



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **87896**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/18** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 10181**

(22) Дата подання заявки: **19.08.2013**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **25.02.2014**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **25.02.2014, Бюл.№ 4**

(72) Винахідник(и):

**Крусір Галина Всеволодівна (UA),  
Кондратенко Ірина Петрівна (UA),  
Думбрава Анастасія Анатоліївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ  
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,  
вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)**

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ БЕЗПЕКИ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

### (57) Реферат:

Спосіб оцінки безпеки харчових продуктів включає підготовку екстракту досліджуваного зразка, внесення в отриманий екстракт тест-організмів, інкубацію тест-організмів і наступний підрахунок чисельності особин, що вижили. Одночасно готують водний розчин ацетонового екстракту і водний розчин досліджуваного зразка, в кожний екстракт вносять рачки *Daphnia magna* Straus (попередньо промитих водопровідною потім дистильованою водою і підсушених на фільтрувальному папері). Оцінку безпеки продукту визначають за відсотком тест-організмів, що вижили в обох екстрактах досліджуваного зразка.

**UA 87896 U**



Корисна модель належить до гігієнічної безпеки харчових продуктів і продовольчої сировини, а саме до визначення наявності токсичних речовин у харчових продуктах способом біотестування.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб оцінки якості кормових і харчових продуктів за допомогою культури інфузорій *Stylonichia mytilus*, описаний в патенті РФ № 2049994 на винахід "Способ оценки качества пищевых и кормовых продуктов". У зазначеному способі досліджуваний продукт кількістю 10 г подрібнюють, заливають ацетоном або спиртом обсягом 10-15 мл, струшують 2 хв. і відстоюють протягом 15 хв. Екстракт кількістю 0,5 мл розбавляють відстоюною протягом тижня водопровідною водою до концентрації розчинника 0,4-1,3 %. Перед додаванням водних розчинів екстрактів у мікроакваріумів (кожен зразок у п'ять мікроакваріумів) у них вносять інфузорії, кількістю 10-20 особин в кожен мікроакваріум, які підраховують за допомогою біокуляра. Після цього обсяг вмісту мікроакваріумів доводять до 0,4-0,5 мл шляхом додавання водного розчину екстракту. У результаті щільність інфузорій становить 20-40 особин/мл. Через 2 години вдруге підраховують чисельність інфузорій. У контролі (0,6-1,3 % ацетону або 0,4-0,8 % розчину спирту етилового у воді) інфузорії повинні залишитися живими. Ступінь токсичності випробуваного продукту визначають за виживаністю інфузорій після 2 годин експозиції у водно-ацетонових або у водно-спиртовому екстракті. Даний спосіб вибрано за прототипом.

Прототип і корисна модель, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- підготовка досліджуваного зразка;
- внесення в отриманий екстракт тест-організмів;
- інкубація тест-організмів;
- підрахунок тест-організмів, що вижили.

Але спосіб за прототипом має низку суттєвих недоліків. По-перше, даний спосіб не дозволяє визначити наявність у кормових продуктах водорозчинних мікотоксинів (патулін, токсини дріжджоподібних мікрогрибів і деякі інші), що становить близько 10 % із загального числа токсичних проб кормових продуктів. Це пов'язано з тим, що в зазначеному способі для біотестування використовується водно-ацетоновий екстракт, тобто витяг токсинів з продуктів проводиться ацетоном, який надалі розбавляється водою в 80-160 разів до концентрації ацетону в 0,6-1,3 %. У разі присутності в продукті водорозчинних токсинів, які витягуються з продукту ацетоном значно гірше ніж водою, отримана концентрація токсинів недостатня для їх виявлення. Для усунення цього недоліку можна сконцентрувати токсини шляхом випарювання ацетонового екстракту на водяній бані.

По-друге, недоліком відомого способу є дуже малий розмір тест-організмів, це ускладнює процес визначення числа загинув особин (їх потрібно рахувати під мікроскопом). Також, недоліком є необхідність попереднього приготування спеціального поживного середовища для інфузорій і витримка їх у ньому 3-5 діб.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб оцінки безпеки харчових продуктів на наявність в них токсичних речовин, в якому за рахунок використання культури рачків *Daphnia magna* Straus забезпечити отримання достовірного результату щодо ступеня токсичності харчового продукту, прискорення проведення тестування, а також спрощення процесу підрахунку тест-організмів через те, що розмір рачків *Daphnia magna* Straus більший, ніж розмір інфузорій, тому використання мікроскопа не потребується.

Поставлена задача вирішена в способі оцінки безпеки харчових продуктів тим, що передбачає підготовку досліджуваного зразка, внесення в отриманий екстракт тест-організмів і наступний підрахунок чисельності особин, що вижили, згідно з корисною моделлю, на відміну від прототипу одночасно готують водний розчин ацетонового екстракту і водний розчин досліджуваного зразка, в кожному екстракті вносять рачки *Daphnia magna* Straus, а оцінку безпечності продукту визначають за відсотком тест-організмів, що вижили в обох екстрактах досліджуваного зразка.

У способі, що заявляється, використовують культуру рачків *Daphnia magna* Straus. Суть запропонованого способу оцінки токсичності полягає в наступному: одночасно готують водний розчин ацетонового екстракту і водний розчин досліджуваного продукту, потім інкубують рачки *Daphnia magna* Straus в тому і іншому розчинах. Оцінку токсичності роблять у водяному розчині ацетонового екстракту продукту і водного екстракту того ж продукту за відсотком виживаності рачків за певний період часу. Відповідно до нормативів, прийнятими в галузі для даного виду продукції, роблять оцінку ступеня токсичності і роблять висновки про можливе використання продукту.

Приготування ацетонового екстракту продукту і його водного розчину для біотестування: пробу кількістю  $10 \pm 0,1$  г поміщають в скляний посуд для екстракції, заливають 15-25 мл ацетону

в залежності від консистенції екстракційної суміші та екстрагують при енергійному струшуванні протягом 2-х хвилин. Екстракцію ацетоном для більш повного вилучення токсинів найкраще проводити в скляному посуді ємністю 100 мл з притертою кришкою. Після 2-хвилинної екстракції ацетоновий екстракт відстоюють 10-15 хвилин. Якщо минуло більше 15 хвилин, екстракт необхідно кілька разів енергійно струснути і дати знову відстоятися 10-15 хвилин. Відстояний екстракт обережно відбирають шприцем, що не призводить до скаламучення осаду.

Водний розчин ацетонового екстракту продукту відфільтровують через паперовий фільтр. Це позбавляє розчин досліджуваного продукту від крупно-дисперсної фракції і стандартизує розмір дрібнодисперсних частинок продукту.

Після внесення рачків підготовлені проби ще раз перемішують. Випробування проводять при температурі 24-26 °С. Підрахунки рачків *Daphnia* проводять через 1,5 години. При підрахунку рачків *Daphnia* реєструють тільки рухливих особин, а рачків, які нерухомо лежали на дні чашки Петрі не враховують. Після вторинного підрахунку розраховують % рачків, що вижили за формулою:

$$N = \frac{N_2}{N_1} \times 100 \%$$

де  $N_2$  - сумарна кількість рачків в досліджуваній пробі для 5 повторюваностей через 1,5 години експозиції;

$N_1$  - сумарна кількість рачків в досліджуваній пробі для 5 повторюваностей на початку досліджу;

100 - коефіцієнт перерахунку у відсотки.

Спосіб здійснюється у наступному порядку.

Приготування контролю: В п'ять мікроакваріумів вносять культуру рачків *Daphnia magna* Straus в кількості 20 особин на 50 мл розчину, який береться за контроль. Через 1,5 години експозиції проводиться підрахунок рачків, що вижили:

$$20 + 18 + 19 + 20 + 20 = 97. N = \left( \frac{97/5}{100/5} \right) \cdot 100 = \left( \frac{19,4}{20} \right) \cdot 100 = 97$$

Біотестування водних екстрактів пшеничного борошна: пробу в кількості 10 г поміщають в скляний посуд для екстракції, доливають 50 мл дистильованої води та енергійно струшують протягом 20 хв.

Після екстракції пробу відстоюють 10 хв., потім відбирають шприцом і переносять на паперовий фільтр. Якщо проба являє собою гранульований або екструдований продукт, надосадова рідина при відстоюванні не утворюється і для її отримання пробу необхідно центрифугувати протягом 5 хв. при 2,5 тис.об./хв., після чого надосадову рідину також відфільтровують через паперовий фільтр. Після фільтрації проба готова до біотестування. Вона містить водорозчинні фракції токсинів і дрібнодисперсну суспензію (розмір часток близько 5 мкм).

Біотестування водного розчину ацетонового екстракту пшеничного борошна: для випробування використовують чашки Петрі. Рачків з чашки Петрі по одній особині вносять одночасно у всі мікроакваріуми, виходячи із загального числа досліджуваних проб і контролю, а також кількості повторюваностей для кожної проби. Кількість рачків в досліджуваній пробі становить 20 особин.

Результати впливу токсичних речовин на *Daphnia magna* Straus через 1,5 години експозиції представлені у таблиці 1.

Ступінь токсичності продукту при тестуванні водного розчину ацетонового екстракту продукту визначають по % рачків, що вижили (виживаність, %) у відповідності з таблицею 2.

Ступінь токсичності продукту при тестуванні водного розчину борошна визначають по % рачків, що вижили (виживаність, %) відповідно до таблиці 3.

Таблиця 1

Результати оцінки токсичності продукту по виживаності рачків *Daphnia magna* Straus

Досліджуваний продукт (борошно)	К-ть особин, що вижили					Сумарна к-ть рачків в пробі N <sub>2</sub>	Ступінь токсичності, N, %
	1	2	3	4	5		
Водний р-н ацетонового екстракту борошна	16	15	14	17	14	76	76 (слаботоксич.)
Водний розчин борошна	18	17	19	18	19	91	91 (нетоксичний)

Таблиця 2

Шкала ступеню токсичності досліджуваного продукту при тестуванні водного розчину ацетонового екстракту (%)

Ступінь токсичності досліджуваного продукту	Вживаність тест-організмів	
	Прототип	Корисна модель
	Комбікорму для всіх видів с/г тварин	Борошно пшеничне
Нетоксичний	81-100	91-100
Слаботоксичний	50-80	51-90
Токсичний	0-49	0-50

Таблиця 3

Шкала ступеню токсичності досліджуваного продукту при тестуванні водного розчину борошна (%)

Ступінь токсичності досліджуваного продукту	Вживаність рачків <i>Daphnia magna</i> Straus	
	Прототип	Корисна модель
	Комбікорму для всіх видів с/х тварин	Борошно пшеничне
Нетоксичний	81-100	93-100
Слаботоксичний	50-80	62-92
Токсичний	0-49	0-61

5

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10

Спосіб оцінки безпеки харчових продуктів, що включає підготовку екстракту досліджуваного зразка, внесення в отриманий екстракт тест-організмів, інкубацію тест-організмів і наступний підрахунок чисельності особин, що вижили, який **відрізняється** тим, що одночасно готують водний розчин ацетонового екстракту і водний розчин досліджуваного зразка, в кожний екстракт вносять рачки *Daphnia magna* Straus (попередньо промитих водопровідною потім дистильованою водою і підсушених на фільтрувальному папері), а оцінку безпеки продукту визначають за відсотком тест-організмів, що вижили в обох екстрактах досліджуваного зразка.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601