	46,7
Доксициклін, 10 мкг	73,3	80,0	73,3	80,0
Тетрациклін, 30 мкг	66,7	73,3	66,7	80,0
Левофлоксацин, 5 мкг	80,0	86,7	80,0	86,7
Ципрофлоксацин, 5 мкг	86,7	93,3	86,7	93,3
Цефтриаксон, 30 мкг	93,3	100	93,3	100
Цефтазидим, 30 мкг	100	100	100	100
Гентаміцин, 10 мкг	6,6	13,3	6,7	20,0
Канаміцин, 30 мкг	6,7	6,7	6,7	20,0
Фурамаг, 300 ОД	93,3	100	86,7	93,3

З даних табл. 3.15 видно, що відмічається закономірність щодо чутливості виділеної мікрофлори із риби з наявністю в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин. Дана закономірність характеризується

формуванням стійкої мікрофлори в м'ясі риби до виявлених в ній залишків антибіотиків. Так, згідно даних табл. 3.15, у м'ясі замороженої риби, яка містила залишкові кількості антибіотиків аміноглікозидної групи, виділені психротрофні мікроорганізми проявляли чутливість до гентаміцину і канаміцину всього до 20,0 % випадків.

Відносно протибактеріальної активності речовин інших фармакологічних груп, виявлено, що найменше бактерицидну дію проявляли пеніциліни, чутливість виділених бактерій до цих антибіотиків становила від 20,0 до 66,7 %, винятком були *Pseudomonas spp.*, які виявились стійкими.

Чутливість виділених мікроорганізмів до препаратів тетрациклінової групи становила від 66,7 до 80,0 %, а до фторхінолонової була більшою – від 80,0 до 93,3% випадків. Найбільшу активність проявляли цефалоспорини, так чутливість виділених штамів до цефтріаксону – від 93,3 до 100 %, а до цефтазидиму – усі культури виявились чутливими.

Результати досліджень чутливості психротрофних мікроорганізмів, які виділені з риби до антибіотиків, із вмістом в ній залишкових кількостей препаратів фторхінолонової групи наведено в табл. 3.16.

Таблиця 3.16

Чутливість бактерій, виділених із замороженої риби, до антибіотиків за наявності у ній залишкових кількостей препаратів фторхінолонової групи,
%, n=60

Антибактеріальні препарати, кількість діючої речовини	Види бактерій			
	<i>Pseudomonas spp.</i> , n=15	<i>Acinetobacter spp.</i> , n=15	<i>Enterobacter spp.</i> , n=15	<i>Alcaligenes spp.</i> , n = 15
Бензилпеніцилін, 10 ОД	0	40,0	26,7	40,0
Амоксицилін, 20 мкг	0	66,7	66,7	66,7
Доксициклін, 10 мкг	66,7	73,3	73,3	86,7
Тетрациклін, 30 мкг	60,0	73,3	80,0	86,7
Левофлоксацин, 5 мкг	6,7	20,0	13,0	13,3

Ципрофлоксацин, 5 мкг	6,3	13,3	6,7	13,3
Цефтриаксон, 30 мкг	80,0	93,3	86,7	66,7
Цефтазидим, 30 мкг	86,7	93,3	86,7	100
Гентаміцин, 10 мкг	80,0	86,7	73,3	93,3
Канаміцин, 30 мкг	86,7	80,0	73,3	93,3
Фурамаг, 300 ОД	93,3	100	86,7	93,3

Як видно з табл. 3.16, препарати фторхінолонової групи: лево- і ципрофлоксацин виявились не активними до виділених мікроорганізмів, так як чутливість до них не перевищувала 13,3 %. Інші фармакологічні групи антибіотиків проявляли більшу бактерицидну дію щодо мікроорганізмів, виділених з риби. Чутливість бактерій роду *Acinetobacter*, *Enterobacter* і *Alcaligenes* до пеніциліну становила від 26,7 % до 40,0 %, а до амоксициліну – 66,7 % випадків. Стабільно високу ефективність проявляли препарати тетрациклінового ряду, чутливість виділених бактерій була від 60,0 до 86,7% випадків. Антибіотики аміноглікозиди і цефалоспорини проявляли найвищу бактерицидну дію, чутливість мікроорганізмів становила від 73,3 до 100 % випадків.

Отже, отримані результати дослідження вказують, що збереження безпечності риби неможливе без застосування охолодження чи заморожування, які направлені на гальмування розвитку мікрофлори. Проте, в умовах холодильного зберігання риби першочергового значення набуває психротрофна мікрофлора, яка впливає на органолептичні показники і знижує її безпечність та якість. Тому, необхідно контролювати рівень обсіменіння риби психротрофними мікроорганізмами перед початком примороження чи замороження. Також результатами досліджень встановлено, що за умов наявності в замороженій рибі залишкових кількостей антибактеріальних речовин формується резистентна до виявлених антибіотиків психротрофна мікрофлора.

В наслідок цього може формуватися шлях передачі стійких мікроорганізмів та генів резистентності від риби до споживачів. Тому, для попередження надходження до споживачів риби, яка містить залишки антибактеріальних речовин, необхідно запровадити моніторинг їх кількості у рибі на всьому ланцюгу від «виробництва до обігу».

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Основні принципи безпечності харчових продуктів, які викладені в Регламенті [74] передбачають, що підприємства, які виготовляють харчову продукцію, зобов'язані гарантувати простежуваність по всьому ланцюгу виготовлення та обігу продукції [4, 5, 28, 31, 32, 33, 34, 92, 93, 119, 137]. Провівши аналіз результатів досліджень імпортованої риби та рибних продуктів за мікробіологічними показниками, які надійшли до ДНДІЛДВСЕ та до регіональних державних лабораторій Держпродспоживслужби протягом 2013 – 2017 років, нами виявлено наступне. За мікробіологічними показниками заморожена риба та рибні продукти, які імпортується в Україну, у 99 % випадків відповідали чинним нормативам. Проте, із мікробіологічних небезпек, які були ідентифіковані в імпортованих продуктах, найбільший ризик для здоров'я споживачів становить: *L.monocytogenes*, *Salmonellas spp.*, *Staph. aureus*. Також виявлено значний відсоток невідповідностей за кількістю МАФАНМ, що на нашу думку є порушенням санітарних умов виробництва, недотриманням температурних режимів на всіх етапах (переробки, транспортування, зберігання та обігу). Проте, найчастіше не відповідала за мікробіологічними критеріями риба, яка була імпортована з В'єтнаму, що становило 52,9 % від усіх позитивних проб. Також за результатами досліджень виявлено невідповідності за мікробіологічними показниками риби і рибних продуктів, які були імпортовані з високо розвинутих країн, таких як, США, Велика Британія, Норвегія та Італія.

Отже, отримані данні підтверджують необхідність контролю за мікробіологічними показниками риби і рибних продуктів незалежно від країни-імпортера.

Проведені нами порівняльні дослідження обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою встановили, що серед досліджених проб, які контаміновані мезофільними бактеріями менше 10^1

КУО/г, виявлено 25 % проб в яких кількість психротрофних мікроорганізмів перевищувала 10^5 КУО/г. Тобто дані проби за кількістю мезофільної мікрофлори відповідали нормативним вимогам ДСТУ (5×10^4 КУО/г), а за вмістом психротрофних мікроорганізмів перевищували показник, встановлений для мезофільних бактерій. Заморожена риба, у якої виявлено обсіменіння мезофільними аеробними і факультативно-анаеробними мікроорганізмами в кількості 10^2 КУО/г, була контамінована психротрофними бактеріями в 1,4–1,8 разів більше ($p < 0,05$). Проби з кількістю мезофільних мікроорганізмів від 10^3 до 10^4 КУО/г були контаміновані психротрофними мікроорганізмами, які в 1,7–6,8 разів ($p < 0,05$) перевищували кількість мезофільних бактерій. Крім того, за такої кількості мезофільних мікроорганізмів реєстрували проби з кількістю психротрофних мікроорганізмів понад 10^5 КУО/г риби. Заморожена риба, яка відповідала нормативу за кількістю мезофільних мікроорганізмів (5×10^4 КУО/г), за кількістю психротрофної мікрофлори не відповідала даному показнику, а перевищувала його в 1,3–2,0 і більше рази.

Отримані нами дані узгоджуються із даними науковців [148, 201], які виділяли із замороженої риби психротрофні мікроорганізми у кількості від $8,2 \times 10^3$ до $5,7 \times 10^6$ КУО/г. У дослідженнях вчених [105] мезофільні і психротрофні мікроорганізми збільшувалися експоненціально, під час зберігання в охолодженій рибі кількість мікроорганізмів змінювалась від 10^3 – 10^5 КУО/г в першій день до 10^7 – 10^8 КУО/г на 15 день і таку рибу вважали непридатною до споживання. Тому, дослідники [116] вважають, що виявлення у замороженій рибі кількості психротрофних мікроорганізмів більше 10^6 КУО/г свідчить про недостатнє охолодження риби, або тривале її зберігання в охолодженому стані до заморожування. При контамінації психротрофними мікроорганізмами риби від 10^7 до 10^8 КУО/г виявляють органолептичні зміни і тому риба не може бути рекомендована для споживання [195, 196, 197].

Також нами було встановлено, що у холодний період року $63,6 \pm 2,1$ % замороженої риби були контаміновані МАФАНМ менш 10^1 КУО/г. Водночас, проб з такою кількістю МАФАНМ у теплий період року виявлено 9,0 %, або в

7,0 раза ($p < 0,05$) менше. Крім того, у холодний період року виявлено 9,0 % проб риби, які за кількістю МАФАНМ перевищували максимально допустимий рівень. При цьому у теплий період кількість проб з понаднормованою кількістю МАФАНМ становила $27,3 \pm 0,3\%$. Практично аналогічну закономірність встановлено і щодо обсіменіння замороженої риби психротрофною мікрофлорою у ці періоди року, яка характеризувалася тим, що у теплий період року вона містить більшу кількість психротрофних мікроорганізмів. Водночас, у дослідженнях науковців [131, 132, 161], повідомляється, що в неохолодженій рибі та морепродуктах, а також в рибі з тропічних і субтропічних регіонів переважає мезофільна мікрофлора.

Отже, на підставі отриманих результатів досліджень ми стверджуємо, що кількість психротрофної мікрофлори не відповідає кількості МАФАНМ у однеї і тієї ж замороженій рибі. Психротрофи кількісно перевищують МАФАНМ в декілька разів, що напевно у більшій мірі пов'язано з санітарними умовами технологічного процесу.

Нами було проведено вивчення результатів досліджень обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою, залежно від хімічних показників, які характеризують її свіжість. Зокрема, визначали хімічні показники: реакція з купруму сульфату, на пероксидазу, загальний вміст летких сполук азоту та рН. Встановлено, що за задовільних показників, що характеризують свіжість замороженої риби, в реакціях з купруму сульфату, на пероксидазу, загальний вміст летких сполук азоту та величини рН, виявлено в середньому 25 % проб риби з понаднормованою кількістю (більше 50 тис. КУО/г) МАФАНМ. Також виявлено, що психротрофна мікрофлора кількісно перевищує чисельність МАФАНМ замороженої риби. У пробах замороженої риби, які за хімічними показниками відносилися до свіжої, психротрофні мікроорганізми в 65 % випадків перевищували норматив чинного ДСТУ.

Тому, ми вважаємо за необхідність удосконалення науково-обґрунтованих мікробіологічних критеріїв оцінки замороженої риби за кількістю психротрофних мікроорганізмів. Це дозволить удосконалити

нормативно-правову базу щодо контролю замороженої риби імпортованого виробництва.

Для того щоб комплексно охарактеризувати мікробіологічні зміни, які відбуваються у замороженій рибі та з метою удосконалення способу оцінки безпеки продукту та гігієни технологічного процесу за кількістю психротрофної мікрофлори, нами проведено дослідження з визначення динаміки зміни мікрофлори під час зберігання риби у замороженому стані за температури заморожування $-18 \pm 1^\circ\text{C}$. Встановлено, що у замороженій рибі під час зберігання протягом 8 місяців, з різним початковим обсіменінням МАФАНМ, кількість мікроорганізмів зменшилася в 1,6–2,3 рази ($p < 0,05$). Інтенсивність інактивації мезофільних бактерій у пробах з незначним мікробним обсіменінням, у середньому в 1,4 рази була швидша, порівняно з пробами з більшою кількістю мікроорганізмів. Це на нашу думку пов'язано з тим, що склад мезофільної мікрофлори з більшим мікробним обсіменінням у більшій мірі представлений родами і видами бактерій, які проявляють толерантність до холоду. Водночас виявлено, що психротрофна мікрофлора замороженої риби протягом 8-ми місячного терміну зберігання за температури -18°C не інактивується, і є більш стабільною, порівняно з мезофільною. У результаті цього за кількістю психротрофної мікрофлори замороженої риби, визначеною на будь-якому етапі зберігання, можна судити про її кількість на момент заморожування. Також, виявлено, що не зважаючи на те, що мікроскопічні гриби не нормуються стандартом у замороженій рибі, дослідженнями встановлено незначне їх зростання у пробах із більшим мікробним обсіменінням, навіть, при зберіганні за температури -18°C .

Під час визначення показників для оцінювання гігієни технологічного процесу виробництва замороженої риби за мікробіологічними критеріями нами було вибрано психротрофну мікрофлору. При цьому, ми враховували розроблені нами принципи та результатів власних досліджень. Нашими дослідженнями встановлено, що кількість психротрофної мікрофлори замороженої риби перевищує в 1,3–2,0 рази кількість мезофільної мікрофлори

(табл. 3.3, 3.4, рис. 3.5–3.8). Також, дослідженнями виявлено (рис. 3.9, 3.10), що під час зберігання замороженої риби за температури -18°C протягом 8 місяців кількість психротрофної мікрофлори практично не змінюється і знаходиться на початковій кількості з моменту зберігання. Водночас кількість мезофільної мікрофлори протягом цього терміну зберігання зменшується в 1,8–2,6 рази, що залежить від початкової її чисельності на момент заморожування. Тому, ми вважаємо, що за кількістю психротрофної мікрофлори замороженої риби можна судити про її безпечність, а також про дотримання гігієнічних вимог під час технологічного процесу (від вилову до обігу) замороженої риби. Тому, враховуючи розроблені нами принципи і європейську методологію [31, 32, 76] для визначення мікробіологічних показників, ми удосконалили мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу виробництва замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори (табл. 3.5). Методологія визначення безпечності та гігієни технологічного процесу замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори за нашим даними має бути трьох рівнів оцінювання: $n=5$, $m=10\,000\text{ КУО/г риби}$, $M=50\,000\text{ КУО/г риби}$, $C=3$. Таким чином, запропонована нами модель з використанням мікробіологічних критеріїв гігієни технологічного процесу за кількістю психротрофної мікрофлори, характеризує дотримання комплексу гігієнічних вимог (від заморожування до обігу) замороженої риби та в разі потреби, дозволяє вжити відповідних коригувальних дій. Визначений мікробіологічний критерій за кількістю психротрофної мікрофлори у замороженій рибі доповнює існуючі методи оцінювання гігієни технологічного процесу та має на меті підвищити мікробіологічну безпечність замороженої риби.

Наступним етапом нашої роботи було провести дослідження замороженої риби на наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин. Адже, згідно «Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження» [67], визначення залишкових кількостей ветеринарних речовин передбачено у рибі власного виробництва згідно

Регламенту ЄС 37/2010 [75]. Заморожена риба, яка імпортується в Україну не досліджується на наявність залишкових кількостей антибактеріальних речовин.

Результатами наших досліджень встановлено, що $10,5 \pm 0,3$ % імпортованої замороженої риби, містили залишки антибактеріальних речовин. Отримані нами результати узгоджуються з даними дослідників [111], які виявляли у харчових продуктах антибіотики, сульфаніламід та нітрофуранові препарати. Найчастіше, нами, в імпортованій в Україну замороженій рибі було виявлено антибіотики-аміноглікозиди (апраміцин, канаміцин, гентаміцин, спектиноміцин, паромоміцин, дигідрострептоміцин) у $46,4 \pm 0,7$ % випадках та налідиксову кислоту в 19 % випадків від усіх позитивних проб. Про значне використання у тваринництві та птахівництві антибіотиків-аміноглікозидів і макролідів повідомляються в даних науковців [192], які виявляли залишки цих антибіотиків у продукції птахівництва. У той же час нашими результатами досліджень встановлено наявність у рибі залишкових кількостей налідиксової кислоти, яку не визначають у продукції тваринного походження. Найчастіше залишки антибактеріальних речовин було виявлено у таких видів риб, як аргентина і камбала від $11,2 \pm 0,2$ до $14,4 \pm 0,2$ % усіх позитивних випадків, а у найменшій кількості – до 5 % виявляли антибактеріальні речовини у таких морських риб, як дорадо і горбуша. Крім того, виявлені нами у замороженій рибі залишки антибактеріальних речовин – налідиксової кислоти і антибіотиків: апраміцин, канаміцин, тіамулін та нафцилін, які не регламентуються Регламентом ЄС № 37/2010. Також встановлено наявність у рибі залишкових кількостей антибіотиків гентаміцину, дифлоксацину і пароміцину на верхній межі максимально допустимого рівня для даних антибіотиків (100 мкг/кг). Залишки антибіотиків пеніцилінового ряду (пеніцилін V, амоксицилін) виявляли у рибі, у кількості меншій в 2 рази максимально допустимого рівня (50 мкг/кг). Перевищення максимально допустимого рівня залишків антибіотиків у замороженій рибі виявлено для тетрацикліну – $112,5 \pm 7,2$ мкг/кг, при рівні 100 мкг/кг та для спектиноміцину – $342,1 \pm 21,5$ мкг/кг, при допустимому рівні 300 мкг/кг.

Тому, враховуючи вище наведені результати наших досліджень, вважаємо за необхідність передбачити національним законодавством визначення залишкових кількостей антибактеріальних речовин в рибі, яка імпортується в Україну.

Під час проведення досліджень з визначення впливу залишкових кількостей антибактеріальних речовин на мікробіологічні та хімічні показники замороженої риби встановлено наступне. За наявності залишків антибактеріальних речовин у замороженій рибі мікробіологічні показники не перевищували нормативів згідно ДСТУ 4868:2007 [83] і були фактично на декілька порядків менше за МДР. Найменше мікробне обсіменіння риби виявляли за наявності залишкових кількостей антибіотиків фторхінолонової, тетрациклінової груп та аміноглікозидів.

Результатами досліджень на визначення свіжості замороженої риби за наявності виявлених нами в ній залишків антибактеріальних речовин встановлено, що попри задовільні мікробіологічні показники замороженої риби, за хімічними показниками не всі зразки відповідали ознакам свіжої риби. Так, виявлено, позитивну реакцію з купруму сульфату та негативну реакцію на пероксидазу у пробах замороженої риби, у яких наявні залишки таких антибактеріальних препаратів, як сульфафеназол, тіамулін, пеніцилін V, амоксицилін, нафцилін. На нашу думку у цієї риби відбулись значні автолітичні і ліполітичні зміни м'язової тканини під впливом власних ферментів. За загальним вмістом летких сполук азоту усі проби риби відносилися до свіжої, так як показники не перевищували максимально допустимого рівня згідно Регламенту ЄС №2074/2005 у 30 мг/100 г риби. Тому, на підставі отриманих результатів ми вважаємо, що заморожена риба, яка містила залишки антибактеріальних речовин за хімічними показниками може відноситися до не свіжої. Тому, тільки проведення комплексних досліджень риби може гарантувати її безпечність і якість.

Враховуючи те, що залишки антибактеріальних речовин у харчових продуктах негативно впливають на організм споживачів, спричиняючи різні

алергічні стани та порушують мікробіоценоз шлунково-кишкового тракту [114, 142, 158, 161], нами було проведено токсико-біологічну оцінку м'яса замороженої риби за наявності у ній залишків антибактеріальних речовин на культурі інфузорії *Tetrachylena pyriformis*. Встановлено, що антибіотики тетрациклінового ряду, наявні в м'ясі замороженої риби проявляли помірну токсичність на культуру *Tetrachylena pyriformis*, а відносна біологічна цінність цієї риби була (на 4,12 %) нижчою, порівняно з контрольними зразками риби. Дане явище ми пов'язуємо з тим, що антибіотик тетрациклінового ряду у рибі перевищував МДР (100 мкг/кг). У замороженій рибі, яка взята у дослід, кількість антибіотику тетрациклінової групи становила $112,5 \pm 7,2$ мкг/кг, тобто перевищувала МДР на 12 %. Очевидно, залишкова кількість цього антибіотику проявляла помірну токсичну дію на культуру інфузорії та вірогідно знижувала біологічну цінність м'яса. Однак, нами не виявлено токсичного впливу на інфузорії антибіотиків інших груп, наявних в м'ясі замороженої риби, які використовувались у досліді, ймовірно тому, що їх кількість не перевищувала МДР. Так, кількість залишків антибактеріальних препаратів пеніцилінового, аміноглікозидного і фторхінолонового ряду, наявних у замороженій рибі, не перевищувала максимально допустимі рівні визначені Регламентом ЄС 37/2010.

Таким чином, токсикологічні дослідження вказують на необхідність проведення контролю залишкових кількостей антибактеріальних речовин у замороженій рибі, яка імпортується в Україну. Риба, у якій виявлено перевищення максимально допустимих рівнів антибактеріальних речовин є небезпечною, проявляє помірно токсичну дію на інфузорії *Tetrachylena pyriformis*, а тому не може бути рекомендована до споживання.

Наступним етапом нашої роботи було визначити мікробіологічні показники замороженої риби та чутливість виділеної психротрофної мікрофлори до антибіотиків за відсутності та наявності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин. Адже відомо, що безпечність і якість готових рибо- і морепродуктів перш за все залежить від якості сировини, умов

її зберігання та технології переробки [164]. Свіжа риба швидко псується, тому після вилову її зберігають і реалізують в охолодженому, примороженому чи замороженому стані. Вади риби, пов'язані із хімічними змінами, які виникають внаслідок активної життєдіяльності мікрофлори, яка продукує різні ферменти [208]. Мікрофлора, яка проявляє активність за умов холодильного зберігання риби – це психротрофна, вона здатна розвиватися за температури нижче $+7^{\circ}\text{C}$, незважаючи на вищу оптимальну температуру для свого розвитку [148]. Тому, виробники для зупинення розмноження мікрофлори риби в технологічному ланцюгу «від вилову до обігу» широко застосовують різні антибактеріальні препарати [176]. Антибактеріальні препарати застосовують як для годівлі риб в аквакультурі, так і додають до води під час її примороження чи замороження [169, 175, 178]. Результатами наших досліджень виявлено, що заморожена риба, яка імпортується в Україну в $10,5\pm 0,3$ % містила залишкові кількості антибактеріальних речовин різних фармакологічних груп. Хроматографічним методом дослідження виявлено перевищення максимально допустимого рівня згідно Регламенту ЄС 37/2010 за наявністю тетрацикліну та спектоміцину у замороженій рибі. Про перевищення максимально допустимого рівня антибіотиків у продуктах тваринного походження за наявністю тетрацикліну повідомляється в дослідженнях [104, 169, 213]. Результатами досліджень (табл. 3.12) встановлено, що за відсутності залишків антибактеріальних речовин у замороженій рибі кількість мезофільних і психротрофних мікроорганізмів була на один-два порядки більшою, порівняно з рибою, яка містила залишки антибіотиків (тетрациклінів, пеніцилінів, аміноглікозидів і фторхінолонів). Крім того, обсіменіння психротрофною мікрофлорою замороженої риби, яка не містила антибіотиків перевищувало кількість мезофільних мікроорганізмів в 2,2 рази ($p < 0,05$), а за наявності залишків антибактеріальних речовин в 1,3–1,6 рази ($p < 0,05$). Проте, за всіма дослідженими мікробіологічними показниками заморожена риба відповідала вимогам національного стандарту [83]. Отримані результати узгоджуються з даними [106, 147], які вказують на значне обсіменіння замороженої риби психротрофними мікроорганізмами від 10^4 до

10^6 КУО/г. Це може бути пов'язане із забрудненням води, яка контактує з рибою, недостатнім охолодженням чи замороженням її, невідповідними гігієнічними вимогами під час переробки.

На рис. 3.21 показано, що склад психротрофної мікрофлори замороженої риби за відсутності залишків антибактеріальних речовин на 80% представлений трьома родами бактерій: *Acinetobacter* – $39,7 \pm 2,8\%$, *Pseudomonas* – $30,1 \pm 2,4$ і *Enterobacter* – $10,3 \pm 1,1\%$. У той же час, за наявності залишків антибіотиків у замороженій рибі (рис. 3.22) встановлено, зростання в 1,7 рази ($p < 0,05$) бактерій роду *Pseudomonas* до $50,7 \pm 3,7\%$ та зменшення в 1,8 рази ($p < 0,05$) бактерій роду *Acinetobacter* до $21,6 \pm 1,4\%$, порівняно з їх вмістом у замороженій рибі без антибіотиків та зростання в 1,4 рази ($p < 0,05$) бактерій роду *Enterobacter*. Отримані результати дослідження співпадають з даними [106, 162], які повідомляють про контамінацію замороженої риби бактеріями роду *Pseudomonas* від $1,2 \times 10^3$ до $2,3 \times 10^5$ КУО/г. Вважається, що це пов'язано із захворюванням риби на псевдомоноз. Нами ідентифіковано більшу кількість бактерій роду *Pseudomonas* у замороженій рибі, яка містила залишкові кількості антибіотиків, це ймовірно пов'язано з використанням антибіотиків під час заморожування тощо.

Ветеринарні препарати, в тому числі антибіотики, в сучасній аквакультури широко застосовуються для профілактики та лікування різних бактеріальних захворювань риби [176]. ВООЗ визнала, що використання антибактеріальних препаратів за промислового ведення тваринництва і в аквакультури спричиняє глобальну проблему формування резистентності до антибіотиків у мікроорганізмів [124, 155, 175, 219]. Крім того вказується, що продукти харчування можуть служити джерелом формування і фактором передачі людям антибіотикорезистентних мікроорганізмів [120, 136]. За даними нещодавно опублікованого звіту в світі щорічно помирає понад 700 тис. людей від інфекцій, викликаних антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів [211].

Під час визначення чутливості психротрофних бактерій, які виділені з м'яса замороженої риби до антибіотиків, за відсутності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин (табл. 3.12), встановлено, що вони були чутливими у 80,0 – 100 % випадків. Винятком були антибіотики пеніцилінового ряду, які не діяли на культури *Pseudomonas spp.*. У той же час у рибі, яка містила залишкові кількості антибактеріальних речовин, виявлено формування резистентності у мікрофлори до виявлених у ній антибіотиків (табл. 3.13–3.16). Так, згідно даних табл. 3.13 у м'ясі замороженої риби із залишковими кількостями антибіотиків тетрациклінової групи чутливість мікрофлори до даної групи не перевищувала 20 %. Не зважаючи на досить високу ефективність препаратів інших фармакологічних груп: фторхінолонів, аміноглікозидів і цефалоспоринів, чутливість, яких становила від 73,3 до 100%, та середню ефективність препаратів пеніцилінової групи – чутливість бактерій становила до 50 %. Про формування резистентності мікрофлори в аквакультурі до антибіотиків повідомляли дослідники [104, 169, 213], які виявляли високо резистентні штами до тетрацикліну, окситетрацикліну, ампіциліну і флорамфеніколу. Інші дослідники [168] вказують, що відсоток стійких бактерій, виділених з аквакультури до антибіотиків гентаміцину, канаміцину, енрофлоксацину був дуже низький. Однак, в загальному більшість дослідників вважає, що залишкові кількості антибактеріальних речовин в харчових продуктах, в тому числі і рибі є джерелом формування резистентних штамів мікроорганізмів [127, 182, 200].

Таким чином, за результатами наших досліджень поставлена мета дисертаційної роботи науково обґрунтувати мікробіологічні критерії імпортованої замороженої риби та її оцінка за залишковим кількостями антибактеріальних речовин виконана нами повністю.

ВИСНОВКИ

У дисертації теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено необхідність проведення контролю замороженої риби, імпортованої в Україну, за мікробіологічними показниками, зокрема, психротрофними мікроорганізмами та залишковими кількостями антибактеріальних речовин. Удосконалено мікробіологічні критерії оцінки замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори.

1. Невідповідності за мікробіологічними критеріями безпеки імпортованої риби та рибних продуктів була пов'язана із перевищенням кількості *L. monocytogenes* і мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів, що становило по 36,9 % випадків від загальної кількості позитивних проб. Водночас, за обсіменінням бактеріями групи кишкових паличок і *S. aureus* перевищення було відповідно в 1,7 та 8,4 рази менше, ніж за кількістю мезофільних мікроорганізмів.

2. Виявлено, що кількість психротрофних мікроорганізмів у замороженій рибі вища в 1,3–2,0 рази, ніж мезофільних бактерій. У 92,6±2,5 % проб замороженої риби, які відповідали вимогам чинного стандарту за кількістю мезофільних мікроорганізмів, було виявлено перевищення обсіменіння психротрофною мікрофлорою в 2,6 рази.

3. За задовільних показників, що характеризують свіжість замороженої риби, в реакціях: з купруму сульфатом, на пероксидазу, на загальний вміст летких сполук азоту та величини рН виявлено в середньому 25 % проб риби з наявністю мезофільних мікроорганізмів, які не відповідали вимогам чинних нормативно-правових актів. У пробах замороженої риби, які за хімічними показниками відносилися до свіжої, психротрофні мікроорганізми в 65 % випадків перевищували норматив чинного ДСТУ.

4. Удосконалено мікробіологічні критерії гігієни технологічного процесу виробництва замороженої риби за кількістю психротрофної мікрофлори

($n=5$; $c=3$; $m=10000$ КУО/г; $M=50000$ КУО/г), які свідчать про дотримання комплексу гігієнічних заходів від заморожування до обігу.

5. У $10,5\pm 0,3$ % замороженої риби, яка реалізується в роздрібній торгівлі, виявлено залишки антибактеріальних речовин, зокрема, антибіотики групи аміноглікозидів (апраміцин, канаміцин, гентаміцин, спектиноміцин, паромоміцин, дигідрострептоміцин) у $46,4\pm 0,7$ % проб та налідиксову кислоту в $19,0\pm 0,2$ % від усіх позитивних випадків, що не перевищували максимально допустимий рівень, та тетрациклін і спектиноміцин, що перевищували встановлений норматив. Встановлено наявність антибактеріальних речовин у пробах риби, контроль яких не передбачено Регламентом ЄС № 37/2010.

6. Заморожена риба із залишковим вмістом антибактеріальних речовин за кількістю мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів, титром бактерій групи кишкових паличок, вмістом *S. aureus*, бактерій роду *Salmonella spp.* та *L. monocytogenes* відповідала мікробіологічним нормативам.

7. Виявлено позитивну реакцію з купруму сульфатом та негативну реакцію на пероксидазу у пробах замороженої риби, які містили залишки антибактеріальних речовин: сульфафеназолу, тіамуліну, пеніциліну V, амоксициліну, нафциліну. Це вказує на значні автолітичні зміни м'язової тканини замороженої риби під впливом власних ферментів і за таких змін риба характеризується як не свіжа.

8. Встановлено, що заморожена риба із залишками антибактеріальних речовин: аміноглікозидів, пеніцилінової і фторхінолонової груп, що не перевищували максимально допустимий рівень, не проявляла токсичний вплив на інфузорію *Tetrachylena pyriformis*. Заморожена риба із залишками антибіотиків тетрациклінового ряду, що перевищували максимально допустимий рівень, проявляла помірну токсичність на культуру *Tetrachylena pyriformis*, а відносна біологічна цінність такої риби знижувалася на 4,12 %.

9. У замороженій рибі із залишковими кількостями антибіотиків виявлено зміну родового складу психротрофної мікрофлори, яка відбувалася

за рахунок збільшення чисельності бактерій родів *Enterobacter* в 1,4 раза, *Aeromonas* – в 1,6 раза та *Pseudomonas* – в 1,7 раза.

10. Найпоширеніші види психротрофної мікрофлори, які виділені із замороженої риби за відсутності в ній залишкових кількостей антибактеріальних речовин, були високочутливими до антибіотиків: пеніцилінової, тетрациклінової, фторхінолонової груп та аміноглікозидів. У замороженій рибі із залишковими кількостями антибактеріальних речовин формується резистентна до виявлених антибіотиків мікрофлора.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Мікробіологічними критеріями гігієни технологічного процесу необхідно вважати оцінювання кількісного вмісту психротрофної мікрофлори замороженої риби: $n=5$; $c=3$; $m=10000$ КУО/г; $M=50000$ КУО/г.

2. З метою об'єктивного контролю залишкових кількостей антибактеріальних речовин передбачати їх визначення у замороженій рибі імпортного виробництва.

3. Рекомендується використовувати у практиці ветеринарної медицини спосіб санітарно-гігієнічної оцінки безпечності замороженої риби за кількістю психротрофних мікроорганізмів.

4. Результати досліджень увійшли до науково-практичних рекомендацій «Ветеринарно-санітарна експертиза замороженої риби за вмістом психротрофних мікроорганізмів» (затверджено Вченою радою Інституту ветеринарної медицини НААН, протокол № 10/1 від 19.10.2018 р.), які можуть використовуватися у науково-дослідних закладах і профільних установах ветеринарної медицини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Башинський В.В., Остапюк М.П., Семенчук О.С. Вимоги Європейського законодавства щодо харчових продуктів. Київ: Ветінформ. 2009. 327с.
2. Кухтин, М. Д. *Теоретичне обґрунтування ветеринарно-санітарних нормативів і розроблення системи контролю виробництва молока коров'ячого незбираного охолодженого*. Diss. ступеня докт. вет. наук: спец. 16.00. 06 "Гігієна тварин та ветеринарна санітарія"/МД Кухтин.–Львів, 2011.–40,[1] с, 2011.
3. Бергілевич, О. М., Касянчук, В. В., Власенко, І. Г., & Кухтін, М. Д. (2010). Мікробіологія молока і молочних продуктів. *Суми: Університетська книга*, 9, 45-46.
4. Бізікін С.В., М'ячиков О.В., М'ячикова С.О., Ожеред С.В. Базове керівництво з впровадження системи НАССР (методи гарантії безпечності та якості харчових продуктів). Харків: Вид-во Іванченка І.С., 2013. 44 с.
5. Безпека харчування: сучасні проблеми: посібник-довідник. Укл.: Бабюк А.В., Макарова О.В., Рогозинський М.С. Чернівці: Книги-XXI, 2005. 454 с.
6. Белов Ю.П. Розробка та впровадження системи управління безпечністю харчових продуктів НАССР. *Світ якості України*. № 2, 2005. С. 42–45.
7. Бескупська О.В. Сертифікація та стандартизація підприємств харчової промисловості України як фактор підвищення її конкурентоспроможності. *Наук.вісник Херсонського держ. ун-ту*. 2015. Ч. 1, № 11. С. 76-79.
8. Бергілевич О.М., Касянчук В.В. Теоретичне та експериментальне обґрунтування оцінки мікробіологічного ризику *Cronobacter spp.* (*Enterobacter sakazakii*): монографія. Суми: Сумський державний університет, 2018. 308 с.
9. Бергілевич О.М. Прогнозуюча мікробіологія є основою для безпеки продуктів харчування. *Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького*. 2008. Т. 10. № 2 (37). Ч. 4. С. 3–7.

10. Богатко Н.М., Салата В.В., Букалова Н.М., Гогатко Л.М., Каблучко М.В. Особливості запровадження системи НАССР на рибопереробних та рибодобувних підприємствах України. *Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького*. 2013. Т. 15. № 3 (57). Ч. 3.

11. Кухтин, М. Д., Перкій, Ю. Б., Семанюк, В. І., & Мурська, С. Д. (2012). Сучасні погляди на санітарну обробку технологічного устаткування у харчовій промисловості. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 14(3-3 (53)), 302-307.

12. Kukhtyn, M., Malimon, Z., Salata, V., Rogalskyu, I., Gutyj, B., Kladnytska, L., ... & Horiuk, Y. (2022). The Effects of Antimicrobial Residues on Microbiological Content and the Antibiotic Resistance in Frozen Fish. *World's Veterinary Journal*, (4), 374-381.

13. Вербицький С.Б., Черняк О.В., Пацера Н.М. Продовольча безпека та агропромисловий комплекс: засадничі принципи та можливість їхньої реалізації у практиці технічного регулювання. *Продовольчі ресурси*. 2016. № 7. С. 79-86.

14. Якубчак О.М., Хоменко В.І., Мельничук С.Д. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології і стандартизації продуктів тваринництва. К., 2005. 800 с.

15. Фотіна Т.І., Березовський А.В., Петров Р.В., Горчанок Н.В. Ветеринарно-санітарна експертиза риби, морських ссавців та безхребетних тварин: навчальний посібник. Вінниця: Нова Книга, 2013. С. 82–96.

16. Віткін Л.М. Світовий досвід та стратегія розвитку систем технічного регулювання. *Стандартизація, сертифікація, якість*. 2013. №4. С.5-11.

17. Новожицька Ю.М., Іванова О.В., Ступак О.М. Визначення антибіотиків у продукції тваринного походження за допомогою рідинного хроматомаспектрометра. К.: ДНДІЛДВСЕ, 2014. 12 с.

18. Геращенко Л. Риба і рибопродукти в білковому раціоні населення України. *Рибне господарство України*. 2002. № 1. С. 42–43.

19. Гігієна і експертиза харчових тваринних гідробіонтів та продуктів їх переробки : кол. авт. Частина 1. Гігієна і експертиза рибпромислової продукції. Харків: Диска Плюс, 2017. 680 с.

20. Гігієна і експертиза харчових тваринних гідробіонтів та продуктів їх переробки : кол. авт. Частина 2. Гігієна і експертиза водних ссавців, безхребетних гідробіонтів, продукції з риби. Харків: Диска Плюс, 2017. 648 с.

21. Kukhtyn, M., Malimon, Z., Salata, V., Lisovska, T., & Selskyi, V. (2022). Development of microbiological criteria for evaluating frozen fish based on the amount of psychrotrophic microflora. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Food Technologies*, 24(98), 3-8.

22. Головка А. М., Рубленко І.О. Ветеринарна санітарна мікробіологія. К.: Аграрна освіта, 2010. 284 с.

23. Головка М.П., Коваленко В.О. Загальна мікробіологія. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Технічна мікробіологія» для студентів інженернотехнологічного факультету за професійним спрямуванням 6.0917 «Харчова технологія та інженерія». Харків. 2001. 40 с.

24. Давидов О. М., Темніханов Ю. Д. Основи ветеринарно-санітарного контролю в рибництві. Київ: ІНК ОС, 2004. 144 с.

25. Давидов О.Н., Абрамов А.В., Темніханов Ю.Д. Ветеринарно-санітарний контроль харчових гідробіонтів. Черкаси: АНТ, 2007. 540 с.

26. Державні санітарні правила і норми для підприємств і суден, що виробляють продукцію з риби та інших водних живих ресурсів. Наказ МОЗ України 06.05. 2003 р. № 197. *Офіційний вісник України*. 2003. № 23. С. 444, Стаття 1093. Код акта 25340/2003.

27. Salata, V., Kuhtyn, M., Semanjuk, V., & Perkij, Y. (2017). Dynamics of microflora of chilled and frosted beef during storage. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 19(73), 178-182.

28. Європейський підхід до рибної галузі. Режим доступу: http://auv.com.ua/index.php?option=com_content&view=article&id=70:2009-11-28-19-10-50&catid=46:2009-03-29-22-35-33&Itemid=82 (7.10.2018).

29. Закон України "Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я та благополуччя тварин" № 2042-VIII від 18.05.2017.

30. Закон України "Про ветеринарну медицину" (у редакції Закону України № 2042-VIII від 18.05.2018).

31. Закон України "Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів" №771/97 ВР (23.12.1997) та №191-У від 24.10.2002. В редакції Закону № 2042-VIII від 04.04.2018.

32. Закон України "Про рибу, інші водні живі ресурси та харчову продукцію з них" №486-IV від 06.02.2003. *Відомості Верховної Ради України*.

33. Закон України "Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я та благополуччя тварин" № 2042-VIII від 18. 05.2017.

34. Здійснення державного ветеринарно-санітарного нагляду та контролю на потужностях з переробки риби та рибопродуктів у відповідності до міжнародних вимог: методичні рекомендації для слухачів ПІНКСВМ, студентів та магістрантів ФВМ: кол. авт. Біла Церква, 2011. 154 с.

35. Зінченко Л., Юхновський О. Продовольче безправ'я. *Дзеркало тижня*. 2008. № 42. Режим доступу: <http://www.dt.ua/3000/3320/64600/4> (7.10.2018.)

36. Касянчук В.В., Курганська В.О., Олешко О.М. Раціональне і безпечне харчування як основа громадського здоров'я. Суми: Сумський державний університет, 2017. 355 с.

37. Grynevych, N., Dyman, T., Kukhtyn, N., & Semaniuk, N. (2017). Composition of psychrotrophic microflora of water and biofilter filler in recirculation aquaculture system on trout farm.

38. Качний О.С. Стан і тенденції розвитку світового рибного господарства і його роль у продовольчому забезпеченні населення. *АгроСвіт*. 2009. № 12. С. 11–15.

39. Кухтин М. Д., Горюк Ю. В. Мікробіологія молочних продуктів вироблених з молока коров'ячого сирого: монографія. – 2023. – 137с.

40. Кухтин М. Д., Кравченко Х. Ю. Лабораторний практикум з мікробіології молока і молочних продуктів: навчальний посібник. – 2023. – 163 с.

41. Литовченко А.В. Організація ринку риби та морепродуктів у Європейському Союзі. *Економіка АПК*. 2005. № 4. С. 94–98.

42. Литовченко А.В. Фінансово-економічне регулювання імпорту риби та морепродуктів. *Вісник аграрної науки*. 2007. № 6. С. 81–82.

43. Kukhtyn M. et al. INVESTIGATION OF ZERANOL IN BEEF OF UKRAINIAN PRODUCTION AND ITS REDUCTION WITH VARIOUS TECHNOLOGICAL PROCESSING //Slovak Journal of Food Sciences. – 2020. – Т. 14.

44. Методичні вказівки 15.25.3001:2006 порядок санітарно-мікробіологічного контролю виробництва продукції з риби та інших водних живих ресурсів на підприємствах та суднах. Державний комітет рибного господарства України. Київ, 37 с.

45. Методические указания по токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузории Тетрахимены периформис (экспресс-метод) / Лемеш В.М. и др. Витебск: Витебская гос. акад. вет. мед. и Белорусская науч.-исслед. инст. exper. ветеринарии. 1997. 13с.

46. 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. ДСТУ ISO 6887-3:2014. [Чинний від 2015–05–01]. К.: Держспоживстандарт України.

47. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Загальні настанови з підрахунку дріжджів і мікроскопічних грибів. Техніка підрахування колоній, культивованих за температури 25°C. ДСТУ ISO 7954:2006. [Дата введення в дію: 01.10.2007]. Київ.: Держспоживстандарт України

48. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахування колоній за температури + 30 °С. ДСТУ ISO 4833:2006. [Чинний від 2007-10-01]. К.: Держспоживстандарт.

49. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахування коагулазопозитивних стафілококів (*Staphylococcus aureus* та інших видів). Частина 1. Метод з використання агарного середовища Беард Паркера. ДСТУ ISO 6888-1:2003. [Чинний від 2004-10-01]. К.: Держспоживстандарт.

50. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Методика виявлення *Salmonella* spp. ДСТУ ISO 6579:2006. [Дата введення в дію: 01.10.2008]. К.: Держспоживстандарт.

51. Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення та підрахування *Listeria monocytogenes*. Частина 1. Метод виявлення. ДСТУ ISO 11290-1:2003. [Дата введення в дію: 01.10.2004]. К.: Держспоживстандарт.

52. Микитюк П., Нікітін П. Гігієнічні основи виробництва якісної рибопродукції в сучасних екологічних умовах. *Ветеринарна медицина України*. 1999. № 9. С. 31–32.

53. Михайлов Н.Ф., Родин И.М. Совершенствование способов холодильной обработки и хранение рыбы. М.: Агропромиздат, 2007. 237 с.

54. М'ясо та м'ясна сировина. Методи відбирання проб та органолептичного оцінювання свіжості. ДСТУ 7992:2015. [Чинний від 22 червня 2015 р]. К.: Держспоживстандарт.

55. Salata, V., Kuhtyn, M., Semanjuk, V., & Perkiy, Y. (2017). Dynamics of microflora of chilled and frosted beef during storage. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 19(73), 178-182.

56. Наказ № 1140 МОЗ України від 29.12.2012 Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Медичні вимоги до якості та безпечності харчових продуктів та продовольчої сировини». *Офіційний вісник України*. 2013. № 6. С. 356. Стаття 227. Код акта 65527/2013.

57. Наказ № 548 від 19.07.2012 Про затвердження Мікробіологічних критеріїв для встановлення показників безпечності харчових продуктів. *Офіційний вісник України*. 2012. № 61. С. 105. Стаття 2487. Код акта 62924/2012.

58. Наказ МОЗ України від 06.08.2013 № 696 Про затвердження Гігієнічних вимог до продуктів дитячого харчування, параметрів безпечності та окремих показників їх якості. *Офіційний вісник України*. 2013 р. № 66. С. 397. Стаття 2423. Код акта 68483/2013.

59. Наказ №786 від 20.09.2018. Про затвердження Плану державного моніторингу харчових продуктів тваринного походження при здійсненні прикордонного державного контролю вантажів, що ввозяться (пересилаються) на митну територію України у 2018 році. Режим доступу: <http://www.consumer.gov.ua/Pictures/Files/Editor/document/Ветеринарія-безпе́чність/Залишкові%20кількості/Наказ%20№786.pdf> (17.11.2018).

60. Наказ Державного департаменту ветеринарної медицини України № 16 від 03.11.1998. Обов'язковий мінімальний перелік досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів та ін., які слід проводити в державних лабораторіях ветеринарної медицини і за результатами яких видається ветеринарне свідоцтво (Ф-2). *Офіційний вісник України*. 1998. № 48. С. 97. Стаття 1775. Код акта 6421/199.

61. Настанови щодо здійснення офіційних заходів контролю відповідно до Регламенту (ЄС) № 882/2004 в контексті відбору проб та їх

мікробіологічному дослідженню (13 листопада 2006 р.). URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/es882-2004.pdf> (21.11.2018).

62. Kukhtyn, M., Salata, V., Horiuk, Y., Kovalenko, V., Ulko, L., Prosyanyi, S., ... & Kornienko, L. (2021). THE INFLUENCE OF THE DENITRIFYING STRAIN OF STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS NO. 5304 ON THE CONTENT OF NITRATES IN THE TECHNOLOGY OF YOGURT PRODUCTION. *Slovak Journal of Food Sciences*, 15.

63. Бут О. Огляд ринку рибної продукції для видання "Світ продуктів" URL: <http://uifsa.ua/uk/news/news-of-ukraine/fish-market-survey-for-magazine-world-of-products> (21.11.2018).

64. Одарченко Д.М., Карбівнича Т.В., Госай Є.Л., Ільїна Д.Д. Виявлення контрольних критичних точок для управління безпечністю виробництва замороженої риби. *Восточно-Европейский журнал передових технологий*. 2015. № 5/11(77). С.1729-3774

65. Плахотін В.Я., Тюрікова І.С. Рекомендації щодо розробки та впровадження систем управління безпечністю харчових продуктів на виробничих підприємствах споживчої кооперації України. К.: Укроосвіта, 2007. 84 с.

66. Плахотін В.Я., Тюрікова І.С., Суткович Т.Ю. Проблеми розробки і впровадження системи НАССР та шляхи їх вирішення. *Одеська національна академія харчових технологій*. Наукові праці. 2009. № 36. Т. 2.С. 220-225.

67. План державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження на 2018р. Режим доступу: http://www.consumer.gov.ua/Pictures/Files/Editor/document/Ветеринарія-безпе́чність/моніторинг%20кількостей/2018/Наказ_морніторинг_1167.pdf (10.10.2018).

68. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія. К.: НУХТ, 2004. 472 с.

69. Kozhyn, V., Kukhtyn, M., Horiuk, V., Vichko, O., & Kryzhanivsky, Y. (2021). The activity of the disinfectant "Enzidez" against bacteria in

biofilms. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(101), 67-74.

70. Horyuk, Y. V., Kukhtyn, M. D., Perkiy, Y. B., Horyuk, V. V., & Semenyuk, V. I. (2016). Identification of Enterococcus isolated from raw milk and cottage cheese "home" production and study of their sensitivity to antibiotics. *Scientific Messenger LNUVMBT named after SZ Gzhytskyj*, 18(3), 70.

71. Практикум з біології, патології та ветсанекспертизи прісноводної риби: кол. авт.: за ред. П. В. Микитюка. Біла Церква, 2009. 160 с.

72. Проблеми здоров'я гідробіонтів сучасних умовах: кол. авт.: під. ред. М. С. Мандигри. Луцьк: ВАТ Волинська обласна друкарня, 2009. 320 с.

73. Распоряжение (ЕС) № 852/2004 Европейских Парламента и Совета от 29 апреля 2004 г. по гигиене продовольственных средств. URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/es852-2004.pdf> (10.10.2018).

74. Регламент (ЕС) № 178/2002 Европейського Парламенту та Ради від 28 січня 2002 року про встановлення загальних принципів і вимог законодавства про харчові продукти, створення Європейського Агентства з питань безпеки харчових продуктів і встановлення процедур у питаннях, пов'язаних із безпекою харчових продуктів (Загальний харчовий закон (GFL)). Режим доступу: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/es178-2002.pdf> (10.10.2018).

75. Регламент Комиссии (EU) № 37/2010 от 22 декабря 2009 г. по фармакологически активным веществам и их классификации относительно максимальных пределов остатков в пищевых продуктах животного происхождения. Режим доступа: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/37-2010.pdf> (10.10.2018).

76. Регламент Комиссии (ЕС) № 2073/2005 о микробиологических критериях, применяемых к пищевым продуктам от 15 ноября 2005 г. Режим доступа: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/es2073-2005.pdf> (10.10.2018).

77. Регламент ЕС 2027/2005 Регламент Комісії (ЄС) № 2027/2005 від 13 грудня 2005 року про відкриття для 2006 року тарифної квоти, що застосовується до ввезення до Європейського Співтовариства деяких товарів, що походять з Ісландії в результаті переробки сільськогосподарської продукції, охопленої Регламентом Ради (ЄС) № 3448/93. *Official Journal of the European Union*. 2005. L 327. P. 5. Режим доступа: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/es2073-2005.pdf> (10.10.2018).

78. Регламент Європейського Парламенту і Ради (ЄС) № 2016/425 від 9 березня 2016 року про засоби індивідуального захисту та скасування Директиви Ради 89/686/ЄЕС. *Офіційний вісник Європейського Союзу*. 2016. L 81. С. 51.

79. Регламент (ЕС) №1334/2008 Європейського Парламенту і Ради від 16 грудня 2008 року про висухоароматическі добавки і деякі інші харчові інгредієнти, які мають ароматическі властивості, які використовують в харчових продуктах і на їх поверхні, вносячи поправки в Регламент Ради (ЄЕС) №1601/91, Регламенти (ЕС) № 2232/96 і (ЕС) № 110/2008 і Директиву 2000/13/ЄС. Режим доступа: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/1334-2008.pdf> (10.10.2018).

80. Регламент Комісії (ЄС) № 2074/2005 від 5 грудня 2005 року, який встановлює імплементаційні заходи для певних продуктів згідно з Регламентом (ЄС) № 853/2004 Європейського Парламенту і Ради, і для організації офіційних контрольних перевірок згідно з Регламентом (ЄС) № 854/2004 Європейського Парламенту і Ради і Регламентом (ЄС) № 882/2004 Європейського Парламенту і Ради, частково скасовуючи Регламент (ЄС) № 852/2004 Європейського Парламенту і Ради і вносячи поправки в Регламенти (ЄС) № 853/2004 і (ЄС) № 854/2004. Режим доступа: <https://www.fsvps.ru/fsvps/download/attachment/1646/2074-2005.pdf> C:\Users\User\Downloads\2074-2005 (2).pdf (10.10.2018).

81. Регламент Ради (ЄС) № 834/2007 від 28 червня 2007 року стосовно органічного виробництва і маркування органічних продуктів, та скасування Постанови (ЄЕС) № 2092/91. Режим доступа:

http://organicstandard.com.ua/files/standards/ua/ec/EU%20Reg_834_2007%20Organic%20Production_UA.pdf (10.10.2018).

82. Регламент Ради (ЄС) № 104/2000 від 17 вересня 1999 року щодо спільної організації ринків продуктів рибальства і аквакультури. Режим доступу: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2000:017:0022:0052:EN:PDF> (10.10.2018)

83. Риба заморожена. ДСТУ 4868:2007. [Увед. вперше; чинний від 2009.01.01]. К.: Держспоживстандарт.

84. Риба хрящова заморожена. ДСТУ 6093:2009. [Увед. вперше; чинний від 2009.02.02]. К.: Держспоживстандарт.

85. Романова О.А., Волошина О.О., Гавриленко О.О. Глобальні та національні проблеми економіки. *Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського*. 2015. Випуск 8. С. 603-608.

86. Санітарні норми та правила в Україні: упорядник Роїна О.М. 3-є вид., доп. та перероб. Київ: КНТ, 2006. 521 с.

87. Салата В.З., Кухтин М.Д., Семанюк В.І., Перкій Ю.Б. Динаміка мікрофлори охолодженої і примороженої яловичини за її зберігання. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2017. Т.19. №73. С. 178.

88. Салата В.З., Кухтин М.Д. Мікрофлора охолодженої і примороженої яловичини за холодильного зберігання. *Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії*. 2017. Т. 2. В. 34. С. 332-336.

89. Сборник научно-технологической и методической документации по аквакультуре. М.: ВНИИРО. 2001. 242 с.

90. Секретарюк К.В., Данко М.М., Стибель В.В. Ветеринарна санітарія в рибництві. М.: Універсум Паблішинг, 2002. 177 с.

91. Сибикин М.Ю. Технология производства охлажденной и мороженой рыбы: учебное пособие для ВУЗов. М.-Берлин: Директ-Медиа, 2015. 298 с.

92. Системи управління безпечністю харчових продуктів. Вимоги до будь-яких організацій харчового ланцюга. ДСТУ ISO 22000: 2007. [Чинний від 2 квітня 2007 р]. К.: Держспоживстандарт.

93. Системи управління безпечністю харчових продуктів. Вимоги. ДСТУ 4161–2003. [Чинний від 1 липня 2003 р]. К.: Держспоживстандарт.

94. Скидан О. Система оперативного оповіщення про ситуацію у сфері харчових продуктів в ЄС: корисний досвід для України. *Стандартизація, сертифікація, якість*. 2007. № 4. С. 54-58.

95. Технология продуктов из гидробионтов: кол. авт.: под ред. Сафроновой Т.М., Шендрюка В.И. М.: Колос, 2001. 496 с.

96. Формування механізмів управління якістю та підвищення конкурентоспроможності підприємств: VI Міжнародна науково-практична Інтернетконференція студентів, аспірантів та молодих вчених: тези доповідей (Дніпропетровськ, 26 березня 2015 р.) Дніпропетровськ: Університет Альфреда Нобеля, 2015. 320 с.

97. Фотіна Т.І., Петров Р.В., Горчанок Н.В. Ветеринарно-санітарна експертиза риби, морських ссавців та безхребетних тварин. Вінниця: Нова книга, 2013. 120 с.

98. Хвостов П.Є. Упаковывание с использованием модифицированной газовой среды. DP Air Gas. URL :<http://dpairgas.com.ua/?p=1393> (дата звернення: 15.10.14).

99. Хицька О.А., Ковальський В.В. Критерії оцінки показників якості та безпечності мороженої риби. Режим доступа: http://nvvm.btsau.edu.ua/sites/default/files/visnyky/vet/visnik_vet-2-2016.pdf (7.10.2018).

100. Abbas K.A., Mohamed A., Jamilah B., Ebrahimian M. A review on correlations between fish freshness and pH during cold storage. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 2008. Vol. 4. №. 4. P. 416-421.

101. Adams M.R., Moss M.O. Food microbiology. 3rd edition. Cambridge: RSC Publ., 2008. 577 p.

102. Alparslan Y., Hasanhocaoglu H., Metin C., Baygar T. Determination of meat quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) sold at different selling areas. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2014. Vol. 26. N. 3. P. 293-301.
103. Akinbowale O. L., Peng H., Barton M.D. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology*. 2007. Vol. 100 (5). P. 1103–1113.
104. Akinbowale O.L., Peng H., Barton M.D. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from aquaculture sources in Australia. *J. Appl Microbiol.* 2007. Vol. 103, P. 2016-2025.
105. Al-Jasser M.S., Al-Jasass F.M. 2014. Study the chemical, physical changes and microbial growth as quality measurement of fish. *Annual Research and Review in Biology*. 2014. Vol. 4. N. 9. P. 1406-1420.
106. Amany Z.F.M. Some bacteria contaminating fish and fish products. Thesis for the degree of ph. D.V.Sc. (Meat Hygiene). Fac. Vet. Med. Zagazig Univ. (Benha Branch). 2004.
107. Austin B. The bacterial microflora of fish, revised. *The Scientific World JOURNAL*. 2006. Vol. 11. N. 6. P. 931–945.
108. Austin B. The bacterial microflora of fish. *The Scientific World JOURNAL*. 2002. N. 2. P. 558-572.
109. Badii F., Howell N.K. A comparison of biochemical changes in cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) fillets during frozen storage. *J. Sci. Food Agric.* 2002. Vol. 82. N. 1. P. 87-97.
110. Bakhiet H.H.A., ALmegdad S., ALgily S. Effect of different freezing periods on the chemical composition of the fish Nile Tilapia (*Oreochromus niloticus*). *Direct Res. J. Agric. And Food Sci.* 2017. Vol. 5. N. 3. P. 130-132.
111. Bayer E.V., Novozhitskaya Yu.N., Shevchenko L.V., Mykhalska V.M. Monitoring of residues of veterinary preparations in food products. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2017. Vol. 7. N. 3. P. 251–257.

112. Beklevik G, Polat A, Ozogul F. Nutritional value of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets during frozen (-18°C) storage. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2005. Vol. 29. P. 891- 895.

113. Berkel B.M., Boogaard B.V., Heijnen C. Preservation of fish and meat Agromisa Foundation, Wageningen. The Netherlands. 2004. N. 8. P. 78–80.

114. Bhowmick P.P., Khushiramani R., Raghunath P., Karunasagar I., Karunasagar I. Molecular typing of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood harvested along the south-west coast of India. *Lett. Appl. Microbiol*, 2008. Vol. 46. P. 198–204.

115. Bogatko N.M., Vlasenko V.V., Golub A.Yu. State veterinary–sanitary supervision and control capacities of fish processing and fish products in accordance with international requirements: guidelines for students PNXM practical doctors of veterinary medicine, students and undergraduates. FVM. 2011.

116. Broekaert K., Heyndrickx M., Herman L., Devlieghere F., Vlaemynck G. Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. *Food Microbiology*. 2011. Vol. 28, N.. 6, P. 1162-1169.

117. Brock T.D. Absence of obligately psychrotrophic bacteria in constantly Yoder. *Am. Midland Nat.* 1973. N. 90. P. 240-246.

118. Brock T.D., Thomas D. Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperatures. Yellowstone National Park. 1978. 451.

119. Cabello F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol.* 2006. N. 8. P. 1137-1144.

120. Caruso G. Antibiotic Resistance in Fish Farming Environments: A Global Concern. Режим доступа: <http://www.fisheriessciences.com/fisheries-aqua/antibiotic-resistance-in-fish-farming-environments-a-globalconcern.php?aid=11240> (7.10.2018).

121. Cattoir V., Poirel L., Mazel D., Soussy C.-J., Nordmann P. *Vibrio splendidus* as the source of plasmid-mediated QnrS-like quinolone resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007. Vol. 51. N. 7. P. 2650-2651.
122. Chouliara I., Savvaidis I.N., Panagiotakis N., Kontominas M.G. Reservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *Food Microbiology.* 2004. Vol. 21. P. 351–359.
123. Alasalvar C., Taylor K.D.A., Öksüz A. Comparison of freshness quality of cultured and wild sea bass. *Journal of Food Science.* 2002. Vol. 67. P. 9–11.
124. Denev S., Staykov Y., Moutafchieva R., Beev G. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. *Int. Aquat Res.* 2009. N. 1. P. 1-29.
125. De B.C., Meena D.K., Behera B.K., Das P., Das Mohapatra P.K. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 40. N. 3. P. 921-971.
126. Duran G.M, Marshall D.L. Ready-to-eat shrimp as an international vehicle of antibiotic-resistant bacteria. *J. Food Prot.* 2005. Vol. 68. P. 2395-2401.
127. Economou V., Gousia P. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infect Drug Resist.* 2015. N. 8. P. 49-61.
128. El-deen G, El-shanrely M.N. Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.* 2010. Vol. 2. N. 2. P. 65-74.
129. El-Noby M.A.O. Psychotropic bacteria in marketed fish. M. V. Sc. Thesis (Meat Hygiene). Fac. Vet. Med., Zagazig Univ. 2002.
130. Emire S.A, Gebremariam M.M. Influence of frozen period on the proximate composition and microbiological quality of Nile Tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). *J Food Process. Preserv.* 2009. Vol. 34. N. 4. P. 743-757.
131. Ercolini D., Russo F., Nasi A., Ferranti P., Villani F. Mesophilic and Psychrotrophic Bacteria from Meat and Their Spoilage Potential In Vitro and in Beef. *Applied and environmental microbiology.* 2009. Vol. 75. N. 7. P. 1990-2001.

132. Ercolini D., Casaburi A., Nasi A., Ferrocino I., Monaco R. D., Ferranti P., Mauriello G., Villani F. Different molecular types of *Pseudomonas fragi* have the same overall behaviour as meat spoilers. *International Journal of Food Microbiology*. 2010. Vol. 142. N. 12. P. 120 – 131.

133. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. *European Food Safety Authority Journal*. 2013. Vol.11. N. 6. P. 3241.

134. European Commission (2013). The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). URL: [http://ec.europa.eu/food/\[2014-11-18\]](http://ec.europa.eu/food/[2014-11-18]). (7.10.2018 p.)

135. Food and Drug Administration. Refrigerator and Freezer Storage Chart; 2015. URL: <http://www.fda.gov/downloads/food/foodborneillnesscontaminants/ucm109315.pdf>. (Last accessed: 18.03.2016).

136. Franzetti L., Scarpellini M. Characterization of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology*. 2007. Vol. 57. N. 1. P. 39-47.

137. Feng M., Yan L., Zhang X., Sun P., Yang S. Fast removal of the antibiotic flumequine from aqueous solution by ozonation: Influencing factors, reaction pathways, and toxicity evaluation. *Sci. Tot. Environ*. 2016. Vol. 541. P. 167-175.

138. Ghaly A.E., Dave D., Budge S., Brooks M.S. Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review. *Am. J. Appl. Sci*. 2010. Vol. 7. Issue 7. P. 859-877.

139. Gonzalez C.J., Lopez-Diaz T.M., Garcia-Lopez M.L., Prieto M., Otero A. Bacterial microflora of wild brown trout (*Salmo trutta*), wild pike (*Esox lucius*), and aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Protection*. 1999. Vol. 62. N. 11. P. 1270-1277.

140. Gram L., Huss H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol*. 1996. Vol. 33. P. 121-137.

141. Gram L., Trolle G., Huss H. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20 °C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology*. 1987. Vol. 4. N. 1. P. 65-72.

142. Grigorakis K., Rigos G. Aquaculture effects on environmental and public welfare – the case of Mediterranean mariculture. *Chemosphere*. 2011. Vol. 85. N. 6. P. 899–919.

143. Grynevych N., Sliusarenko A., Dyman T., Sliusarenko S., Gutyj B., Kukhtyn M., Hunchak V., Kushnir V. Etiology and histopathological alterations in some body organs of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) at nitrite poisoning. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8. N. 1. P. 402–408.

144. Grynevych N., Dyman T., Kukhtyn M., Semanyuk N. Composition of psychrotrophic microflora of water and biofilter filler in recirculation aquaculture system on trout farm. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2017. Vol. 8. N. 3. P. 900–905.

145. Halda – Alija L., Subangi R.K. *Aeromonas salmonicida*, fresh water wet land rhizobacterium, fish pathogens and potential environmental indicator. *J. Mississippi Academy of Sciences*. 2004. Vol. 49. N. 2. P. 127-144.

146. Halda – Alija L., Johnston T.C. Diversity of culturable heterotrophic aerobic bacteria in pristine stream bed sediments. *Canadian Journal of Microbiology*. 2003. Vol. 49. N. 12. P. 781-787.

147. Hamza A.A. Occurrence of some potential food poisoning bacteria associated with marketed and farm fish. M.V.Sc. Thesis, Faculty of Vet. Med., Tanta University (Kafr El-Sheik branch). 2004.

148. 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. N. 27, (1). P. 78–83.

149. Heuer O.E., Kruse H., Grave K., Collignon P., Karunasagar I. Human Health Consequences of Use of Antimicrobial Agents in Aquaculture. *Clin. Infect. Dis.* 2009. Vol. 49. P. 1248-1253.

150. Hozbor M.C., Saiz A.I., Yaennes M.I., Firtz, R. Microbiological Changes and its Correlation with Quality Indices during Aerobic Ice Storage of Sea Salmon. *Food Science Technology*. 2006. Vol. 39. N. 2. P. 99-104.

151. Igbinsosa E.O. Detection and Antimicrobial Resistance of *Vibrio* Isolates in Aquaculture Environments: Implications for Public Health. *Microb. Drug Resist.* 2016. Vol. 22. P. 238-245.

152. 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. Vol. 50. N. 18. P. 5167–5178.

153. Kamal M., Islam M.N., Mansur M.A., Hossan M.A., Bhuiyan M.A. Biochemical and sensory evaluation of hilsa fish (Hilsa ilisha), during frozen storage. *Indian J Mar Sci*. 1996. Vol. 25. P. 320-323.

154. Khidhir Z.K., Jaff B.M.A., Saleh H.H. Assessment of the microbial quality of five types of Iraqi fresh fish in Sulaimania markets. *Journal of Zankoy Sulaimani*. Part A. 2014. Vol. 16. P. 251-260.

155. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators*. 2008. Vol. 8. N. 1. P. 1–13.

156. Kovalenko V. L., Kovalenko P.L., Ponomarenko G.V., Kukhtyn M.D., Midyk S.V., Horiuk Yu.V., Garkavenko V.M. Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants Barez, Biochlor and Geocide . *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. N. 8 (1). P. 402–408.

157. Kraft A. A. Psychrotrophic bacteria in food: disease and spoilage. Boca Raton: CRC Press, 1992. 274 p.

158. Kukhtyn M., Berhilevych O., Kravcheniuk K., Shynkaruk O., Horiuk Y., Semaniuk N. Formation of biofilms on dairy equipment and the influence of disinfectants on them. *Eastern-European journal of Enterprise Technologies*. 2017. Vol. 5. N. 11 (89) P. 26–33.

159. Laganà P., Caruso G., Minutoli E., Zaccone R., Delia S. Susceptibility to antibiotics of *Vibrio* spp. and *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* strains isolated from Italian aquaculture farms. *New Microbiologica*. 2011. Vol. 34. P. 53-63.
160. Le T.S., Muneke Y., Kato S. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas. *Sci. Total Environ*. 2005. Vol. 349. P. 95-105.
161. Liston J. Fish and shellfish and their products. *International Commission on Microbiological Specifications for Foods / ICMSF (Ed.), Microbial ecology of food*. 1980.
162. Mansour A.F.A., El-Shaboury F.A. Prevalence of psychrotrophic food borne pathogens in fish in Alexandria markets. *Assuit. vet. Med. J*. 2009. Vol. 55. N. 121. P. 154-161.
163. Martinez C.P., Ibanez A.L., Monroy Hermosillo O.A., Ramirez Saad H.C. Use of Probiotics in Aquaculture. *ISRN Microbiology*. 2012. 13 p.
164. McManus A., Fielder L., Newton W., White J. Health benefits of seafood for men. *Journal of Men's Health*. 2011. Vol. 8. N. 4. P. 252–257.
165. Michel C., Kerouault B., Martin C. Chloramphenicol and florfenicol susceptibility of fish—pathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria. *J. Appl. Microbiol*. 2003. Vol. 95. P. 1008-1015.
166. 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. Vol. 53. Pt. B. P. 182-191.
167. Millanao A.B., Barrientos M.H., Gomez C.C., Tomova A., Buschmann A. Injudicious and excessive use of antibiotics: Public health and salmon aquaculture in Chile. *Rev. Med. Chile*. 2011. Vol. 139. P. 107-118.
168. Miranda C.D., Zemelman R. Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. *Aquaculture*. 2002. Vol. 212. P. 31-47.

169. Miranda C.D., Kehrenberg C., Ulep C., Schwarz S., Roberts M.C. Diversity of Tetracycline Resistance Genes in Bacteria from Chilean Salmon Farms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003. Vol. 47. P. 883-888.
170. Miranda C.D., Zemelman R. Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. *Sci. Total. Environ.* 2002. Vol. 293. P. 207-218.
171. Miller R., Harbottle H. Antimicrobial Drug Resistance in Fish Pathogens. *Microbiol Spectr.* 2018. Vol. 6. N. 1. P. 501-520.
172. Mohammed Saud Al-J., Fahad Mohammed Al-J. Study the chemical, physical changes and microbial growth as quality measurement of fish. *Annual Research & Review in Biology.* 2011. Vol. 4. N. 9. P. 1406–1420.
173. Morita R. Y. Psychrotrophic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 1975. N. 39. P. 189–190.
174. 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. N. 58. P. 421–427.
175. Mulcahy D. Antibiotic use during the intracoelomic implantation of electronic tags into fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* 2011. Vol. 21. N. 1. P. 83–96.
176. Myers M.L., Durborow R.M. Aquacultural safety and health. (Chapter 15). *Health and environment in aquaculture* / in E. Carvalho. 2012. P. 385–400.
177. Nielsen J., Jessen F. Quality of Frozen Fish. *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality* / Nollet L. M. L. (Ed.). Blackwell Publishing, Iowa. 2007. P. 577-586.
178. 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. N. 2. P. 5.
179. Norway Trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in humans, foodstuffs, animals and feedingstuffs. The Zoonosis Report, 2013. URL:

http://www.finewinefinland.com/eng/content/download/13493/163656/file/Zoonoses_Report_2013_Norway.pdf (7.10.2018 p.).

180. Nwabueze A.A., Nwabueze E.O. Microbial flora of fish feed sold in Asaba Southern Nigeria. *American Journal of Experimented Agriculture*. 2011. Vol. 1. N. 2. P. 27-32.
181. Obemeata O., Nnenna F.P., Christopher N. Microbiological assessment of stored Tilapia guineensis. *Afric. J. Food Sci.* 2011. Vol. 5. N. 4. P. 242-247.
182. Oliveri Conti G. Determination of illegal antimicrobials in aquaculture feed and fish: An ELISA study. *Food Control*. 2015. Vol. 50. P. 937–941.
183. Oramadike C.E., Ibrahim A.O., Kolade O.Y. Biochemical and microbiological quality of frozen fishes available in some supermarkets in Lagos State Nigeria. *Acta SATECH*. 2010. Vol. 3. N. 2. P. 48-51.
184. Özogul Y., Ozyurt G., Özogul F., Kuley E., Polat A. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chem.* 2005. Vol. 92. P. 745-751.
185. Özogul F., Yavuzer E., Özogul Y., Kuley E. Comparative quality loss in wild and cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilling storage. *Food Sciences and Technology Research*. 2013 Vol. 19. N. 3. P. 450-454.
186. Özogul F., Özogul Y. Comparison of methods used for determination of total volatile basic nitrogen (TVB-N) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology*. 2000. Vol. 24. P. 113-120.
187. Ozogul Y., Boga E.B., Tokur B., Ozogul F. Changes in biochemical, sensory and microbiological quality indices of common Sole (*Solea solea*) from the Mediterranean Sea during ice storage. *Turk. J. Fish. Aquat. Sc.* 2011. Vol. 11. P. 243-251.
188. Ozogul Y., Ozogul F. Fatty acid profiles of commercially important fish species from the mediterranean, aegean and black seas. *Food Chem.* 2007. Vol. 100. P. 1634-1638.
189. Orji J.O., Okonkwo E.C., Umezulike O.I., Ayim C. Survey of the microbiological quality of frozen fish marketed in Abakaliki Metropolis and its

implication for consumer health. *International Journal of Scientific Research*. 2014. Vol. 3. P. 2277-8179.

190. Park Y.H., Hwang S.Y., Hong M.K., Kwon K.H. Use of antimicrobial agents in aquaculture. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2012. Vol. 31. P. 189-197.

191. Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sanchez M.E., Robles-Burgueno M.R. Postmortem biochemical characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. *J. Food Sci.* 2000. Vol. 65. P. 40-47.

192. Palyshniuk K., Tkahuk S. The amino acid composition of broiler chickens meat after oral administration “Dankosan-50” . *Сучасне птахівництво*. 2016. № 5-6. С.38–40.

193. Perin L.M., Miranda R.O., Todorov S.D., de Melo Franco B.D.G., Nero L.A. Virulence, antibiotic resistance and biogenic amines of bacterio cinogenic lactococci and enterococci isolated from goat milk. *International Journal of Food Microbiology*. 2014. Vol. 185. P. 121–126.

194. P´erez-Rodr´iguez F., Valero A., Carrasco E., Garca R., Zurera G.). Understanding and modelling bacterial transfer to foods. *Trends in Food Science & Technology: a review*. 2008. Vol. 19. N. 3. P. 131-144.

195. 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. Vol. 10. N. 1. P. 431–436.

196. Popelka P., Nagy J., Pipová M., Marcinčák S., Lenhardt, L. Comparison of chemical, microbiological and histological changes in fresh, frozen and double frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. Brno*. 2014; Vol. 83. P. 157-161.

197. Popelka P., Luptakova O., Marcincak S., Nagy J., Mesarcova L., Nagyova A. The effect of glaze and storage temperature on the quality of frozen mackerel fillets. *Acta Vet. Brno*. 2012. Vol. 81. P. 397-402.

198. Ram C.S., Parvati S. Probiotics: the new ecofriendly alternative measures of disease control for sustenaible aquaculture. *J. Fish Aquat. Sci.* 2012. Vol. 7. P. 72-103.

199. Ramirez R.F., Dixon B.A. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscars (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*, 2003. Vol. 227. P. 417-426.
200. Rodgers C.J., Furones M.D. Antimicrobial agents in aquaculture: practice, needs and issues. *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediteranean aquaculture* / Rogers C., Basurco B. (ed.). Zaragoza: CIHEAM, 2009. Series A. N. 86. P. 41-59.
201. Rezaei M., Hosseini S.F., Langrudi H.E., Safari R., Hosseini S.V. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Food Chem.* 2008. Vol. 106. P. 1161-1165.
202. Rey M.S., García-Soto B., Fuertes-Gamundi J.R., Aubourg S., Barros-Velázquez J. Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *LWT, Food Science and Technolog.* 2012. Vol. 46. P. 217–223.
203. Ryder J.M., Fletcher G.C., Stec M.G., Seelye R.J. Microbiological and chemical changes in hake stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology.* 1993. Vol. 28. P. 169-180.
204. Samanidou V.F., Evaggelopoulou E.N. Analytical strategies to determine antibiotic residues in fish. *Journal of Separation Science.* 2007. N. 30. P. 245 –252.
205. Shamsuzzaman M. M., Mazumder S.K., Siddique M.A., Mia M.N.U. Microbial quality of hilsa shad (*Tenualosa ilisha*) at different stages of Processing. *Journal of the Bangladesh Agricultural University.* 2011. Vol. 9. N. 2. P. 339-344.
206. Schmidt A.S., Bruun M.S., Dalsgaard I., Pedersen K., Larsen J.L. Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four danish rainbow trout farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. Vol. 66. P. 4908-4915.
207. Schmidt A.S., Bruun M.S., Dalsgaard I., Larsen J.L. Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-

associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. Vol. 12. P. 5675-5682.

208. Sciacca S., Ferrante M., Conti G. O. Mutagens and carcinogens in water resources. Chapter 5. *Water disinfection* / in K.M. Buchanan (Ed.). New York: Nova Publishers. 2011. P. 143–167.

209. Siddiqui M.R., Ali M. Effect of ice storage prior to freezing on the quality of frozen shrimp. *Pak. J. Sci. Ind. Res.* 1979. Vol. 6. N. 22. P. 327.

210. Simeonidou S., Govaris A., Vareltzis K. Effect of frozen storage on the quality of whole fish and fillets of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) and Mediterranean hake (*Merluccius mediterraneus*). *Z Lebensm. Unters Forsch. A.* 1997. Vol. 204. Is.6. P. 405-410.

211. Singh S.B., Young K., Silver L.L. What is an “ideal” antibiotic? Discovery challenges and path forward. *Biochemical pharmacology.* 2017. Vol. 133. P. 63-73.

212. Sivertsvik M., Jeksrud W.K., Rosnes J.T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Sciences and Technology.* 2002. Vol. 37. P. 107-127.

213. Su H.C., Ying G.G., Tao R., Zhang R.Q., Fogarty L.R. Occurrence of antibiotic resistance and characterization of resistance genes and integrons in Enterobacteriaceae isolated from integrated fish farms in South China. *J. Environ. Monit.* 2011. Vol. 13. P. 3229-3236.

214. Topic Popovic N., Benussi Skukan A., Dzidara P., Coz-Rakovac R., Strunjak-Perovic I., Kozacinski L., Jadan M., Brlek-Gorski D. Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicin.*, 2010. Vol. 55. N. 5. P. 233–241.

215. Velu S., Bakar A.F., Mahyudin N.A., Saari N., Zaman M.Z. Effect of modified atmosphere packaging on microbial flora changes in fishery products. *International Food Research Journal.* 2013. Vol. 20, N. 1, P. 17-26.

216. Vogel B.F., Venkateswaran K., Satomi M., Gram L. Identification of *Shewanella baltica* as the most important H₂S-producing species during iced storage of Danish marine fish. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005. Vol. 71. P. 6689-6697.

217. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Vol. 3: The Firmicutes. London - New York: Springer Science & Business Media, 2011. 1422 p.

218. Critically important antimicrobials for human medicine: categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to non-human use. Report of the Second WHO Expert Meeting (29–31 May 2007, Copenhagen). Geneva: WHO Press, 2007. 34 p.

219. Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. Copenhagen. Denmark: WHO World Health Organization. 2011. 62 p.

220. Woese C.R. Bacterial evolution. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1987. Vol. 51. N. 2. P. 221–271.

221. 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.

222. Zamir M., Qasim R., Ullah A. Changes in physical and chemical constituents of crab meat during storage at refrigerator temperature ($7\pm 2^{\circ}\text{C}$). *Pak. J. of Pharma. Sci.* 1998. Vol. 11. N. 1. P. 27-33.

**КУХТИ МИКОЛА ДМИТРОВИЧ
МАЛІМОН ЗОЯ ВАСИЛІВНА**

**МІКРОФЛОРА ЗАМОРОЖЕНОЇ РИБИ
ІМПОРТОВАНОЇ В УКРАЇНУ**

Монографія

Комп'ютерне макетування та верстка

Формат 60x90/16. Обл. вид. арк. 5,54. Тираж __ прим.

Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя

46001, м. Тернопіль, вул. Руська, 56.

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4226 від 08.12.11.