

INFLUENCE OF THE FLAVONOID QUERCETIN ON THE MICROORGANISMS OF FRESHLY FISH AND THE CONTENT OF AMINO-AMMONIUM NITROGEN DURING HYPOTHERMAL STORAGE

V. Yevlash, L. Gazzavi-Rogozina, I. Piliugina

State Biotechnological University

O. Falko, V. Chizhevskiy

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine

Key words:

Fish products

Carp

Phenolic compounds

Quercetin

Spoilage

Microflora

MAFAnM

Amino-ammonia nitrogen

Article history:

Received 03.07.2022

Received in revised form

19.07.2022

Accepted 13.08.2022

Corresponding author:

L. Gazzavi-Rogozina

E-mail:

gazzavi@ukr.net

Citation: Євляш В. В., Газзаві-Рогозіна Л. В., Пілюгіна І. С., Фалько О. В., Чижевський В. В. Вплив флавоноїду кверцетину на мікроорганізми свіжовиловленої риби та вміст аміно-аміачного азоту при гіпотермічному зберіганні. *Наукові праці НУХТ*, 29(5), 99—110..

DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-5-10

ABSTRACT

Fish is consumed all over the world because of its abundant nutrition and delicious taste. However, it has high moisture content, abundant unsaturated fatty acids and strong microbial activity. It is a perishable product during storage due to oxidation, endogenous enzymes and bacteria. Thus the fish is prone to spoilage, affecting the product quality and reducing the market value. In order to ensure the quality and safety of fish during storage and transportation, it is necessary to adopt specific preservation methods. Traditional preservation methods mainly include freezing storage, chilled storage and chemical preservation. Adding food preservatives is the most direct and effective method of delaying oxidation and spoilage of fish products during storage and processing. Recently, polyphenols have been increasingly used as natural preservatives in the food industry because of their excellent antioxidant and antibacterial properties.

The results of the study of the influence of the flavonoid quercetin and quercetin clathrate on microorganisms of freshly caught mirror carp and the content of amino-ammonium nitrogen during hypothermic storage at temperatures of +2 °C and 5±1 °C were presented. A bacterioscopic study of the freshness of fish was carried out using the Gram-stained smear method, changes in the number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms and the content of amino-ammonium nitrogen during storage for 6 and 9 days were determined. It was established that giving quercetin and quercetin clathrate in the amount of 0.4 g/l and 2.0 g/l is the most effective in suppressing the development of microflora of mirror carp for further conservation.

DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-5-10

ВПЛИВ ФЛАВОНОЇДУ КВЕРЦЕТИНУ НА МІКРООРГАНІЗМИ СВІЖОВИЛОВЛЕНОЇ РИБИ ТА ВМІСТ АМІНО-АМІАЧНОГО АЗОТУ ПРИ ГІПОТЕРМІЧНОМУ ЗБЕРІГАННІ

В. В. Євлаш, Л. В. Газзаві-Рогозіна, І. С. Пілюгіна

Державний біотехнологічний університет

О. В. Фалько, В. В. Чижевський

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

Риба — це продукт високої харчової цінності, оскільки містить білки (13—23%), жири (0,1—33%), мінеральні речовини (1—2%), вітаміни А, D, E, В₁, В₁₂, РР, С, екстрактивні речовини і вуглеводи. Це продукт швидкого псування під час зберігання через окиснення, ендogenous ферменти та бактерії, тому з моменту вилову до остаточної обробки риба повинна перебувати в умовах, що гальмують розвиток автолітичних і бактеріальних процесів. Швидкоплинність цих процесів залежить від температури навколишнього середовища, а також від виду риби. Існує багато способів і шляхів продовження термінів зберігання свіжовиловленої риби. Рибу охолоджують відразу ж після улову. Охолодження проводять чистим льодом або охолодженою водою з додаванням антисептиків і антиокислювачів або без них. Також для продовження термінів зберігання рибу піддають заморожуванню, для цього застосовують природний і штучний холод, льодосоляну суміш і розсільний спосіб. З метою зменшення мікробіологічного обміненія, уповільнення процесів окиснення та псування свіжої риби, завітрювання, втрати природного кольору та вологості для обробки риби використовують харчові консерванти.

У той же час, порівняно з синтетичними антиоксидантами, розробка натуральних, нетоксичних, низькотемпературних, більш ефективних біологічних консервантів, заснованих на антибактеріальному та антиоксидантному механізмі біологічних агентів, більш прийнятна для споживачів. Тип і молекулярна структура поліфенолів впливають на їх антиоксидантну та антибактеріальну ефективність.

У статті досліджено вплив флавоноїду (кверцетин і кверцетин клатрат) на мікрофлору коропа дзеркального та вміст аміно-аміачного азоту в ньому в умовах гіпотермічного зберігання.

Ключові слова: *рибна продукція, короп, фенольні сполуки, псування, мікрофлора, МАФАНМ, аміно-аміачний азот.*

Постановка проблеми. *Продукція рибної промисловості — це морські та прісноводні гідробіонти, включаючи рибу, креветки, краби, молюски, водорості тощо. Ця продукція більш схильна до псування, ніж наземні тварини через високий вміст води, ендogenous ферменти та нейтральний рН порівняно з продуктами тваринного походження (Kluga, & Kasaniová, 2017; Luan, Fu, Yuan, Ishimura та ін.,*

2017). Зміна органолептики та поява шкідливих речовин при обробці та зберіганні, впливає на широкі довгострокові продажі цих продуктів (Blackburn, 2006), тому велике практичне значення має покращення поживних властивостей і продовження терміну зберігання рибної продукції.

Щоб гарантувати якість і збереження риби при зберіганні та транспортуванні, необхідно використовувати спеціальні методи консервації. Традиційні методи консервації в основному включають заморожування, охолодження та хімічну консервацію. Морозильне сховище споживає багато енергії і кристали льоду легко призводять до зміни якості риби. Охолодження риби не здатне повністю пригнітити біохімічні реакції та бактеріологічну активність, що впливають на смак, колір, консистенцію та поживну цінність риби. Хімічна консервація ефективна, але створює ризик для здоров'я споживачів. Консервація при частковому заморожуванні ефективно пригнічує розмноження мікроорганізмів, активність ендогенних ферментів, але в процесі утворюються крихітні кристали льоду, що призводить до змін якості риби (Fanghui, Shao, Xiaoye, & Ma, 2022).

Останнім часом поліфеноли все частіше використовуються як натуральні консерванти в харчовій промисловості через їх антиоксидантні та антибактеріальні властивості. Різні поліфеноли мають фітохімічні та біологічні властивості. Кверцетин — флавоноїд, який має дуже великий антиоксидантний ефект (Fanghui, Shao, Xiaoye, & Ma, 2022), тому є актуальним вивчення можливості використання флавоноїдів для покращення якості та продовження терміну зберігання рибної продукції в умовах гіпотермічного зберігання.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Ключові фактори псування рибної продукції при зберіганні — це розкладання білків, ліпідів та дія мікроорганізмів. Свіжовилловлена риба може бути в значній мірі контамінована мікроорганізмами. Рівень контамінації і якісний склад мікроорганізмів залежать від ряду умов: сезону та способу лову, температури та ступеня забруднення води, глибини проживання риби. Якісний склад мікрофлори, що знаходиться на поверхні риби, близький до мікрофлори води. У рибі, вилловленій у холодних і помірних регіонах та в холодний час в будь-яких широтах, переважали представники психрофільних, безспорових, грамнегативних бактерій, що відносяться до родів *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*. У теплу пору року і в теплих водах поверхнева мікрофлора шкірних покривів риб представлена мезофільною мікрофлорою — різними видами мікрококів, коринебактерій. Деякі з вказаних бактерій володіє протеолітичними, жиророзщеплювальними, кислотоутворюючими властивостями. Найбільш активні протеолітичні ферменти мають бактерії родин *Pseudomonas* і *Achromobacter*. Число клітин мікроорганізмів у м'язовій тканині риби, що досягає $8 \cdot 10^5$ в 1 г, є максимальним щодо придатності риби для харчування. (Austin, 2006; Terentjeva та ін., 2015; Gram, & Dalgaard, 2002; Davies та ін., 2001).

Додавання харчових консервантів — це найбільш прямий та ефективний метод щодо уповільнення окиснення і псування продукції рибної промисловості при зберіганні та обороті. Однак дослідження показали, що деякі синтетичні хімічні речовини, такі як трет-бутилгідрокінон (ТВНҚ), пропілгалат (PG), бутилгідроксіанізол (ВНА), дибутилгідрокси толуол (ВНТ) і сорбат калію становлять певну небезпеку, ризики пов'язані з можливістю викликати рак, тератогенез чи мутагенність (Soladoye та ін., 2015; Silva та ін., 2020; Wang T. T., 2017).

У наш час фітохімічні речовини пропагуються як безпечні, екологічні, біологічні консерванти, які діляться на поліфеноли, каротиноїди, фітостерини, β -глікозиди залежності від їх хімічної структури (Higdon, & Drake, 2013). Поліфеноли мають бактеріцидну, антиоксидантну та інгібуючу дію (Oroku-Temeng, & Sintim, 2016). Поліфенольні екстракти можуть бути отримані з фруктів, овочів та спецій.

Наприклад, поліфеноли чаю складають 10—15% сухих речовин зеленого чаю, включаючи флаванони, флавоноли, фенольні сполуки кислоти, дубильні речовини, теафлавіни та теарубігіни (Tguong, & Jeong, 2021), з яких на частку флаванонів припадає більше половини. За хімічною структурою поліфенольні сполуки, зазвичай, поділяють на фенольні кислоти (галова кислота), флавоноїди (проантоціанідин і кверцетин) та стильбени (наприклад, ресвератрол) (Olszewska, Gędas & Simoes, 2020). Доведено, що поліфеноли мають здатність пригнічувати зростання мікробів під час зберігання продукції рибної промисловості (Zhiliang Huang, Qi Wang, Jun Cao, Dayong Zhou & Chuan Li, 2023). Показано, що введення поліфенолів рослинної сировини до складу харчових продуктів дає змогу одержати вироби з подовженим терміном зберігання (Wang, & Sun, 2016; Wei та ін., 2021).

Низка публікацій присвячена висвітленню питання використання кверцетину для збереження якості харчових продуктів протягом зберігання. Так, досліджено вплив обробки кверцетином на ферментативну та окиснювальну активність, якість кольору та вміст фенольних сполук у свіжозрізаний картоплі. Показано, що кверцетин відіграє важливу роль у запобіганні ферментативному потемнінню, подовженні терміну зберігання та збереженні якості свіжозрізаної картоплі (Kasnak, 2022).

Досліджено можливість використання кверцетину для розробки пакувальних плівок для харчових продуктів. Показано, що додавання кверцетину до пакувальної системи впливає на механічні, бар'єрні, термічні, оптичні, антиоксидантні, протимікробні властивості пакувальних плівок. Доведено, що плівки, функціоналізовані кверцетином, є корисними для продовження терміну зберігання та збереження якості свіжих продуктів (Swarup, Parya, & Jong-Whan, 2023).

Розроблено активні покриття на основі альгінату з використанням наночастинок гідроксиапатиту як потенційних носіїв для глікозидних сполук кверцетину і встановлено, що вони виявляють антибактеріальну дію проти *Pseudomonas fluorescens* (Malvano, Montone, & Albanese, 2021). Доведено, що використання активного покриття на основі альгінату з глікозидом кверцетину та комплексами гідроксиапатиту/кверцетин-глікозиду під час зберігання свіжозрізаної папаї за температури 6 °C дає змогу уповільнити втрату ваги, твердості, зниження рівня глюкози та фруктози, зберегти колір фруктів, зменшити втрати каротиноїдів, вітаміну С, знизити загальну кількість бактерій (Malvano та ін., 2022; Montone та ін., 2022).

Ряд наукових досліджень присвячено вивченню збереження якості коропа під час зберігання. Науковцями доведено, що занурення філе коропа в екстракти куркуми, кориці та лимона покращує такі показники псування, як тіобарбітурова кислота, легкі азотисті основи та рН. Використання цих екстрактів дає змогу зберегти поживну цінність і збільшили термін зберігання коропа в холодильних камерах за температури 4 °C до 9 діб (Mugahi, Aberoumand, & Ziaei-nejad, 2022).

Показано перспективність використання харчової плівки кукурудзяного зеїну, збагаченої екстрактом листя кропу та інкапсульованої ефірної олії кропу з β -циклодекстрином для подовження терміну зберігання охолодженого філе коропа звичайного (Zolfaghari, Bazargani-Gilani, & Aghajani, 2023).

Розроблено нове їстівне покриття на основі хітозану, збагаченого екстрактом м'яти перцевої, та доведено його ефективність для пригнічення розвитку мікроорганізмів *in vitro*, покращення якості та подовження терміну зберігання коропа звичайного (*Cyprinus carpio*) при зберіганні в холодильнику (4 ± 1 °C) (Morachis-Valdez та ін., 2021).

Значно продовжити термін зберігання філе коропа дають змогу різні методи очищення риби в поєднанні з вакуумною упаковкою (Lunda та ін., 2016).

Однак питання використання кверцетину для збереження якості коропа протягом зберігання не досліджувалось, тому вивчення можливості використання кверцетину та кверцетину клатрату для збереження якості й продовження терміну зберігання коропа є актуальним.

Мета досліджень: вивчити вплив флавоноїду (кверцетин і кверцетин клатрат) на мікрофлору коропа дзеркального та вміст аміно-аміачного азоту в ньому в умовах гіпотермічного зберігання.

Матеріали і методи. Для дослідження був обраний короп дзеркальний (*Cyprinus carpio*) осіннього вилу, вирощений у природних водоймах Харківської області. Для експерименту відбирали свіжих коропів середньою масою 500 г. Експеримент проводився в два етапи.

В експерименті використовували кверцетин (виробник — публічне акціонерне товариство «Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод») та кверцетин клатрат — це водорозчинний комплекс кверцетину з 2-гідроксипропіл β -циклодекстрином, що дає змогу підвищити його біодоступність і використовувати в меншій концентрації для досягнення еквівалентного біологічного ефекту внаслідок того, що кверцетин є слаботорозчинним у воді, тоді як клатрат кверцетину добре розчиняється у воді.

Дослідження стану коропів дзеркальних починалось через декілька годин після вилу й транспортування. Попередньо коропів очищували від луски та потрошили, укладали на керамічні піддони та обробляли розчинами кверцетину та кверцетину клатрату різної концентрації, після чого зберігали упакованими у поліетиленових пакетах за температури $+2$ °C протягом 6 діб (на першому етапі дослідження) та за температури $+5\pm 1$ °C протягом 9 діб (на другому етапі дослідження). Рибу зберігали в побутовому холодильнику Liebherr CBef 4315 використовуючи BioFresh зону з температурою $+2$ °C. Що три доби зберігання проводили оцінку мікробіологічного стану риби та визначали вміст аміно-аміачного азоту.

Підрахунок кількості мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ) проводили згідно з ГОСТ 10444.15–94. Згідно з Національним стандартом України «Риба жива. Загальні технічні вимоги» ДСТУ 2284:2010 МАФАНМ риби охолодженої не повинно перевищувати 5×10^4 КУО. Для цього готували відповідні розведення м'яса риби: 10^{-3} , 10^{-4} . Розведення вносили по 1 см³ у стерильні чашки Петрі та заливали 15 см³ охолодженого до 45 °C МПА. Чашки з посівами розташовували в термостаті за температури $+32\pm 1$ °C

на 72 год. Результати оцінювали шляхом підрахунку загальної кількості КУО. Дослідження проводили паралельно на п'яти зразках на третій і шостий день зберігання на першому етапі дослідження та на третій, шостий і дев'ятий дні зберігання — на другому етапі дослідження.

Перед дослідженнями зразків риби на показник МАФАНМ проводили бактеріоскопічне дослідження свіжості риби методом мазку-відбитку (ДСТУ 4895:2007 Риба та рибні продукти. Метод бактеріоскопічного оцінювання). Для цього на предметних скельцях робили два мазки-відбитки: один — з поверхневих шарів м'язів, розташованих під шкірою, інший — із м'язової тканини глибоких шарів м'язів, що знаходяться біля хребта. Виготовлені препарати фарбували за Грамом. Під мікроскопом підраховували середню кількість мікроорганізмів в одному полі зору. Риба вважається свіжою, коли в мазках з поверхневих шарів м'язів мікробів немає або трапляються поодинокі коки і палички в декількох полях зору. Препарат погано фарбується внаслідок відсутності на склі залишків тканини, що розклалися. Риба сумнівної свіжості — у мазках із глибоких шарів м'язів 10—20, а з поверхневих — 30—50 мікробів в одному полі зору (диплококи, диплобактерії). Препарат фарбується задовільно, на склі чітко помітні волокна м'язової тканини, що розклалися. Риба несвіжа — у мазках із глибоких шарів м'язів 30—40, а з поверхневих — 80—100 і більше мікробів в одному полі зору (переважно паличкоподібних). Препарат добре фарбується, на склі багато м'язової тканини, що розклалися (ДСТУ 4895:2007 Риба та рибні продукти. Метод бактеріоскопічного оцінювання).

Для визначення вмісту аміно-аміачного азоту до 5 г подрібненого м'яса коропа додавали 50 мл дистильованої води і настоювали 30 хв при періодичному перемішуванні, фільтрували через паперовий фільтр. У конічну колбу місткістю 250—300 мл вносили 10,00 мл одержаної водної витяжки з м'яса коропа, додавали 40 мл дистильованої води і три краплі 1-відсоткового спиртового розчину фенолфталеїну. Вміст колби нейтралізували 0,1 н. розчином натрій гідроксиду до появи блідо-рожевого забарвлення. Після цього в колбу додавали 10 мл формаліну, нейтралізованого за фенолфталеїном. Вміст колби знову титрували 0,1 н. розчином натрій гідроксиду до появи блідо-рожевого забарвлення. Для визначення кількості аміно-аміачного азоту об'єм 0,1 н. розчину натрій гідроксиду, який пішов на друге титрування, множили на 1,4. Отримували вміст аміно-аміачного азоту (в мг) в 10 мл фільтрату м'ясної витяжки. За кінцевий результат приймали середнє арифметичне 3-х паралельних визначень (Берник, Фаріонік, & Новгородська, 2020).

У свіжій прісноводній рибі вміст аміно-аміачного азоту не перебільшує 0,69 мг/10 мл фільтрату. Для риби сумнівної свіжості цей показник знаходиться в межах 0,7—0,8 мг/10 мл фільтрату. У випадку, коли показник становить понад 0,81 мг/10 мл фільтрату, риба є несвіжою (Берник, Фаріонік, & Новгородська, 2020).

Визначення вмісту аміно-аміачного азоту зразків коропа дзеркального проводили в низці паралельних визначень (n=5) з аналізом промахів за допомогою Q-тесту. Після цього розраховували середнє значення вмісту аміно-аміачного азоту певного зразка, випадкові відхилення, дисперсію та стандартне відхилення, величину якого використовували для перевірки результатів на присутність промахів за

більш точними критеріями. Для оцінки відтворюваності обчислювали вибірккову дисперсію середнього значення та стандартне відхилення середнього результату (S_r). Величину довірчого інтервалу визначали за коефіцієнтом розподілу Стьюдента (t -розподілом) для надійності $P=0,95$. Отримані таким чином значення вмісту аміно-аміачного азоту зразків представлено в табл. 3, 6 у вигляді $AAA \pm \Delta AAA$, де AAA — середнє значення вмісту аміно-аміачного азоту зразка та ΔAAA — довірчий інтервал вмісту аміно-аміачного азоту. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel.

Викладення основних результатів дослідження. Згідно з ДСТУ 814-96 «Риба охолоджена. Технічні умови» охолоджену рибу зберігають за температури $0...-2\text{ }^\circ\text{C}$ у I і IV кв. — 12 діб; у II і III кв. — 10 діб. Можливий термін зберігання ставкової риби, упакованої без льоду, за температури $+4...+6\text{ }^\circ\text{C}$ — не більше 2 діб.

Згідно з літературними даними флавоноїди використовуються як консерванти для подовження термінів зберігання продуктів рибної промисловості шляхом занурювання в розчини хлорогенової кислоти концентрацією 0,05%, 0,1% та 0,3% протягом 5 хв та подальшого зберігання за температури $4\text{ }^\circ\text{C}$ (Сао та ін., 2019). Аналогічно, філе білого амура замочували в 0,2% розчині чайного поліфенолу протягом 30 хв з подальшим зберіганням за температури $4\text{ }^\circ\text{C}$. Порівняно з контролем дослідна група ефективно інгібувала зростання флори, скоротивши виробництво ТВБ-Н та розширивши термін придатності на 6 днів (Рап та ін. 2021).

Дослідження проводилися в два етапи. На I етапі було сформовано 7 зразків (табл. 1).

Таблиця 1. Концентрації розчинів кверцетину на першому етапі дослідження

№ групи	Назва розчину	Концентрація (г/л)
Група 1. Контроль	—	—
Група 2	Кверцетин	2,0
Група 3	Кверцетин	0,4
Група 4	Кверцетин клатрат	2,0
Група 5	Кверцетин клатрат	1,0
Група 6	Кверцетин клатрат	0,4
Група 7	Кверцетин клатрат	0,2

Результати визначення МАФАНМ у зразках риби наведено в табл. 2.

Таблиця 2. МАФАНМ риби охолодженої, КУО/см³ при різних термінах зберігання та різних концентраціях розчинів кверцетину на першому етапі дослідження при температурі зберігання $+2\text{ }^\circ\text{C}$

№ групи	Кількість КУО/см ³ при терміні зберігання:		
	Перед початком експерименту	3 доби	6 діб
Група 1. Контроль	$0,05 \times 10^4$	$0,12 \times 10^4$	$13,8 \times 10^4$
Група 2 Кверцетин 2,0 г/л	—	$0,6 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$

Продовження таблиці 2

Група 3 Кверцетин 0,4 г/л	—	$0,4 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$
Група 4 Кверцетин клатрат 2,0 г/л	—	$0,3 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$
Група 5 Кверцетин клатрат 1,0 г/л	—	$0,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$
Група 6 Кверцетин клатрат 0,4 г/л	—	$0,7 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$
Група 7 Кверцетин клатрат 0,2 г/л	—	$0,6 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$

Як видно з табл. 2, показник МАФАНМ через 6 діб гіпотермічного зберігання (за температури +2 °С) у контрольному зразку м'яса коропа становив $13,8 \times 10^4$ КУО/см³, що не відповідає нормативам МАФАНМ для риби охолодженої. Також про це свідчить результат мазка-відбитка, у якому було виявлено більше 30 мікробних клітин у полі зору. Для зразків риби, які були витримані перед зберіганням у розчинах кверцетину і кверцетину клатрату в концентраціях 2,0 г/л та 0,4 г/л показник МАФАНМ знаходився на рівні $1,1$ — $1,8 \times 10^4$, що свідчить про свіжість риби. Про це також свідчать результати мазків-відбитків, у яких було виявлено менше 10 мікробних клітин у полі зору. Встановлено, що у зразках коропа з попередньою обробкою розчинами кверцетину клатрату з концентрацією 0,2 та 1,0 г/л показник МАФАНМ становив $2,5$ — $2,6 \times 10^4$ КУО/см³, що відповідає нормативам МАФАНМ для риби охолодженої, але значно перевищує попередні показники. Про це також свідчать результати мазків-відбитків, у яких було виявлено менше 15 мікробних клітин у полі зору. Зважаючи на вищезазначене, для другого етапу експерименту було вирішено обрати розчини кверцетину і кверцетину клатрату в концентраціях 2,0 г/л та 0,4 г/л, які найбільш ефективні щодо пригнічення розвитку мікрофлори та зберігати рибу за температури +5 (±1) °С (максимальна температура, рекомендована ДСТУ).

Результати визначення вмісту аміно-аміачного азоту в м'ясі коропа під час зберігання за температури +2 °С наведено в табл. 3.

Таблиця 3. Вміст аміно-аміачного азоту у м'ясі коропа охолодженого (мг/10 мл фільтрату) при різних термінах зберігання та різних концентраціях розчинів кверцетину на першому етапі дослідження при температурі зберігання +2 °С (n=5, P=0,95)

№ групи	Вміст аміно-аміачного азоту у м'ясі коропа (мг/10 мл фільтрату) при терміні зберігання:		
	Перед початком експерименту	3 доби	6 діб
Група 1 Контроль	0,17±0,01	0,30±0,01	0,35±0,01
Група 2 Кверцетин 2,0 г/л	—	0,20±0,01	0,28±0,01
Група 3 Кверцетин 0,4 г/л	—	0,17±0,01	0,26±0,01
Група 4 Кверцетин клатрат 2,0 г/л	—	0,26±0,01	0,32±0,01

Продовження таблиці 3

Група 5 Кверцетин клатрат 1,0 г/л	—	0,26±0,01	0,32±0,01
Група 6 Кверцетин клатрат 0,4 г/л	—	0,17±0,01	0,26±0,01
Група 7 Кверцетин клатрат 0,2 г/л	—	0,30±0,01	0,35±0,01

Згідно з одержаними даними (табл. 3) вміст аміно-аміачного азоту (ААА) в усіх досліджуваних зразках риби наприкінці терміну зберігання становив менше 0,69 мг/10 мл фільтрату, тобто всі зразки коропа були свіжими. Однак значення вмісту аміно-аміачного азоту для зразків риби попередньо витриманих у розчинах кверцетину та кверцетину клатрату з концентраціями 0,4 г/л, 1,0 г/л та 2,0 г/л менше порівняно з контролем. Значення ААА в зразках, попередньо витриманих у розчині кверцетину клатрату з концентраціями 1,0 г/л і 2,0 г/л, не відрізнялись, тому групи 5 і 7 були виключені з подальших досліджень.

На II етапі було сформовано 5 груп (табл. 4).

Таблиця 4. Концентрації розчинів кверцетину на другому етапі дослідження

№ групи	Назва розчину	Концентрація (г/л)
Група 1	Кверцетин	2,0
Група 2	Кверцетин клатрат	2,0
Група 3	Кверцетин	0,4
Група 4	Кверцетин клатрат	0,4
Група 5. Контроль	—	—

Результати визначення МАФАНМ у зразках риби наведено в табл. 5.

Таблиця 5. МАФАНМ риби охолодженої, КУО/см³ при різних термінах зберігання та різних концентраціях розчинів кверцетину на другому етапі дослідження при температурі зберігання +5 (±1) °С

№ групи	Кількість КУО/см ³ при терміні зберігання:			
	Перед початком експерименту	3 доби	6 діб	9 діб
Група 1 Кверцетин 2,0 г/л	—	0,9×10 ⁴	2,9×10 ⁴	4,7×10 ⁴
Група 2 Кверцетин клатрат 2,0 г/л	—	0,63×10 ⁴	2,1×10 ⁴	4,1×10 ⁴
Група 3 Кверцетин 0,4 г/л	—	0,82×10 ⁴	3,2×10 ⁴	4,5×10 ⁴
Група 4 Кверцетин клатрат 0,4 г/л	—	1,02×10 ⁴	2,9×10 ⁴	4,08×10 ⁴
Група 5. Контроль	0,12×10 ⁴	5,78×10 ⁴	23,07×10 ⁴	Суцільне зростання

Як видно з табл. 5, показник МАФАНМ через 6 діб гіпотермічного зберігання (за температури +5±1 °С) в контрольному зразку м'яса коропа становив 23,07×10⁴ КУО/см³, що не відповідає нормативам МАФАНМ для риби охолодженої. Для

зразків риби, які були витримані перед зберіганням у розчинах кверцетину і кверцетину клатрату в концентраціях 2,0 г/л та 0,4 г/л показник МАФАНМ на 9 добу зберігання знаходився на рівні $4,08\text{—}4,7 \times 10^4$, що відповідає нормативному документу та свідчить про свіжість риби.

Результати визначення вмісту аміно-аміачного азоту в м'ясі коропа під час зберігання за температури $+5 \pm 1$ °C наведено в табл. 6.

Таблиця 6. Вміст аміно-аміачного азоту у м'ясі коропа охолодженого (мг/10 мл фільтрату) при різних термінах зберігання та різних концентраціях розчинів кверцетину на другому етапі дослідження при температурі зберігання $+5 (\pm 1)$ °C (n=5, P=0,95)

№ групи	Вміст аміно-аміачного азоту у м'ясі коропа (мг/10 мл фільтрату) при терміні зберігання:			
	Перед початком експерименту	3 діб	6 діб	9 діб
Група 1 Кверцетин 2,0 г/л	—	0,23±0,01	0,34±0,01	0,45±0,02
Група 2 Кверцетин клатрат 2,0 г/л	—	0,30±0,01	0,41±0,02	0,52±0,02
Група 3 Кверцетин 0,4 г/л	—	0,20±0,01	0,29±0,01	0,39±0,01
Група 4 Кверцетин клатрат 0,4 г/л	—	0,21±0,01	0,29±0,01	0,40±0,02
Група 5 Контроль	0,19±0,01	0,34±0,01	0,40±0,02	0,62±0,03

Згідно з одержаними даними через 9 діб гіпотермічного зберігання вміст аміно-аміачного азоту в контрольному зразку м'яса коропа становив менше 0,69 мг/10 мл фільтрату, що характерно для свіжої риби. Для зразків риби, які були витримані перед зберіганням у розчинах кверцетину і кверцетину клатрату з концентрацією 2,0 г/л, показник знаходився на рівні 0,45—0,52 мг/10 мл, що на 16,1—27,4% менше порівняно з контролем. Встановлено, що попередня обробка коропа розчинами кверцетину та кверцетину клатрату з концентрацією 0,4 г/л призводить до зменшення вмісту аміно-аміачного азоту на 35—37% порівняно з контролем при зберіганні коропа за температури $+5 \pm 1$ °C.

Висновки

Згідно з одержаними даними, наприкінці гіпотермічного зберігання риби, за температури $+5 \pm 1$ °C, з попередньою обробкою у розчинах кверцетину і кверцетину клатрату з концентраціями 2,0 г/л та 0,4 г/л, показник МАФАНМ знаходився на рівні $0,08\text{—}1,2 \times 10^4$, а вміст аміно-аміачного азоту становив 0,39—0,52 мг/10 мл фільтрату м'ясної витяжки з коропа, що свідчить про свіжість риби.

Отже, використання розчинів кверцетину або кверцетину клатрату з концентрацією 0,4 г/л для попередньої обробки коропа дзеркального дає змогу збільшити термін зберігання риби за температури $+5 \pm 1$ °C до 9 діб при нормі не більше 2 діб та може розглядатись як потенційний спосіб збереження свіжості риби.

У подальшому планується вивчення впливу поліфенолів на органолептичні показники риби з метою запобігання змінам текстури, смакових та ароматичних компонентів рибної продукції при зберіганні.

Література

- Берник, І. М., Фаріонік, Т. В., Новгородська, Н. В. (2020). *Ветеринарно-санітарна експертиза продуктів тваринного і рослинного походження*. Вінниця: Видавничий центр ВНАУ.
- Austin, B. (2006). The bacterial microflora of fish. *The Scientific World Journal*, 6, 931—945.
- Alina, Kluga, Mirosława, Kacaniová. (2017). Identification of microflora of freshwater fish caught in the Driksna river and pond in Latvia. *Foodbult*, 64—168. DOI:10.22616/foodbalt.2017.016.
- Blackburn, C. W. (2006). *Food Spoilage Microorganisms*. Woodhead Publishing.
- Cao, J., Wang, Q., Ma, T. T., Bao, K. L., Yu, X. Y., Duan, Z. H. et al. (2020). Effect of EGCGgelatin biofilm on the quality and microbial composition of tilapia fillets during chilled storage. *Food Chem* 305:125—454.
- Davies, A. R., Spell, C., Jehanno, D., Nychas, G. J. E., Kirby, R. M. (2001) Incidence of foodborne pathogens on European fish. *Food Control*, Vol. 12, p. 67—71.
- Feng, X., Ng, V. K., Mijs-Krajnik, M. and Yang, H. S. (2017). Effects of fish gelatin and tea polyphenol coating on the spoilage and degradation of myofibril in fish fillet during cold storage. *Food Bioproc. Technol.* 10:89—102.
- Fanghui, Shao, Xiaoye, Ma, Peiyu, Wei, Jun, Cao, Yanfu, He, Aiguo, Feng, Xiuping, Dong, Dayong, Zhou and Chuan, Li. (2022). The effects of polyphenols on fresh quality and the mechanism of partial freezing of tilapia fillets. *J. Sci. Food Agric.* 2022; 102: p. 6014—6023. doi.org/10.1002/jsfa.11954.
- Gram, L., Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria - problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 13(3), 262—266.
- Higdon, J., and Drake, V. J. (2013). *An evidence-based approach to phytochemicals and other dietary factors*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Kasnak, C. (2022). Evaluation of the anti-browning effect of quercetin on cut potatoes during storage. *Food Packaging and Shelf Life*. 31(2). 100816. 10.1016/j.fpsl.2022.100816.
- Lunda, R., Linhartova, Z., Másilko, J., Dvořák, P., Smole Možina, S., Mraz, J. (2016). Effect of different types of descaling methods on shelf life of air-/vacuum-packaged common carp (*Cyprinus carpio* L.) fillets under refrigerated storage conditions. *Aquaculture International*. 24. 10.1007/s10499-016-0040-y.
- Malvano, F., Montone, A., Capparelli, R., Capuano, F., Albanese, D. (2021). Development of a novel Active Edible Coating containing Hydroxyapatite for food shelf-life extension. *Chemical Engineering Transactions*, 87, 25—30.
- Malvano, F., Corona, O., Pham, Phuong Ly, Cinquanta, L., Pollon, M., Bambina, P., Farina, V., Albanese, D. (2022). Effect of alginate-based coating charged with hydroxyapatite and quercetin on colour, firmness, sugars and volatile compounds of fresh cut papaya during cold storage. *European Food Research and Technology*. 248. 10.1007/s00217-022-04093-w.
- Montone, A., Malvano, F., Pham, Phuong, Ly, Cinquanta, L., Capparelli, R., Capuano, F., Albanese, D. (2022). Alginate-based coatings charged with hydroxyapatite and quercetin for fresh-cut papaya shelf life. *International Journal of Food Science & Technology*, 57, 10.1111/ijfs.15860.
- Morachis-Valdez, A., Santillán-Álvarez, Á., Gómez-Oliván, L., García-Argueta, I., Islas-Flores, H., Dublan, O. (2021). Effects of Peppermint Extract and Chitosan-Based Edible Coating on Storage Quality of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fillets. *Polymers*, 13, 3243. 10.3390/polym13193243.
- Mugahi, S., Aberoumand, A., Ziaei-nejad, S. (2022). Effects of Turmeric, Cinnamon, and Lemon Extracts on Shelf Life, Nutrients, and Preservation of Carp Fish in Cold Storage. *Journal of Food Quality*, 1—14. 10.1155/2022/3502464.
- Luan, L. L., Fu, S. L., Yuan, C. H., Ishimura G., Chen, S. G., Chen, J. C. et al. (2017) Combined effect of superchilling and tea polyphenols on the preservation quality of hairtail (*Trichiurus haumela*). *Int J. Food Prop.* 20:S992—S1001.

Olszewska, M. A., Gędas, A. and Simoes, M. (2020). Antimicrobial polyphenol-rich extracts: Applications and limitations in the food industry. *Food Research International (Ottawa, ON)* 134:109214. doi: 10.1016/j.foodres. 2020.109214.

Opoku-Temeng, C., and Sintim, H. O. (2016). Inhibition of cyclic diadenylate cyclase, DisA, by polyphenols. *Scientific Reports* 6:25445. doi: 10.1038/srep25445.

Pan, Z. Q., L. Li, Z. H., Shen, Y. Chen, and M. Li. (2021). Effects of tea polyphenol treatments on the quality and microbiota of crisp grass carp fillets during storage at 4 degrees C. *Applied Sciences* 11 (10):4370. doi: 10.3390/app11104370.

Roy, Swarup & Ezati, Parya & Khan, Ajahar & Rhim, Jong-Whan. (2023). New opportunities and advances in quercetin-added functional packaging films for sustainable packaging applications: a mini-review. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*. 10.1080/10408398.2023.2200553.

Silva, A. S., Reboredo-Rodriguez, P., Sutar, I., Sureda, A., Belwal, T., Loizzo, M. R. et al. (2020). Evaluation of the status quo of polyphenols analysis: part I—phytochemistry, bioactivity, interactions, and industrial uses. *Compr Rev Food Sci. Food Saf.* 19:3191–3218.

Soladoye, O. P., Juárez, M. L., Aalhus, J. L., Shand, P., Estévez, M. (2015). Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health: *Compr Rev Food Sci. Food Saf.* 2015 Mar; 14(2):106—122. doi: 10.1111/1541-4337.12127.

Terentjeva, M., Eizenberga, I., Novoslavskij, A., Strazdiņa, V., Valciņa, O., Ošmjana, J., Bērziņš, A. (2015) Bacterial microflora of freshwater fish originated from Usmas Lake in Latvia. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, Vol. 4, p. 74—77.

Truong, V. L., and Jeong, W. S. (2021). Cellular defensive mechanisms of tea polyphenols: Structure-activity relationship. *International Journal of Molecular Sciences* 22(17):9109. doi: 10.3390/ijms22179109.

Wang, T. T., Li, Z. X., Yuan, F. Z., Lin, H. and Pavase, T. R. (2017). Effects of brown seaweed polyphenols, alpha-tocopherol, and ascorbic acid on protein oxidation and textural properties of fish mince (*Pagrosomus major*) during frozen storage. *J. Sci. Food Agric.* 97:1102—1107.

Wang, W. D. and Sun, Y. E. (2016). Preservation effect of meat product by natural antioxidant tea polyphenol. *Cell Mol Biol.* 62:44—48.

Wei, P. Y., Zhu, K. X., Cao, J., Dong, Y., Li, M. Z., Shen, X. R. et al. (2021). The inhibition mechanism of the texture deterioration of tilapia fillets during partial freezing after treatment with polyphenols. *Food Chem.* 335:127—627.

Zolfaghari, A., Bazargani-Gilani, B., Aghajani, N. (2023). Edible film based on corn zein containing dill extract and essential oil/β-cyclodextrin inclusion complex: Shelf life enhancement of common carp fillet. *Food Science & Nutrition*. 11. 10.1002/fsn3.3353.

Zhiliang, Huang, Qi, Wang, Jun, Cao, Dayong Zhou, & Chuan Li. (2023). Mechanisms of polyphenols on quality control of aquatic products in storage: A review. Published online: 19 Jan 2023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2167803>.