

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені В. Н. Каразіна

Кафедра неорганічної хімії

УДК 543.9

До захисту допускаю



В.о. завідувача кафедри

«11» грудня 2024 р. к.х.н., доц. М.М. Волобуєв

**ЗАСТОСУВАННЯ РОЗЧИНУ ГІДРАТОВАНОГО ФУЛЕРЕНУ C₆₀
ДЛЯ ПОДОВЖЕННЯ ТЕРМІНУ ГІПОТЕРМІЧНОГО ЗБЕРІГАННЯ
УСТРИЦЬ**

Кваліфікаційна робота магістра
II курсу хімічного факультету

**ІВАНЮХІНОЇ АНАСТАСІЇ
СЕРГІЇВНИ**

Науковий керівник

к.т.н., доцент



І. С. Пілюгіна

ХАРКІВ 2024

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота містить: 47 стор., 11 рис., 9 табл., 52 використане джерело.

Мета кваліфікаційної роботи: застосування розчину гідратованого фулерену C60 для подовження терміну гіпотермічного зберігання устриць.

Об'єкт дослідження: устриці.

Методи дослідження: аналітичні, органолептичні, фізико-хімічні та статистичні.

Результати та їх новизна: встановлено, що застосування розчину гідратованого фулерену C60 дозволяє збільшити термін гіпотермічного зберігання устриць до 8 діб.

Ключові слова: ФУЛЕРЕНИ, ГІДРАТОВАНИЙ ФУЛЕРЕН C60, УСТРИЦІ, ГІПОТЕРМІЧНЕ ЗБЕРІГАННЯ, ОРГАНОЛЕПТИЧНІ ПОКАЗНИКИ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ

ABSTRACT

The qualification paper contains: 47 pages, 11 figures, 9 tables, and 52 references.

The aim of the work: application of hydrated fullerene C60 solution to extend the hypothermic storage period of oysters.

Objects of research: oysters.

Research methods: analytical, organoleptic, physicochemical, and statistical.

Results and novelty: it was found that the use of a solution of hydrated fullerene C60 allows to increase the period of hypothermic storage of oysters up to 8 days.

Keywords: FULLERENES, HYDRATED FULLERENE C60, OYSTERS, HYPOTHERMIC STORAGE, ORGANOLEPTIC INDICATORS, PHYSICOCHEMICAL INDICATORS

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ ТА	
ТЕРМІНІВ	5
ВСТУП.....	6
1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	8
1.1 Загальна характеристика та властивості фулерену C ₆₀	8
1.2 Методи одержання розчину гідратованого фулерену C ₆₀	11
1.3 Властивості розчину гідратованого фулерену C ₆₀	14
1.4 Застосування розчину гідратованого фулерену C ₆₀	19
1.4.1 Застосування розчину гідратованого фулерену C ₆₀ в харчовій промисловості.....	21
1.5 Якість устриць та методи її визначення.....	23
1.6 Поставлення мети і завдання досліджень.....	29
2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	30
2.1 Реактиви та обладнання.....	30
2.2 Методи дослідження.....	32
2.3 Визначення показників якості устриць <i>Crassostrea gigas</i>	34
2.4 Дослідження впливу гідратованого фулерену C ₆₀ на показники якості устриць під час гіпотермічного зберігання.....	35
ВИСНОВКИ.....	41
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	42

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

$C_{60}H_nFn$ – гідратований фулерен C_{60}

H_nFn – гідратований фулерен

ПАР – поверхнево активні речовини

ААА – аміно-аміачний азот

ВСТУП

Фулерен C₆₀ представляє собою алотропну модифікацію молекули вуглецю, яка привертає значну увагу завдяки своїм структурним особливостям та різноманіттю можливих застосувань.

Особливий інтерес у сучасних науковців викликає гідратований фулерен C₆₀. Це молекули фулерену C₆₀ до поверхні яких приєднані молекули води. Ця модифікація значно розширює функціональні можливості фулерену. Гідратований фулерен C₆₀ може активно взаємодіяти з біологічними системами.

Розчин гідратованого фулерену C₆₀ може застосовуватися у біології, медицині, нанотехнологіях та промисловості. Розчин C₆₀ використовується для розробки антиоксидантних препаратів у формі нанолікарських засобів або ін'єкцій, як фотосенсибілізатор у терапії злоякісних новоутворень, зокрема раку шкіри. В електрохімії гідратований фулерен C₆₀ широко використовується для створення нових матеріалів з покращеними електронними властивостями. Завдяки високій стабільності, електронним властивостям і можливості утворювати стійкі розчини у воді та органічних розчинниках гідратований фулерен C₆₀ активно використовується для створення нових нанокомпозитів. Завдяки здатності до каталітичного окиснення органічних речовин фулеренові розчини використовуються для очищення води. Антиоксидантні властивості гідратованого фулерену C₆₀ обумовлюють його використання в косметичних засобах для боротьби зі старінням шкіри.

Завдяки своїм антиоксидантним та антимікробним властивостям гідратований фулерен C₆₀ знаходить застосування в харчовій промисловості для подовження терміну зберігання продуктів. Він здатний ефективно нейтралізувати активні форми кисню та пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів, що дозволяє зберегти свіжість харчових продуктів, запобігти окиснювальним процесам та збільшити термін зберігання.

Розчин фулерену C₆₀ використовується для обробки свіжих фруктів і овочів з метою зменшення окиснювальних процесів та запобігання росту плісняви і дріжджів. Також його включають в упаковку або наносять на поверхню продуктів у вигляді антимікробних і антиоксидантних покриттів.

Устриці – харчовий продукт, який має унікальний склад і підходить для дієтичного харчування. Устриці є джерелом антиоксидантів, таких як глутатіон, який допомагає зменшувати оксидативний стрес та сприяє загальному зміцненню здоров'я. Однак ці молюски мають обмежений термін зберігання після вилову. Після загибелі білки устриць швидко розкладаються, що може призвести до псування продукту і ризику харчового отруєння. Тому збереження свіжості устриць є актуальним питанням.

Інноваційні методи, такі як охолодження, вакуумна упаковка або застосування антиоксидантів показали ефективність у продовженні свіжості продукту. Тому метою роботи є застосування розчину гідратованого фулерену C60 для подовження терміну гіпотермічного зберігання устриць. Завдання включають оцінку органолептичних та фізико-хімічних показників устриць, визначення максимального терміну гіпотермічного зберігання устриць *Crassostrea gigas* після обробки розчином гідратованого фулерену C60.

Ця робота спрямована на вирішення актуальної проблеми збереження якості морепродуктів, що має практичне значення для зменшення втрат продукту та підвищення безпеки споживачів.

1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1 Загальна характеристика та властивості фулерену C₆₀

Фулерен C₆₀ є одним із найвідоміших фулеренів. Структура C₆₀ нагадує футбольний м'яч або усічений ікосаедр, де вершини позначені атомами Карбону, а ребра подвійними або одинарними зв'язками (рис. 1.1). Всього фулерен C₆₀ має 60 атомів Карбону, зв'язаних у 12 п'ятикутників і 20 шестикутників.

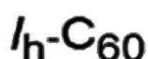
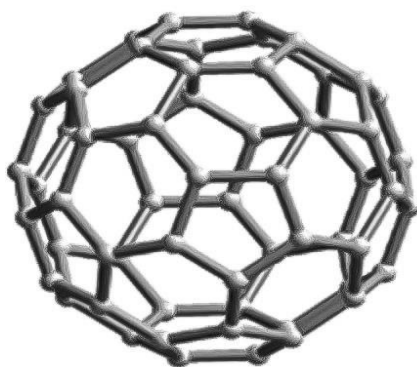


Рисунок 1.1 Фулерен C₆₀

У хімічній номенклатурі фулерен є представником сферичних молекул типу [n]-фулерени, де "n" позначає кількість атомів Карбону. У випадку з C₆₀, це 60 атомів. Кожен атом Карбону в фулереновій сфері є sp²-гібридизованим, що означає, що він утворює три σ-зв'язки з іншими атомами Карбону, залишаючи один електрон для π-орбітальної делокалізації. Кожен атом Карбону зв'язаний із трьома іншими атомами, формуючи спряжену π-електронну систему. Ця система делокалізованих електронів надає фулерену певний рівень ароматичності та стабільності, хоча він здебільшого поводить себе як електрон-дефіцитна сполука, здатна приймати електрони, що дозволяє йому взаємодіяти з молекулами-донорами, такими як молекули води, у гідратованій формі.

Розглядаючи електронну систему C60 можна зазначити, що вона являє собою унікальну π -електронну хмару, що розподілена по всій молекулі. Ця система стабілізується завдяки делокалізації електронів по всій мережі подвійних зв'язків, що знижує реакційну здатність і робить фулерен хімічно стійким. Кожна молекула C60 може взаємодіяти з молекулами води через слабкі донорно-акцепторні взаємодії, де кисень води виступає донором, а фулерен – акцептором [1].

Фулерен C60 здатний утворювати інші похідні через реакції з різними нуклеофілами та електрофілами, такими як галогенові сполуки та спирти. Наприклад, при нагріванні фулерену C60 із пропан-2-олом утворюються алкоксипохідні, що мають підвищену розчинність у певних розчинниках і змінені хімічні властивості [2].

Реакційна здатність C60 також посилюється при його зарядженні, що сприяє утворенню катіонних інтермедіатів, здатних вступати в інші реакції з утворенням нових функціональних груп [3].

Молекула фулерену C60 є однією з найбільш симетричних молекул, що надає їй унікальних властивостей та стабільності. Її симетрія відповідає ікосаедричній групі (Ih), яка є однією з найбільш високих точкових груп, і включає 120 різних симетричних операцій, що складаються з обертів навколо різних осей, відбиттів та інверсій. Ця молекулярна симетрія означає, що всі 60 атомів Карбону в молекулі фулерену є рівноцінними, а його структура може витримувати значні зміни в електронній густині без порушення загальної цілісності. Завдяки цій симетрії гідратований фулерен C60 має стабільну електронну конфігурацію, що робить його інертним і дуже стійким до хімічних впливів за стандартних умов [4].

Ікосаедрична симетрія також сприяє формуванню спеціальних молекулярних орбіталей, які дозволяють фулерену C60 брати участь у π - π взаємодіях, а також забезпечує значну стійкість під час можливих хімічних модифікацій, таких як додавання функціональних груп для утворення похідних. Ці похідні часто формуються через функціоналізацію, що дозволяє змінювати фізико-хімічні властивості молекули для різних застосувань у матеріалознавстві та біомедицині [5].

Однією з цікавих особливостей фулерену C60 є наявність викривлених подвійних зв'язків, що виникають через сферичну геометрію молекули. Як відомо,

у двовимірних структурах, таких як графен, подвійні зв'язки між атомами Карбону мають лінійну або плоску конфігурацію. Проте у випадку з фулереном C₆₀, ці зв'язки розташовані на вигнутій поверхні, що призводить до напруження в хімічній структурі. Викривлення викликане тим, що 12 п'ятикутників, які є частиною молекули, не можуть мати "плоску" геометрію через математичні обмеження, пов'язані з поліедральною топологією.

Зокрема, подвійні зв'язки між шести- і п'ятичленими кільцями (5,6) є довшими, близько 1.47 Å, ніж ті, що між шести-членими кільцями (6,6), приблизно 1.42 Å.

Викривлення змушує π -електрони розташовуватися під різними кутами відносно σ -електронів, що збільшує реакційну здатність цих ділянок молекули. Зокрема, подвійні зв'язки, які є частиною п'ятикутників, зазнають сильнішого напруження, ніж ті, що знаходяться в шестикутниках. Це робить такі п'ятичленні кільця більш електрофільними і сприйнятливими до реакцій приєднання. Таке "локалізоване" напруження є важливим з точки зору функціоналізації фулеренів, ці області можуть легко вступати в реакції з різними хімічними агентами [6].

Попри напруження, яке виникає через викривлені зв'язки, фулерен C₆₀ вважається надзвичайно стабільною молекулою. Викривлення не призводить до значного погіршення механічних властивостей, оскільки σ -зв'язки у вуглецевому каркасі досить міцні, щоб протидіяти руйнуванню молекули.

Напруга, викликана викривленням зв'язків у фулерені C₆₀, також впливає на їх електронні властивості. У зв'язку з тим, що π -електрони знаходяться у викривлених орбіталях, виникає зниження енергетичних бар'єрів для певних електронних переходів, що робить фулерен C₆₀ придатним для фотонних і електронних застосувань. У той же час, викривлення дозволяє фулерену C₆₀ вступати в ефективні π - π взаємодії з іншими молекулами, такими як графен або нанотрубки.

1.2 Методи одержання розчину гідратованого фулерену C60

Розчин гідратованого фулерену C60 (C60HyFn) має унікальні властивості та може застосовуватися у біології, медицині, нанотехнологіях та промисловості. Однак, через гідрофобність молекул фулерену, його розчинність у водних середовищах становить $1,3 \times 10^{-11}$ мг/мл, та тенденцію до агрегування та осідання у водному середовищі, створення стабільного водного розчину є складним завданням. Гідрофобність пояснюється відсутністю полярних або функціональних груп, здатних утворювати сильні водневі зв'язки з молекулами води. Завдяки розвитку нанотехнологій і сучасних методів обробки вдалося розробити декілька ефективних способів, що дозволяють отримати стабільний водний розчин фулерену C60.

Поширеним підходом є метод ультразвукової дисперсії або тривала ультразвукова обробка, яка дозволяє створити дрібнодисперсний розчин фулерену у воді за допомогою ультразвукових хвиль високої частоти. Ультразвук генерує мікробульбашки в розчині, які руйнуються з утворенням мікрровибухів. Це допомагає подрібнювати великі кластери фулерену до нанорозмірів, утворюючи дрібнодисперсну суспензію. У колбі змішують фулерен C60 з водою або водним розчином поверхнево-активних речовин (ПАР), після чого встановлюється зонд ультразвукового генератора і починається тривала обробка протягом кількох годин, частота ультразвуку зазвичай становить 20-40 кГц. Ультразвук розбиває агрегати фулерену, утворюючи дрібнодисперсні частинки, які можуть залишатися у воді у вигляді суспензії. Цей метод широко застосовується у лабораторних умовах, оскільки не вимагає використання агресивних хімікатів і дозволяє отримати розчин із мінімальною кількістю домішок. Високочастотний вплив запобігає агрегації молекул і сприяє утворенню стійких наночастинок, оточених молекулами води [7].

Механохімічна обробка також є ефективним способом отримання розчину гідратованого фулерену C60, що ґрунтується на обробці молекул C60 з водою шляхом механічного впливу. Цей метод полягає в подрібненні фулерену C60 в спеціалізованих млинах у присутності води або інших агентів, таких як полімери або ПАР. Механохімічна обробка дозволяє фізично зменшити розмір частинок

фулерену і сприяти їхньому диспергуванню у воді. В результаті формується стійкий водний розчин з нанорозмірними кластерами фулерену C60. Також механохімічний метод може бути скомбінований з ультразвуковою обробкою для додаткового диспергування і забезпечення однорідного розподілу молекул фулерену C60 в розчині. Метод є високо ефективним, тому що забезпечує тривалу стабільність розчину і дозволяє отримувати стабільні розчини з високою біологічною активністю, хоча і є енерговитратним [8].

Хімічна функціоналізація молекул – метод підвищення водорозчинності фулерену C60. Цей підхід базується на хімічній модифікації молекули фулерену C60, гідрофобний характер якого можна подолати шляхом приєднання до нього полярних або гідрофільних функціональних груп, таких як: карбоксильні ($-\text{COOH}$), що роблять фулерен C60 більш розчинним за рахунок збільшення гідрофільності; гідроксильні ($-\text{OH}$), що дозволяють молекулам утворювати водневі зв'язки з молекулами води; амінні ($-\text{NH}_2$), що збільшують полярність молекули і покращують її розчинність у воді. Хоча за цим методом виготовляються стабільні розчини, бо функціоналізовані фулерени C60 мають постійну структуру, і біосумісні розчини, що робить його придатним для біомедичних і харчових застосувань, важливо зазначити, що функціоналізація може змінювати деякі фізико-хімічні властивості фулерену C60, зокрема його антиоксидантну активність та електропровідність, що може обмежувати його використання в певних галузях [9, 10].

Метод із застосуванням ПАР базується на використанні солубілізаторів, речовин, що допомагають розчиняти або стабілізувати інші гідрофобні речовини у водному середовищі, створюючи однорідний розчин. Вони оточують молекули фулерену C60, створюючи наноструктури, що запобігають агрегації. Суміш фулерену C60 та поверхнево-активних речовин піддається ультразвуковій обробці або перемішується для створення стабільної дисперсії, у результаті чого утворюються міцели. ПАР мають гідрофільну та гідрофобну частини, завдяки чому вони утворюють навколо фулерену C60 структури, які перешкоджають його осіданню. Перевагою цього методу є можливість отримання стабільних розчинів навіть у відносно низьких концентраціях, через те що, міцели або нанокапсули забезпечують стабільність розчину протягом тривалого часу. Крім того оскільки фулерен C60 не піддається хімічній модифікації, зберігаються його первинні

антиоксидантні властивості. Однак ПАР можуть змінювати біодоступність гідратованого фулерену C₆₀, а також впливати на чистоту отриманого продукту і ускладнювати його застосування [11, 12].

Електрофоретичний метод полягає у використанні електричного поля для рівномірного розподілення заряджених частинок фулерену C₆₀, які переносяться через водне середовище під впливом електричного поля, що сприяє їхній рівномірній дисперсії. Фулерен C₆₀ поміщається у водний розчин з електролітом, до системи підключається електричне поле, що змушує заряджені молекули фулерену C₆₀ рухатися у рідині, а електричні сили сприяють диспергуванню молекул і утворенню стабільного розчину або суспензії. Цей метод застосовується для отримання розчинів з низькими концентраціями фулерену C₆₀. Однак метод має певні обмеження, оскільки частинки можуть осідати після припинення електрофорезу, що знижує довготривалу стабільність розчину. Крім того метод потребує специфічного обладнання [13].

Метод нанофільтрації включає пропускання водного розчину гідратованого фулерену C₆₀ через нанопористу мембрану, що дозволяє видаляти великі агрегати і залишати у воді тільки нанорозмірні частинки. В результаті одержують розчин високої чистоти, придатний для масового виробництва. Однак метод потребує дорогого спеціалізованого обладнання і технологічних навичок [10].

Хімічне окиснення – метод, при якому фулерен C₆₀ обробляється окиснювачами, що призводить до часткової модифікації молекули з утворенням полярних функціональних груп, здатних утримувати молекули води. Цей процес модифікації робить молекули C₆₀ гідрофільними і сприяє їх стабілізації у водному середовищі. Даний метод дозволяє отримувати стабільні та довговічні розчини. Однак внаслідок хімічної модифікації може змінюватися структура фулерену, що іноді впливає на його біологічну активність. Хімічне окиснення потребує точного контролю умов процесу, таких як концентрація окиснювачів і тривалість обробки, щоб мінімізувати зміни вихідної структури молекули та зберегти її властивості [14].

Один із методів отримання розчину C₆₀ — криогенна сублімація, яка передбачає створення високого вакууму та тиску в реакційній камері (рис. 1.2). Методика отримання розчину, таким шляхом, виглядає наступним чином. Фулерен

поміщається в реакційну камеру, де створюються умови високого вакууму та тиску. У камеру подається водяна пара під високим тиском і температурою, що дозволяє молекулам води фізично взаємодіяти з поверхнею фулерену, утворюючи оболонку навколо нього. Після проходження фази взаємодії з водяною парою, систему різко охолоджують за допомогою рідкого азоту. Охолодження призводить до конденсації водяної пари та стабілізації розчину фулерену у воді. Цей метод дає змогу одержувати гідратований фулерен C₆₀ без впливу органічних розчинників, що в свою чергу дозволяє використовувати ці розчини для взаємодії з біологічними об'єктами, бо не несе токсичного впливу, завданого речовинами на зразок толуолу [15, 16].

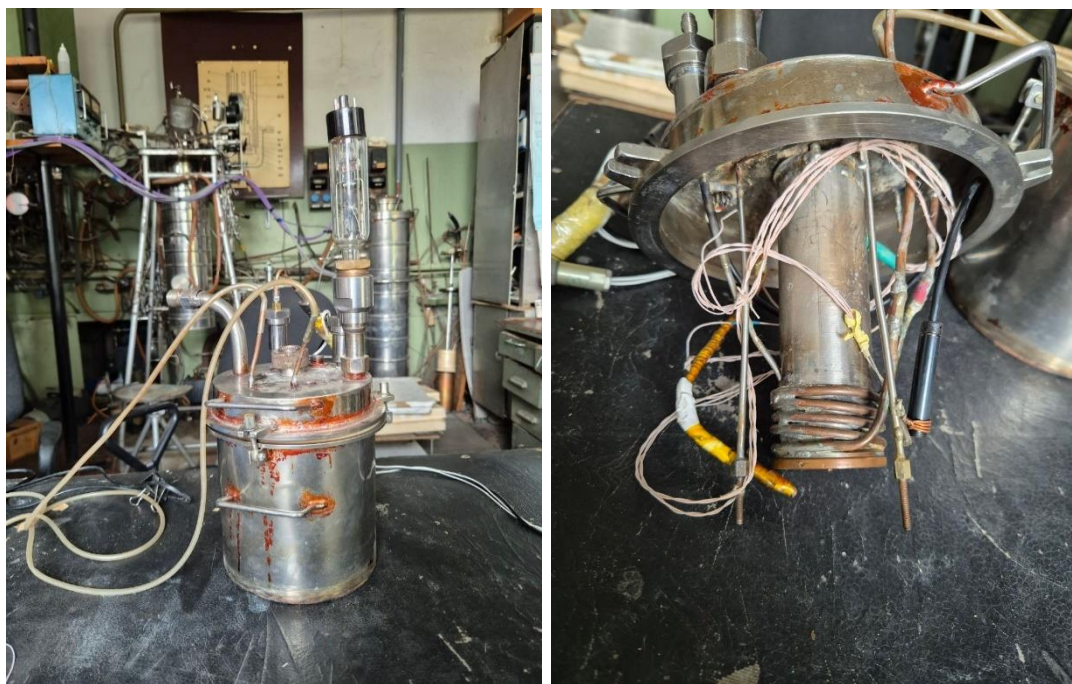


Рисунок 1.2 Установка для отримання гідратованого фулерену C₆₀

1.3 Властивості розчину гідратованого фулерену C₆₀

Гідратований фулерен C₆₀ — це молекулярна структура, що має в своїй основі молекулу фулерену C₆₀ та водну оболонку (рис. 1.3). Основна водна оболонка навколо фулерену включає близько 20-24 молекул, які утримуються на його поверхні за рахунок слабких зв'язків і формують первинний гідратний шар. Ця структура стабілізується додатковими шарами води, які оточують молекулу та

надають їй унікальних фізико-хімічних властивостей, таких як стійкість у вакуумі при тиску до $133,322 \times 10^{-5}$ Па або 1.316×10^{-8} атм [16].

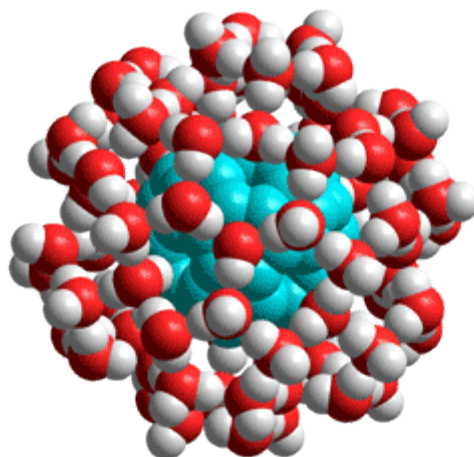


Рисунок 1.3 Гідратований фулерен C60

Особливості структури гідратованого фулерену C60 дозволяють йому вступати в різні види слабких взаємодій, таких як ван-дер-ваальсові сили, диполь-дипольні взаємодії і водневі зв'язки з полярними молекулами.

Основний тип взаємодії фулерену C60 з неполярними молекулами або іншими фулеренами відбувається через ван-дер-ваальсові сили. Ці сили є слабкими міжмолекулярними взаємодіями, що виникають через тимчасову поляризацію електронних хмар навколо молекул. У випадку гідратованого фулерену C60, ван-дер-ваальсові взаємодії між фулереновими ядрами значно послаблені, оскільки водна оболонка діє як бар'єр, що перешкоджає прямому контакту молекул C60. Це знижує тенденцію гідратованого фулерену C60 до агрегації та сприяє стабільності його розчину у водному середовищі.

Гідратований фулерен C60 може також взаємодіяти з полярними молекулами через диполь-дипольні сили або водневі зв'язки, хоча ці взаємодії є слабшими, ніж класичні водневі зв'язки в молекулах, де присутні сильно поляризовані групи. Водневі зв'язки між водною оболонкою навколо фулерену C60 та полярними молекулами в іншому розчині можуть підтримуватися завдяки орієнтації молекул води, які входять до складу гідратної оболонки. Це дозволяє фулерену C60 взаємодіяти з такими розчинниками, як спирти, кетони або аміді,

де є можливість утворення слабких водневих зв'язків і дипольних взаємодій з водною оболонкою фулерену C60.

Гідратований фулерен C60 часто досліджується у контексті його взаємодії з біомолекулами, такими як білки, нуклеїнові кислоти та ліпіди. Завдяки своїй водній оболонці, гідратований фулерен C60 (C60HyFn) може проникати в біологічні системи без порушення клітинних мембран, а слабкі взаємодії з білками або ДНК забезпечують його здатність стабілізувати ці молекули.

Молекулярна динаміка взаємодії гідратованого фулерену C60 з клітинними мембранами є предметом активного вивчення через перспективи його застосування в біомедицині. Симуляції показують, що C60HyFn має здатність проникати у фосфоліпідний бішар, де зазвичай розташовується в області гідрофобних ланцюгів ліпідів. Це розташування сприяє стабілізації молекули фулерену у мембрані за рахунок ван-дер-ваальсових взаємодій з гідрофобними хвостами ліпідів. За певних концентрацій фулерен C60 може збільшувати впорядкованість ліпідних хвостів, що оточують його. Це впливає на механічні властивості мембрани та її стабільність [17].

Взаємодії C60HyFn з мембранами залежать від типу ліпідів у мембранному бішарі та концентрації фулерену C60. Наприклад, дослідження на моделі асиметричних мембран показали, що фулерен C60 уникає областей з надмірною кривизною і віддає перевагу проникненню в області з помірно позитивною кривизною. Це допомагає уникнути структурних пошкоджень мембрани за низької концентрації, але може призвести до механічної дестабілізації при утворенні великих агрегацій фулерену C60 [18, 19].

Завдяки своїм структурним і електронним особливостям, гідратований фулерен C60 демонструє різноманітну реакційну здатність, особливо в контексті утворення похідних. Хімічна структура гідратованого фулерену C60 є значно реакційно здатною, особливо виділяються подвійні зв'язки, які є частиною п'ятикутних циклів. Це пояснюється тим, що такі подвійні зв'язки знаходяться в більшому напруженні через викривлення молекули. Як наслідок, вони є електрофільними і більш доступними для реакцій приєднання. Один із ключових способів підвищити розчинність і біосумісність C60 – це гідроксилювання, під час якого до молекули приєднуються гідроксильні групи (–ОН). Цей процес часто

здійснюється за допомогою ультразвукової кавітації в присутності гідроген пероксиду, що сприяє утворенню гідроксил-радикалів і їх приєднанню до фулерену, утворюючи похідні на зразок фулеренолу ($C_{60}(OH)_n$) [20].

Також необхідно відзначити, що гідратований фулерен C_{60} демонструє унікальні біологічні властивості. Зокрема важливою властивістю гідратованого фулерену C_{60} є його антиоксидантна дія. $HuFn$ здатен ефективно нейтралізувати вільні радикали, зокрема гідроксильні радикали ($-OH$), навіть при дуже низьких концентраціях. Цей ефект пояснюється тим, що молекули води у структурованій оболонці навколо фулерену C_{60} створюють умови для рекомбінації радикалів, тобто виконується нестехіометричний механізм, коли специфічні водні структури сприяють самонейтралізації радикалів. Дослідження показали, що ефективність видалення радикалів зростає зі зменшенням концентрації гідратованого фулерену C_{60} : при концентрації 10^{-11} М одна молекула C_{60} здатна нейтралізувати понад 10^4 гідроксильних радикалів. Також антиоксидантні властивості гідратованого фулерену C_{60} можна пояснити завдяки повному спряженню π -системи, що сприяє нейтралізації вільних радикалів. Наприклад, дослідження показують, що при впливі на гідратований фулерен C_{60} гідроксильних радикалів його антиоксидантні властивості активізуються через здатність зв'язувати радикали через реакцію з π -електронами фулерену.

Гідратований фулерен C_{60} також має значний вплив на біологічні системи, проявляючи позитивну дію на ферменти та інші білкові молекули. Наприклад, відомо, що цей розчин здатний підвищувати активність тканинного активатора плазміногену, що сприяє розчиненню тромбів у крові, а це, в свою чергу, відкриває можливість для використання гідратованого фулерену C_{60} в лікуванні захворювань, пов'язаних із тромбозом. Дослідження також показали, що при наднизьких концентраціях, менше 10^{-9} М, розчин гідратованого фулерену C_{60} стабілізує ферменти, такі як пероксидаза і люцифераза, захищаючи їх від теплової інактивації, що підвищує тривалість їхньої активності [20].

Антиоксидантні властивості сприяють зменшенню запалення. Це було підтверджено у дослідженнях, де гідратований фулерен C_{60} знижував рівень нейтрофільного запалення в легенях та пригнічував дію реактивних форм кисню в умовах індукованого запалення [21].

Радіопротекторні властивості базуються на здатності гідратованого фулерену C60 поглинати вільні радикали, утворені під впливом радіації і захищати клітинну ДНК від пошкоджень, спричинених опроміненням, зменшуючи ризик розвитку мутацій і порушень клітинного циклу. Фотопротекторні властивості обумовлені здатністю поглинати ультрафіолетове випромінювання.

Вплив гідратованого фулерену C60 на тривалість життя також вивчався в експериментах на тваринах. Результати свідчать про те, що він може продовжити життя за рахунок зменшення оксидативного стресу та стабілізації клітинних мембран. Наприклад, в дослідях на мишах застосування C60HyFn показало подовження їх середньої тривалості життя, що, ймовірно, пов'язано зі зниженням рівня окиснення ліпідів і білків в організмі, а також зі здатністю зменшувати прояви вікових захворювань, пов'язаних з окиснювальним стресом.

HyFnC60 зазвичай вважається біосумісним у низьких дозах, однак за вищих концентрацій може проявляти токсичність. Токсичні ефекти часто обумовлені здатністю накопичуватися в клітинах і викликати оксидативний стрес через генерацію реактивних форм кисню, хоча гідратований фулерен C60 має протилежний ефект, однак високі дози можуть призводити до клітинного ушкодження і також ще, до порушень функцій внутрішніх органів, особливо печінки та нирок [22].

За даними досліджень, C60HyFn не накопичується в організмі і, як правило, виводиться, однак токсичність може проявлятися при тривалому впливі або при високих дозах. Наприклад, за концентрацій понад 0,5 ppm може спричиняти підвищену перекисну деградацію ліпідів, що впливає на нервову систему і викликає проблеми з окисно-відновним балансом у мозку та інших органах. Також може впливати на імунну систему, знижуючи активність деяких прозапальних медіаторів, таких як цитокіни. Це робить гідратований фулерен C60 перспективним для терапії при аутоімунних захворюваннях, але також може спричинити імуносупресивний ефект при високих дозах [23].

Загалом, дослідження показують, що гідратований фулерен C60 може бути безпечним за умов дотримання низьких дозувань, але ще потребуються подальші дослідження для визначення довготривалих ефектів.

1.4 Застосування розчину гідратованого фулерену C60

Завдяки своїм унікальним властивостям гідратований фулерен C60 знаходить широке застосування у різних галузях і є надзвичайно перспективним для використання у хімії, біології, медицині, матеріалознавстві тощо.

- Медичне застосування.

Гідратований фулерен C60 може захищати клітини від окисативних пошкоджень, спричинених різними чинниками, включаючи ультрафіолетове випромінювання, токсичні сполуки або метаболічні процеси. Розчин C60 використовуються для розробки антиоксидантних препаратів у формі нанолікарських засобів або ін'єкцій [24].

- Фотодинамічна терапія.

Здатність гідратованого фулерену C60 поглинати світло і переходити в збуджений стан робить його придатним для використання в фотодинамічній терапії. Після активації світлом гідратований фулерен C60 генерує синглетний кисень, який є окисником і може сприяти руйнуванню ракових клітин або патогенних мікроорганізмів. Це дозволяє використовувати гідратований фулерен C60 як фотосенсибілізатор у терапії злоякісних новоутворень, зокрема раку шкіри.

Гідратований фулерен C60 може утворювати стабільні комплекси з різними лікарськими засобами та функціональними групами, що підвищує його ефективність і дозволяє налаштовувати спектр поглинання [25].

- Енергетичні матеріали:

Гідратований фулерен C60 широко використовується в електрохімії для створення нових матеріалів з покращеними електронними властивостями. Його здатність приймати та віддавати електрони робить його придатним для використання в органічних сонячних елементах, суперконденсаторах і батареях. Наприклад, функціоналізовані фулерени можуть використовуватися як компоненти в органічних фотоелементах для покращення захоплення світла і перетворення його на електричний струм.

Розчини фулерену C60 використовуються для створення нових наноматеріалів з високою провідністю, які можуть бути застосовані у виготовленні електронних пристроїв або енергозберігаючих технологій. Це

можливо через здатність бути електронним акцептором або донором, що забезпечує ефективний перехід електронів через матеріал [26, 27].

- Наноматеріали та композити.

C60H₁₂ активно використовується для створення нових нанокompозитів завдяки високій стабільності, електронним властивостям і можливості утворювати стійкі розчини у воді та органічних розчинниках. Фулереномісні композити часто використовують як наповнювачі для полімерних матеріалів, що підвищує їх механічні та електричні властивості. Крім того, C60 може бути основою для створення наночастинок з різними фізико-хімічними властивостями. Наприклад, вуглецеві нанотрубки або графенові листи можуть бути поєднані з фулеренами для створення високоелектропровідних матеріалів, що в свою чергу можуть бути використані в електроніці та нанотехнологіях [28].

- Очищення води.

Фулеренові розчини використовуються для очищення води завдяки їх здатності до каталітичного окиснення органічних речовин. Як приклад гідратований фулерен C60 може активувати гідроген пероксид, що призводить до утворення гідроксильних радикалів, здатних розкласти токсичні органічні забруднення. Така система використовується для очищення стічних вод або видалення пестицидів та інших органічних забруднювачів. Завдяки високій стабільності фулерену C60 в розчині та його здатності до багаторазового використання, такі технології є екологічно безпечними та економічно вигідними [5, 29].

- Косметологія.

Завдяки антиоксидантним властивостям гідратований фулерен C60 використовується в косметичних засобах для боротьби зі старінням шкіри. Гідратований фулерен C60 нейтралізує вільні радикали, що спричиняють окиснення і старіння клітин, тим самим допомагаючи зберегти здоров'я шкіри. Його додають у креми, сироватки та інші косметичні продукти, щоб зменшити зморшки та покращити загальний стан шкіри. Окрім антиоксидантної дії, гідратований фулерен C60 також має протизапальні властивості [30, 31].

1.4.1 Застосування розчину гідратованого фулерену C₆₀ в харчовій промисловості

Завдяки своїм антиоксидантним та антимікробним властивостям гідратований фулерен C₆₀ знаходить застосування в харчовій промисловості для подовження терміну зберігання продуктів. Його здатність ефективно нейтралізувати активні форми кисню та пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів дозволяє використання для збереження свіжості продуктів, запобігання окиснювальним процесам та збільшення терміну зберігання.

Головний механізм, за допомогою якого гідратований фулерен C₆₀ може подовжувати термін зберігання харчових продуктів, пов'язаний з його антиоксидантною активністю. Харчові продукти, особливо ті, що містять жири і олії, схильні до окиснення. В результаті погіршується їх смак, запах та властивості. Процес окиснення часто ініціюється вільними радикалами або активними формами кисню, що атакують ненасичені жирні кислоти, сприяючи їх руйнуванню та утворенню шкідливих сполук.

Гідратований фулерен C₆₀ здатний ефективно нейтралізувати ці вільні радикали, зупиняючи ланцюгові реакції окиснення. Його електронна будова дозволяє йому стабілізувати активні форми кисню без значної зміни його власної структури. За рахунок цього розчин не тільки гальмує процеси окиснення, але й може діяти як довготривалий антиоксидант.

Цей процес відбувається наступним чином, гідратований фулерен C₆₀ взаємодіє з вільними радикалами через донорно-акцепторні механізми, у яких вільні електрони радикалів переносяться на делокалізовану π -систему фулерену, стабілізуючи радикали.

Така взаємодія ефективно зупиняє процеси автоокиснення в жирових продуктах, що підтверджується дослідженнями з використанням методів спектроскопії. Саме ці дослідження показують, що навіть невеликі концентрації гідратованого фулерену C₆₀ можуть значно знижувати швидкість окиснення харчових продуктів. Наприклад, його використання в розчинах для обробки фруктів, овочів або м'ясних продуктів допомагає зберегти їх свіжість і уповільнити руйнування жирів [32, 33, 34].

Ще одним важливим фактором, що сприяє подовженню терміну зберігання продуктів при використанні розчину гідратованого фулерену C₆₀, є його антимікробна дія. Мікроорганізми, такі як бактерії, дріжджі та пліснява, можуть швидко розмножуватися на поверхні харчових продуктів, викликаючи їх псування та знижуючи якість. Гідратований фулерен C₆₀ здатний пригнічувати ріст багатьох патогенних мікроорганізмів, зокрема грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також плісняви (рис. 1.4).

Механізм дії полягає в здатності до взаємодії з клітинними мембранами мікроорганізмів, викликаючи їх руйнування. Завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям, гідратований фулерен C₆₀ може проникати крізь мембрану клітини, порушуючи її цілісність і спричиняючи лізис клітини. При цьому гідратований фулерен C₆₀ не токсичний для людини у низьких концентраціях, що дозволяє його безпечно використання в харчовій промисловості.

Грампозитивні бактерії

Ентерокок Стрептокок Стафілокок Лактобактерії Біфідобактерії



Грамнегативні бактерії

Сальмонела Нейсерія Гелікобактер Трепонема Кишкова паличка



Рисунок 1.4 Грампозитивні та грамнегативні бактерії

Дослідження підтверджують, що розчини фулерену ефективні проти широкого спектра бактерій, включаючи такі патогени, як *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Listeria monocytogenes*, які часто спричиняють псування харчових продуктів [17, 35].

Гідратований фулерен C60 може використовуватися у виробництві харчових продуктів. Його включають в упаковку або наносять на поверхню продуктів у вигляді антимікробних і антиоксидантних покриттів. Такі покриття створюють бар'єр для проникнення кисню та мікроорганізмів, зберігаючи продукти свіжими протягом тривалого часу.

Відомо, що розчин фулерену C60 використовуються для обробки свіжих фруктів і овочів з метою зменшення окиснювальних процесів та запобігання росту плісняви і дріжджів. Наприклад, нанесення розчину на яблука або цитрусові допомагає продовжити їх зберігання без застосування синтетичних хімікатів.

М'ясні вироби, особливо ті, що містять жири, часто піддаються прогірклості через окиснення ліпідів. Використання розчину гідратованого фулерену C60 для обробки таких продуктів може знижувати швидкість окиснення і уповільнювати розвиток мікроорганізмів, що сприяє подовженню терміну їх зберігання [36].

Молочні продукти, такі як сир або йогурт, також можуть бути оброблені розчинами C60. Це запобігає росту бактерій, що викликають псування, а також окисненню жирів.

Застосування гідратованого фулерену C60 у харчовій промисловості має ще одну важливу перевагу, таку як екологічність. На відміну від багатьох синтетичних консервантів, гідратований фулерен C60 не є токсичним для навколишнього середовища і може використовуватися в низьких концентраціях. Його стійкість і здатність багаторазово виконувати антиоксидантні функції зменшують потребу в частому застосуванні інших хімічних речовин, що знижує загальне екологічне навантаження [37, 38].

Це робить гідратований фулерен C60 перспективною альтернативою традиційним методам зберігання продуктів, таким як застосування синтетичних консервантів або модифікованих атмосфер для пакування.

1.5 Якість устриць та методи її визначення

Устриці (*Ostreidae*) – це морські молюски (рис. 1.5), які є надзвичайно поживним продуктом, хімічний склад якого збагачений білками, жирами, вітамінами та мінералами. Основу їхнього складу становлять білки, 9–11% від

ваги сирого продукту, які містять усі незамінні амінокислоти, необхідні для здоров'я. Устриці містять невелику кількість жирів, однак серед них присутні корисні поліненасичені жирні кислоти, зокрема омега-3. Вітамінний склад включає вітаміни групи В, такі як В12, В2, В6, вітаміни А, D та Е. Мінерали, такі як цинк, мідь, селен, йод, залізо, кальцій, магній і фосфор, сприяють покращенню обміну речовин, зміцненню імунітету та підтримці нервової системи. Завдяки низькій калорійності, приблизно 50 ккал на 100 г, устриці ідеально підходять для дієтичного харчування. Окрім цього, устриці є джерелом антиоксидантів, таких як глутатіон, який допомагає зменшувати оксидативний стрес та сприяє загальному зміцненню здоров'я [39].

Їх високо цінують як делікатес у багатьох кухнях світу. Окрім гастрономічної цінності, устриці відіграють значну роль у підтриманні екологічної рівноваги, очищуючи воду через свою систему живлення. Наприклад, у затоці Чесапек, що у США, ці молюски фільтрують до 50 літрів води щодня, сприяючи покращенню якості води в екосистемі.



Рисунок 1.5 Устриця Huitres Francaises

Основними регіонами вирощування устриць є США, Франція, Китай і Австралія, де створюють спеціальні умови для контролю якості середовища. Однак ці молюски дуже чутливі до умов зберігання. Як живі організми, вони мають обмежений термін зберігання після вилову. Після загибелі білки устриць швидко розкладаються, що може призвести до псування продукту і ризику

харчового отруєння. Тому збереження свіжості напряму залежить від температури: оптимальні умови – від 0 до 4 °C [40].

Продовження терміну зберігання устриць є ключовим для зменшення втрат продукту та підвищення безпеки споживачів. Інноваційні методи, такі як охолодження, вакуумна упаковка або застосування антиоксидантів, зокрема розчину гідратованого фулерену C₆₀, показали ефективність у продовженні свіжості продукту. Такі підходи сприяють покращенню якості та економічної вигідності устриць як важливого харчового продукту [41].

Органолептичний метод є одним з найшвидших способів перевірки якості устриць, дозволяючи оцінити їхню свіжість та безпеку через аналіз таких властивостей, як зовнішній вигляд, текстура, запах і смак. Оцінювання базується на відчуттях і досвіді фахівців, що працюють із продуктом, і тому потребує чіткого розуміння ознак свіжості та змін, що вказують на погіршення якості.

Органолептичний метод оцінки якості устриць базується на аналізі їхніх смакових, ароматичних, текстурних та візуальних характеристик. Цей метод є одним із найпоширеніших і найдавніших способів визначення якості продуктів харчування, оскільки дозволяє швидко та ефективно оцінити свіжість і придатність продукту до споживання. Для морепродуктів, таких як устриці, органолептичний аналіз особливо важливий, оскільки навіть незначні зміни у запаху чи текстурі можуть свідчити про процеси псування та потенційну небезпеку для здоров'я споживачів.

Першим етапом органолептичної оцінки устриць є візуальний огляд. Експерти перевіряють стан раковини та м'яса, звертаючи увагу на колір, блиск і наявність видимих ознак псування. Свіжі устриці зазвичай мають чисту та блискучу раковину, вона має бути щільно закритою. М'якоть устриці повинна бути пружною і злегка слизистою, свіже м'ясо має щільну текстуру, тоді як зіпсовані устриці можуть бути занадто м'якими або водянистими. М'ясо має світло-кремовий або біло-прозорий відтінок, з легким блиском, будь-яка зміна кольору чи поява мутного відтінку можуть вказувати на початкові стадії псування.

Наступним етапом є оцінка аромату. Устриці мають свіжий морський запах, що нагадує запах океану, без виражених сторонніх запахів. Поява різкого,

кислуватого або гнильного запаху свідчить про розкладання білків та активізацію бактерій, що є ознакою псування продукту.

Заключним етапом є оцінка смаку. Устриці мають характерний солонувато-солодкий присмак із морським відтінком, без гіркоти чи кислоти. Дегустація дозволяє остаточно підтвердити свіжість продукту, адже смакові рецептори здатні вловлювати навіть незначні відхилення, які можуть свідчити про початок псування.

Органолептичний метод є важливим не лише для визначення якості морепродуктів на етапах вилову та зберігання, але й широко використовується у ресторанах та на підприємствах громадського харчування. Через те що цей метод дозволяє швидко відсортувати свіжий продукт від потенційно небезпечного та не потребує спеціалізованого обладнання, його часто використовують щоб швидко оцінити якість устриць перед подачею на стіл, що є критичним для забезпечення високого рівня обслуговування та безпеки харчових продуктів. Однак варто зазначити, що органолептичний метод має свої обмеження: він є суб'єктивним та залежить від кваліфікації, рівня досвіду та особистого сприйняття фахівця і не завжди дозволяє виявити забруднювачі чи токсини, які не мають виражених сенсорних проявів, тож не може замінити лабораторні методи аналізу для точного визначення вмісту шкідливих речовин [42].

Мікробіологічний метод оцінки якості устриць є ключовим у забезпеченні їхньої безпеки для споживання та унеможливлення ризиків харчових отруєнь. Цей метод базується на детальному аналізі мікроорганізмів, які можуть бути присутніми в устрицях через специфіку їхнього середовища проживання. Оскільки устриці часто вирощуються у природних або штучних морських умовах, вони можуть накопичувати різноманітні мікроорганізми, включаючи патогенні бактерії.

На сьогодні мікробіологічний аналіз устриць є частиною регламентованих методів контролю якості морепродуктів, особливо важливим у забезпеченні дотримання санітарних норм та стандартів безпеки. Цей метод включає кілька етапів, що дозволяють не лише виявити, але й кількісно визначити концентрацію потенційно небезпечних мікроорганізмів, таких як *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* та інші [43, 44].

Процес оцінки мікробного забруднення устриць починається з відбору зразків. Спочатку проводиться ретельне стерилізування інструментів і підготовка зразків, щоб уникнути потрапляння сторонніх мікроорганізмів, що могли б викривити результати. Зразки устриць подрібнюють та гомогенізують для створення однорідної маси, з якої згодом отримують розведення для висіву на поживні середовища.

Після підготовки зразків їх інокують на спеціальні поживні середовища, що сприяють культивуванню специфічних видів бактерій. Наприклад, для виявлення бактерій роду *Vibrio* використовують спеціалізовані середовища, що містять солі, які імітують морське середовище та стимулюють ріст цих бактерій. Інкубація проводиться за контрольованих умов, таких як температура та вологість, що відповідають оптимальним для конкретного виду патогенів. Найчастіше для *Vibrio* та інших морських патогенів оптимальною є температура близько 35°C, тоді як для інших бактерій, як-от *E.coli* та *Salmonella*, температурний режим може варіювати.

Після закінчення інкубаційного періоду проводять оцінку та ідентифікацію зростаючих колоній. Колонії аналізують за морфологічними ознаками, такими як колір, розмір та форма, а також застосовують більш точні методи, такі як біохімічні тести та молекулярна діагностика, наприклад, полімеразна ланцюгова реакція — ПЛР. Біохімічні тести допомагають визначити ферментативну активність бактерій, що може слугувати маркером їхньої належності до певного виду. ПЛР, у свою чергу, дозволяє підтвердити ідентифікацію бактерій, аналізуючи ДНК-зразки з колоній. Підрахунок колоній дозволяє визначити концентрацію патогенів на одиницю маси продукту. Такий молекулярний підхід є надзвичайно точним і дозволяє уникнути помилок.

Іноді, особливо для патогенних мікроорганізмів, додатково проводиться тестування на антибіотикорезистентність. Це дозволяє визначити, чи стійкі виявлені бактерії до звичайних антимікробних препаратів, що є важливою інформацією для системи охорони здоров'я. Виявлення резистентності може також вказувати на забруднення водного середовища, де вирощуються устриці, через надмірне використання антибіотиків у сільському господарстві та аквакультурі.

Мікробіологічний метод активно використовується у сфері контролю якості морепродуктів, ресторанах та на підприємствах громадського харчування, що працюють з морепродуктами. Крім того, цей метод застосовується в наукових лабораторіях для дослідження мікробіоти морських організмів і впливу екологічних факторів на її склад. У харчовій промисловості він є основою для забезпечення харчової безпеки та дотримання нормативів якості, а також для запобігання епідеміям захворювань, пов'язаних із забрудненням морепродуктів. До його переваг можна віднести, те що він забезпечує виявлення потенційно небезпечних мікроорганізмів, які неможливо ідентифікувати іншими методами та дозволяє попередити можливість харчових отруєнь, пов'язаних із зараженням устриць. До недоліків тривалий час виконання, бо культивування мікроорганізмів потребує часу, що ускладнює негайну оцінку свіжості продукту, а також високу вартість та технічну складність, бо потребує лабораторного обладнання та досвідчених фахівців [41, 45, 46].

Враховуючи, що устриці фільтрують морську воду та можуть накопичувати шкідливі речовини з довкілля, хімічний аналіз допомагає виявити потенційно небезпечні сполуки, такі як важкі метали, наприклад, ртуть, свинець, кадмій, органічні забруднювачі, наприклад, пестициди та поліхлоровані біфеніли, а також сполуки, що утворюються в процесі розкладання білків, такі як амоніак. Свіжість продукту визначається через вимірювання складу компонентів, таких як білки, жири та вуглеводи і є ключовим для контролю якості морепродуктів на всіх етапах постачання, особливо в районах із промисловим чи сільськогосподарським забрудненням.

Першим етапом хімічного аналізу є відбір і підготовка зразків устриць. Зразки ретельно промивають і готують для визначення вмісту певних речовин. Для аналізу на важкі метали, наприклад, ртуть, свинець, чи кадмій найчастіше застосовують метод атомно-абсорбційної спектроскопії. Під час дослідження зразок устриць нагрівають і розщеплюють до атомарного стану, після чого пропускають через нього світло з певною довжиною хвилі. Поглинання світла атомами елемента дає можливість точно визначити концентрацію цих металів у зразку. Цей метод вирізняється високою точністю та чутливістю, що робить його стандартом у оцінці вмісту важких металів у морепродуктах.

Для визначення органічних забруднювачів, таких як пестициди та поліхлоровані біфеніли, використовують газову хроматографію або хромато-мас-спектрометрію. Ці методи дають змогу розділяти й аналізувати компоненти складних сумішей, що особливо важливо для виявлення малих концентрацій забруднювачів. У процесі газової хроматографії зразок устриці обробляється для вилучення органічних сполук, які потім випаровуються та переміщуються по колонці хроматографа. Різні сполуки переміщуються з різною швидкістю та відділяються одна від одної, після чого їх можна ідентифікувати.

Крім того, для оцінки свіжості устриць часто вимірюють рівень рН м'яса і визначають рівень азотистих сполук. Збільшення концентрації азотистих сполук, таких як амоніак, що утворюються під час розкладання білків, свідчить про початкову стадію псування продукту. Вимірювання рН дозволяє отримати об'єктивні дані про свіжість продукту, оскільки зміна кислотності прямо пов'язана з процесами, що відбуваються при розкладанні органічних речовин.

Хімічні та фізико-хімічні методи оцінки якості устриць дозволяють контролювати рівень забруднення і забезпечують їх відповідність вимогам безпеки. Це особливо важливо для зниження ризиків харчових отруєнь і забруднень, пов'язаних із промисловою діяльністю або інтенсивним сільським господарством у районі видобутку. Ці методи є точними та можуть гарантувати відповідність харчовим стандартам, що допомагає уникнути інтоксикацій [47, 48].

1.6 Поставлення мети і завдання досліджень

Метою роботи є застосування розчину гідратованого фулерену C₆₀ для подовження терміну гіпотермічного зберігання устриць.

Завдання досліджень:

- визначити органолептичні та фізико-хімічні показники якості устриць *Crassostrea gigas*;
- дослідити вплив гідратованого фулерену C₆₀ на показники якості устриць *Crassostrea gigas* під час гіпотермічного зберігання;
- встановити максимальний термін гіпотермічного зберігання устриць *Crassostrea gigas* у присутності гідратованого фулерену C₆₀.

2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Експериментальні дослідження проводилися на факультеті харчових технологій в Університеті Сільського господарства у Кракові, Польща.

2.1 Реактиви та обладнання

Реактиви, які були використані у роботі:

- гідратований фулерен C₆₀ (C₆₀H_уF_n) «Фізико технічний інститут низьких температур» (Україна, Харків), вихідна концентрація 0,3 мг/л;
- фенолфталеїн (ч.д.а) ТМ «Chempur» (Польща);
- 37% розчин формаліну (ч.д.а) ТМ «Warchem» (Польща);
- натрій гідроксид (ч.д.а) ТМ «Acros Organics» (Польща);
- дистильована вода.
- етиловий спирт (ч.д.а) ТМ «Pol-Aura» (Польща);

Хімічний посуд, який був використаний у роботі:

- конічні колби місткістю 300 мл;
- градуйовані піпетки об'ємом 50 мл, 10 мл (II-го класу точності);
- бюретка на 25 мл (II-го класу точності);
- хімічні стакани місткістю 50 мл, 100 мл;
- лійки;
- скляні палички;
- фільтрувальний папір;
- бюкси з притертими кришками.

Обладнання, яке було використано у роботі:

- штатив;
- сушильна шафа Memmert UNB 200;
- рН-метр Mettler Toledo SevenCompact S220 з комбінованим скляним електродом InLab® Expert Pro-ISM;
- аналітичні ваги Mettler Toledo MS303S (стандартне відхилення зважування $\pm 0,0001$ г);

У роботі використовували устриці *Crassostrea gigas* торгової марки «Le Gall», Британія. Хімічний склад устриць наведено в таблиці 2.1 [51].

Таблиця 2.1 Хімічний склад устриць *Crassostrea gigas*

Компонент	Вміст (на 100 г)
Вода	85-90 г
Білки	8-10 г
Жири	1-2 г
Вуглеводи	3-5 г
Натрій	90-100 мг
Калій	220-250 мг
Кальцій	50-60 мг
Фосфор	100-150 мг
Магній	25-30 мг
Цинк	60-100 мг
Залізо	5-10 мг
Селен	30-40 мкг
Йод	30-50 мкг
Вітамін А	60-100 мкг
Вітамін В12	10-20 мкг
Вітамін D	2-4 мкг
Вітамін Е	1-2 мг
Омега-3 (ЕРА, DHA)	0,3-0,5 г
Омега-6	0,02-0,04 г
Таврин	150-200 мг
Глікоген	5-8 г
D-аспарагінова кислота (DAA)	50-100 мг

2.2 Методи досліджень

Органолептичні показники якості устриць оцінювали згідно з методиками [49, 50]. Органолептичні показники якості устриць визначали за допомогою сенсорної оцінки, яку проводили методом експертного оцінювання за п'ятибальною шкалою. Оцінювали наступні показники: зовнішній вигляд, ознаки життєдіяльності, колір тіла, консистенція тіла, запах, смак.

На основі загальної бальної оцінки дослідних зразків устриць здійснювали розподіл за якістю на категорії: відмінно (30–27 бали), добре (26-22 бали), задовільно (21–15 бали), незадовільно (менше 15 балів).

Задля визначення рН готували екстракт тканини устриць. Для цього до 10 г подрібненої тканини устриць додавали 40 мл дистильованої води та екстрагували 15 хв. Після чого відфільтровували екстракт та визначали рН рідкої фракції за допомогою потенціометра.



Рисунок 2.1. Приготування екстракту тканини устриц

Визначення аміно-аміачного азоту (ААА) проводили відповідно до наступної методики: у конічну колбу місткістю 300 мл піпеткою вносили 10,00 мл екстракту тканин устриць, приготовленого за описаним вище способом, додавали 40 мл дистильованої води і 3 краплі 1% розчину фенолфталеїну.

Екстракт нейтралізували 0,1 М розчином натрій гідроксиду до появи блідо-рожевого забарвлення. Потім у колбу додавали 10 мл 37% розчину нейтралізованого фенолфталеїном формаліну і знову титрували 0,1 М розчином натрій гідроксиду до появи блідо-рожевого забарвлення. Вміст ААА (мг/10 мл екстракту) розраховували за формулою:

$$X = 1,4 \times V, \quad (2.1)$$

де

V – об'єм 0,1 М розчину натрій гідроксиду витраченого на друге титрування, мл.



Рисунок 2.2. Нейтралізований розчин екстракту тканини устриць

Масову частку води в тканині устриць визначали за ГОСТ 7636-85. Наважку дослідної проби 1,5-2 г зважували з точністю до 0,001 г. Після чого поміщали у висушений і тарований бюкс зі скляною паличкою, якою рівномірним тонким шаром розподіляли наважку продукту в бюксі. Бюкс закривали, зважували на аналітичних вагах і висушували в сушильній шафі при температурі 100-105°C до постійної маси. Масу висушеної наважки вважали постійною, якщо різниця між двома останніми зважуваннями не перевищувала 0,001 г.

Масову частку води розраховували за формулою:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%, \quad (2.2)$$

де

m_1 – маса наважки устриць до висушування, г;

m_2 – маса проби устриць після висушування, г.

Результати досліджень, наведені в роботі, є середнім значенням не менш, ніж чотирьох повторювань; закономірності відтворювались у кожному з паралельних дослідів. Статистична обробка результатів проводилась за критеріями Фішера та Стюдента за рівнем надійності 0,95 [52].

2.3 Визначення показників якості устриць *Crassostrea gigas*

Перший етап роботи полягав у визначенні показників якості устриць *Crassostrea gigas* (рис. 2.3). Одержані результати визначення органолептичних та фізико-хімічних показників наведено у таблицях 2.2, 2.3.



Рисунок 2.3. Устриця *Crassostrea gigas*

Таблиця 2.2 Органолептичні показники устриць *Crassostrea gigas*

Показники	Характеристика
Зовнішній вигляд	Поверхня стулок чиста, без мулу та піску. На поверхні стулок немає залишків раковин баянуса
Ознаки життєдіяльності	Стулки молюсків дуже щільно закриті. Реагують на роздратування та при доторканні стулки щільно змикаються
Колір тіла	Сірувато зелений
Консистенція тіла	Ніжна м'ясиста плівка, волога
Запах	Специфічний, запах моря
Смак	Слабкий солоний з йодистим присмаком

Таблиця 2.3 Фізико-хімічні показники устриць *Crassostrea gigas*

Назва показника	Значення для устриць
Вміст води у м'ясі устриць, %	82,3±0,4
pH	6,37±0,01
Вміст аміно-аміачного азоту у м'ясі устриць, мг/10 мл екстракту	2,31±0,02

Відомо, що для свіжих устриць pH м'яса становить до 7,15 одиниць, вміст аміно-аміачного азоту 2,50 мг / 10 мл екстракту, а для несвіжих – більше 7,40 і більше 3,00 мг на 10 мл / екстракту відповідно. Таким чином встановлено, що вихідні зразки устриць є свіжими.

2.4 Дослідження впливу гідратованого фулерену C₆₀ на показники якості устриць під час гіпотермічного зберігання

Устриці *Crassostrea gigas* були розділені на дві групи: контрольна та експериментальна. Першу групу устриць витримували протягом однієї доби в

морській воді. Другу групу устриць витримували у морській воді з додаванням гідратованого фулерену C60 (0,00144 мг/л). Потім устриці обох груп зберігалися протягом 12 діб у побутовому холодильнику в вологій камері при температурі 2...3°C.

Результати визначення органолептичних показників якості наведені в на рисунку 2.4 та у таблицях 2.4, 2.5.



а



б

Рисунок 2.4. Устриці *Crassostrea gigas* через 8 діб зберігання:

а – контрольна група, б – експериментальна група

Таблиця 2.4 Органолептична оцінка устриць протягом гіпотермічного зберігання (контрольна група)

Показники	Оцінка устриць протягом зберігання, балів			
	0	4	8	12
Зовнішній вигляд	5	5	5	-
Ознаки життєдіяльності	5	5	4	-
Колір тіла	5	4	3	-
Консистенція тіла	5	4	3	-
Запах	5	4,5	3	-
Смак	5	4,5	3	-
Загальна оцінка	30	27	21	-

Таблиця 2.5 Органолептична оцінка устриць протягом гіпотермічного зберігання
(експериментальна група)

Показники	Оцінка устриць протягом зберігання, балів			
	0	4	8	12
Зовнішній вигляд	5	5	5	5
Ознаки життєдіяльності	5	5	4	3
Колір тіла	5	5	5	3
Консистенція тіла	5	5	4,5	4
Запах	5	5	5	3
Смак	5	5	5	3
Загальна оцінка	30	30	28,5	21

На рисунку 2.5 результати дослідження органолептичних показників м'яса устриць під час гіпотермічного зберігання представлені у вигляді профілограми.



Рисунок 2.5. Бальна оцінка м'яса устриць контрольної групи під час гіпотермічного зберігання: — 0 діб; — 4 доби; — 8 діб;



Рисунок 2.6. Бальна оцінка м'яса устриць експериментальної групи під час гіпотермічного зберігання: — 0 діб; — 4 доби; — 8 діб; — 12 діб

За результатами органолептичного аналізу встановлено, що у устриць контрольної групи органолептичні показники були високими до 4 доби зберігання включно. На 8 добу зберігання показники устриць контрольної групи були незадовільними, тому устриці цієї групи далі не досліджували.

Для експериментальної групи протягом терміну зберігання зовнішній вигляд залишався без змін: поверхня стулок чиста, без мулу та піску; на поверхні стулок немає залишків раковин баянуса. Ознаки життєдіяльності починають погіршуватись на дев'яту добу: стулки молюсків закриті не дуже щільно. Колір змінюється зі світло сірого на бежевий, тіло молюска стає матовим. На десятю добу тіло устриці має жовтуватий колір. На 12 добу консистенція тіла погіршується, запах і смак стають неприємними.

Результати дослідження фізико-хімічних показників устриць під час гіпотермічного зберігання наведено у таблицях 2.6-2.9.

Таблиця 2.6 Вміст води у м'ясі устриць під час гіпотермічного зберігання

Термін зберігання, діб	Зразок, що досліджувався	
	Контроль	C60HyFn
0	82,31±0,04	83,56 ± 0,04
4	77,15±0,04	82,42 ± 0,04
8	74,21± 0,04	79,17 ± 0,04
12	-	76,89 ± 0,04

Згідно одержаних результатів, у м'язовій тканині молюсків експериментальної групи виявлено більший вміст води у порівнянні з контролем, що також позитивно позначалося на ступінь збереженості устриць.

Таблиця 2.7 pH м'яса устриць під час гіпотермічного зберігання

Термін зберігання, діб	Зразок, що досліджувався	
	Контроль	C60HyFn
0	6,77 ± 0,01	6,97 ± 0,01
4	6,85 ± 0,01	6,95 ± 0,01
8	7,47 ± 0,01	7,10 ± 0,02
12	—	7,57 ± 0,02

Результати таблиці 2.7 свідчать, що устриці контрольної групи є свіжими на 4 добу (pH<7,4), устриці експериментальної групи залишаються свіжими до 8 доби. Тобто застосування розчину гідратованого фулерену C60 призводить до уповільнення процесів кислотного розпаду.

Таблиця 2.8 Кількість аміно-аміачного азоту у м'ясі устриць (мг/10 мл екстракту) під час гіпотермічного зберігання

Термін зберігання, діб	Зразок, що досліджувався	
	Контроль	C60HyFn
0	2,31±0,02	2,14 ± 0,01
4	2,47 ± 0,02	2,19 ± 0,03

8	$3,35 \pm 0,02$	$2,49 \pm 0,04$
12	—	$3,10 \pm 0,05$

Таблиця 2.9 Кількість аміно-аміачного азоту у м'ясі устриць (мг/100 г м'яса устриць) під час гіпотермічного зберігання

Термін зберігання, діб	Зразок, що досліджувався	
	Контроль	C60HyFn
0	$92,4 \pm 0,02$	$85,6 \pm 0,01$
4	$98,8 \pm 0,02$	$87,6 \pm 0,03$
8	$134 \pm 0,02$	$99,6 \pm 0,04$
12	—	$124 \pm 0,05$

В експериментальній групі спостерігається значно менший рівень білкового розпаду у порівнянні з контрольною групою устриць, що свідчить про зменшення інтенсивності деструктивних процесів у білкових структурах.

Згідно одержаних результатів, можна зробити висновок, що гідратований фулерен C60 дозволяє збільшити термін зберігання устриць за температури 2...3 °C до 8 діб.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано методи одержання та властивості гідратованого фулерену C₆₀ і встановлено перспективність його використання для подовження терміну зберігання устриць.
2. Визначено органолептичні та фізико-хімічні показники якості устриць *Crassostrea gigas* і встановлено, що вони відповідають вимогам нормативної документації на даний вид продукції.
3. Досліджено вплив гідратованого фулерену C₆₀ на показники якості устриць під час гіпотермічного зберігання.
4. Встановлено, що застосування розчину гідратованого фулерену C₆₀ дозволяє збільшити термін гіпотермічного зберігання устриць до 8 діб.



СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Chang X., Xu Y., von Delius M. Recent advances in supramolecular fullerene chemistry. *Chem. Soc. Rev.*, **2024**, 53, 47–49.
2. Montellano López A., Mateo-Alonso A., Prato M. Materials chemistry of fullerene C60 derivatives. *J. Mater. Chem.*, **2011**, 21(5), 1305–1318.
3. Lin H.-S., Matsuo Y. Functionalization of [60] fullerene through fullerene cation intermediates. *Chem. Commun.*, **2018**, 54(80), 11244–11259.
4. Chang X., Xu Y., von Delius M. Recent advances in supramolecular fullerene chemistry. *Chem. Soc. Rev.*, **2024**, 53(1), 47–83.
5. Jin P., Gu X. Structural Characteristics of Fullerenes. In: Lu X., Akasaka T., Slanina Z. (eds) Handbook of Fullerene Science and Technology. *Springer, Singapore*, **2022**; pp. 81–110.
6. Liu Y., Gao Y., Altalhi T., Liu D.-J., Yakobson B. I. A quantum mechanical MP2 study of the electronic effect of nonplanarity on the carbon pyramidalization of fullerene C60. *Nanomaterials*, **2024**, 14(19), 1576.
7. Ko W.-B., Heo J.-Y., Nam J.-H., Lee K.-B. Synthesis of a water-soluble fullerene [C60] under ultrasonication. *Ultrasonics*, **2004**, 4(9), 727–730.
8. Guan J., Chen X., Wei T., Liu F., Wang S., Yang Q., Lu Y., Yang S. Directly bonded hybrid of graphene nanoplatelets and fullerene: facile solid-state mechanochemical synthesis and application as carbon-based electrocatalyst for oxygen reduction reaction. *J. Mater. Chem. A*, **2015**, 3, 8.
9. Li X., Wang S., Guo J., Wu Z., Guo C., Cai S., Deng M. Core-hole excitation spectra of the oxides and hydrates of fullerene C60 and azafullerene C59N. *Molecules*, **2024**, 29(3), 609.
10. Zhang X., Ma Y., Fu S., Zhang A. Facile synthesis of water-soluble fullerene (C60) nanoparticles via mussel-inspired chemistry as efficient antioxidants. *Nanomaterials*, **2019**, 9(12), 1647.
11. Ramakanth I., Kolencik M., Rao M. S., Sunil B. R., Vijayasree U., Durgababu G., Devi S. A., Sebesta M., Siva T. Tuning the morphology and state of aggregation of fullerene C60 using non-ionic surfactants. *Colloid J.*, **2021**, 83(4), 474–482.

12. Oh H., Lee J. S., Son P., Sim J., Park M. H., Bang Y. E., Sun D., Lim J.-M., Choi W. I. Highly water-dispersed natural fullerenes coated with Pluronic polymers as novel nanoantioxidants for enhanced antioxidant activity. *Antioxidants*, **2024**, 13(10), 1240.
13. Astefanei A., Núñez O., Galceran M. T. Non-aqueous capillary electrophoresis separation of fullerenes and C60 fullerene derivatives. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2012**, 404(2), 307–313.
14. Zygouri P., Spyrou K., Mitsari E., Barrio M., Macovez R., Patila M., Stamatis H., Verginadis I. I., Velalopoulou A. P., Evangelou A. M., Sideratou Z., Gournis D., Rudolf P. A facile approach to hydrophilic oxidized fullerenes and their derivatives as cytotoxic agents and supports for nanobiocatalytic systems. *Sci. Rep.*, **2020**, 10(1), 8244.
15. Vinnikov N. A., Cherednichenko S. V., Dolbin A. V., Eselson V. B., Gavrilko V. G., Basnukaeva R. M., Plokhotnichenko A. M. A new approach for obtaining aqueous solutions of fullerene C60@{H2O}n by the cryogenic sublimation method. *Low Temp. Phys.*, **2022**, 48(4), 336–338.
16. Cherednichenko S. V., Andrievsky G. V., Vinnikov N. A., Dolbin A. V., Kosevich M. V., Shelkovsky V. S., Basnukaeva R. M., Gnatyuk O. P., Bezkrivnyi O., Ptak M., Chaika M., Kuzema P. O., Dovbeshko G. I. Raman, UV-Vis, MS, and IR characterization of molecular-colloidal solution of hydrated fullerenes C60 obtained using vacuum-sublimation cryogenic deposition method. *Low Temp. Phys.*, **2024**, 50(3), 248–256.
17. Zhang J., Zhao X., Liu Q. Interactions between C60 and vesicles: a coarse-grained molecular dynamics simulation. *RSC Adv.*, **2016**, 6(93), 90388–90396.
18. Nisoh N., Jarerattanachai V., Karttunen M., Wong-ekkabut J. Fullerenes' interactions with plasma membranes: insight from MD simulations. *Biomolecules*, **2022**, 12(5), 639.
19. Sridhar A., Srikanth B., Kumar A., Dasmahapatra A. K. Coarse-grain molecular dynamics study of fullerene transport across a cell membrane. *J. Chem. Phys.*, **2015**, 143(2), 024907.

20. Afreen S., Kokubo K., Muthoosamy K., Manickam S. Hydration or hydroxylation: direct synthesis of fullerenol from pristine fullerene [C60] via acoustic cavitation in the presence of hydrogen peroxide. *RSC Adv.*, **2017**, 7(51), 31930–31939.
21. Hui M., Jia X., Li X., Lazcano-Silveira R., Shi M. Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Liposoluble C60 at the Cellular, Molecular, and Whole-Animal Levels. *J. of Inflam. Res.*, **2023**, 16, 83–93.
22. Baker G. L., Gupta A., Clark M. L., Valenzuela B. R., Staska L. M., Harbo S. J., Pierce J. T., Dill J. A. Inhalation Toxicity and Lung Toxicokinetics of C60 Fullerene Nanoparticles and Microparticles. *Toxicol. Sci.*, **2008**, 101(1), 122–131.
23. Wang C., Bai Y., Li H., Liao R., Li J., Zhang H., Zhang X., Zhang S., Yang S.-T., Chang X.-L. Surface Modification-Mediated Biodistribution of ¹³C-Fullerene C60 In Vivo. *Part. Fibre Toxicol.*, **2016**, 13(14).
24. Schur D. V., Matysina Z. A., Zaginaichenko S. Y., Botsva N. P., Elina O. V. Fullerenes: Prospects of Using in Medicine, Biology, and Ecology. *Visnyk Dnipro Univ. Biol. Ecol.*, **2012**, 20(1), 139–145.
25. Sugikawa K., Masuda K., Kozawa K., Kawasaki R., Ikeda A. Fullerene-Porphyrin Hybrid Nanoparticles That Generate Activated Oxygen by Photoirradiation. *RSC Adv.*, **2021**, 11(3), 1564–1568.
26. Yan W., Seifermann S. M., Pierrat P., Brase S. Synthesis of Highly Functionalized C60 Fullerene Derivatives and Their Applications in Material and Life Sciences. *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 13(1), 25–54.
27. Castro E., Fernandez-Delgado O., Arslan F., Zavala G., Yang T., Seetharaman S., D'Souza F., Echegoyen L. New Thiophene-Based C60 Fullerene Derivatives as Efficient Electron Transporting Materials for Perovskite Solar Cells. *New J. Chem.*, **2018**, 42(17), 14551–14558.
28. Thomas S. A., Cherusseri J., Rajendran D. N. Functionalized Carbon Nanostructures for Hydrogen Storage. In: Barhoum, A., Deshmukh, K. (Eds.) *Handbook of Functionalized Carbon Nanostructures*. Springer, Cham: **2024**, pp. 1471–1509.
29. Kausar A., Ahmad I., Maaza M., Eisa M. H. State-of-the-Art of Polymer/Fullerene C60 Nanocomposite Membranes for Water Treatment: Conceptions, Structural Diversity and Topographies. *Membranes*, **2023**, 13(1), 27.

30. Lens M. Use of Fullerenes in Cosmetics. *Recent Pat. Biotechnol.*, **2009**, 3(2), 118–123.
31. Scientific Committee on Consumer Safety, Fullerenes, Hydroxylated Fullerenes and hydrated forms of Hydroxylated Fullerenes (nano), **2023**, 81-85.
32. Liao S., Liu G., Tan B., Qi M., Li J., Li X., Zhu C., Huang J., Yin Y., Tang Y. Fullerene C60 Protects Against Intestinal Injury from Deoxynivalenol Toxicity by Improving Antioxidant Capacity. *Life*, **2021**, 11(6), 491.
33. Nedzvetsky V., Andrievsky G., Chachibaia T., Tykhomyrov A. Differences in Antioxidant/Protective Efficacy of Hydrated C60 Fullerene Nanostructures in Liver and Brain of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. *J. Diabetes Metab.*, **2012**, 3(8), 1000215.
34. Gudkov S. V., Guryev E. L., Gapeyev A. B., Sharapov M. G., Bunkin N. F., Shkirin A. V., Zabelina T. S., Glinushkin A. P., Sevost'yanov M. A., Belosludtsev K. N., et al. Unmodified Hydrated C60 Fullerene Molecules Exhibit Antioxidant Properties, Prevent Damage to DNA and Proteins Induced by Reactive Oxygen Species and Protect Mice Against Injuries Caused by Radiation-Induced Oxidative Stress. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, **2019**, 15, 37–46.
35. Hou W., Shi G., Wu S., Mo J., Shen L., Zhang X., Zhu Y. Application of Fullerenes as Photosensitizers for Antimicrobial Photodynamic Inactivation: A Review. *Front. Microbiol.*, **2022**, 14(13), 957698.
36. Sforzini S., Oliveri C., Barranger A., Jha A. N., Banni M., Moore M. N., Viarengo A. Effects of Fullerene C60 in Blue Mussels: Role of MTOR in Autophagy-Related Cellular/Tissue Alterations. *Chemosphere*, **2020**, 246, 125707.
37. Zhou H., McClements D. J. Recent Advances in the Gastrointestinal Fate of Organic and Inorganic Nanoparticles in Foods. *Nanomaterials*, **2022**, 12, 1099.
38. Barzegar S., Asri Kojabad A., Manafi Shabestari R., Barati M., Rezvany M. R., Safa M., Amani A., Pourfathollah A., Abbaspour A., Rahgoshay M. Use of Antioxidant Nanoparticles to Reduce Oxidative Stress in Blood Storage. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **2022**, 69, 1712–1722.
39. Asha K. K., Anandan R., Mathew S., Lakshmanan P. T. Biochemical Profile of Oyster *Crassostrea madrasensis* and Its Nutritional Attributes. *Egypt. J. Aquat. Res.*, **2014**, 40(1), 35–41.

40. Min Y., Dong S., Su M., Zhao Y., Zeng M. Physicochemical, Microbiological, and Sensory Quality Changes of Tissues from Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) During Chilled Storage. *J. Food Sci. Technol.*, **2020**, 57(7), 2452–2460.
41. Cao R., Xue C.-H., Liu Q., Xue Y. Microbiological, Chemical, and Sensory Assessment of Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*) Stored at Different Temperatures. *Czech J. Food Sci.*, **2009**, 27(2), 102–108.
42. Mudoh M. F., Parveen S., Schwarz J., Rippen T., Chaudhuri A. The Effects of Storage Temperature on the Growth of *Vibrio parahaemolyticus* and Organoleptic Properties in Oysters. *Front. Public Health*, **2014**, 2, 45.
43. FAO, WHO. Risk Assessment Tools for *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* Associated with Seafood. Microbiological Risk Assessment Series No. 20, **2020**.
44. Spaur M., Davis B. J. K., Kivitz S., DePaola A., Bowers J. C., Curriero F. C., Nachman K. E. A Systematic Review of Post-Harvest Interventions for *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters. *Sci. Total Environ.*, **2020**, 745, 140795.
45. Guedes B., Godinho O., Lage O. M., Quinteira S. Microbiological Quality, Antibiotic-Resistant Bacteria, and Relevant Resistance Genes in Ready-to-Eat Pacific Oysters (*Magallana gigas*). *FEMS Microbiol. Lett.*, **2023**, 17, 370.
46. Pereira C., Costa P., Duarte J., Balcão V. M. Phage Therapy as a Potential Approach in the Biocontrol of Pathogenic Bacteria Associated with Shellfish Consumption. *Int. J. Food Microbiol.*, **2021**, 338, 108995.
47. Senez-Mello C., Crapez C., Silva R. da. Spatial Variability of Heavy Metals in Native Oysters from an Anthropogenically Impacted Estuary in Northeastern Brazil. *Front. Mar. Sci.*, **2020**, 7, 412.
48. Ke Y., Ou C., Guo X., Liu S., Yao C., Shi B., Que H. Heavy Metal Accumulation in Oysters from an Aquaculture Area in the Luoyangjiang River Estuary. *Toxics*, **2023**, 11(3), 209.
49. ISO 8586:2012. Sensory Analysis - General Guidelines for the Selection, Training, and Monitoring of Assessors. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, **2012**.

50. ISO 13299:2016. Sensory Analysis – Methodology – General Guidance for the Selection of Test Methods. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, **2016**.
51. Zhu Y., Li Q., Yu H., Kong L. Biochemical Composition and Nutritional Value of Different Shell Color Strains of Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *J. Ocean Univ. China*. **2018**, 17(6), 897–904.
52. Falko O., Chizhevskiy V., Ponomarenko O., Evlash V., Piliugina I., Gubsky S. Use Opportunities of Hydrated Fullerene Nanoparticles for Hypothermic Storage of Industrial Oysters. *Mater. Proc.* **2023**, 14(1), 18.