УКРАЇНА

(19) UA (11) 86769 (13) U

(51) МПК (2013.01)
G01N 33/00
G01N 33/18 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 08623**

(22) Дата подання заявки: **09.07.2013**

(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.01.2014**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.01.2014, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):
Пилипенко Людмила Миколаївна (UA),
Пилипенко Інна Василівна (UA),
Гайдукевич Діана Казимирівна (UA),
Данилова Олена Іванівна (UA)

(73) Власник(и):
ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,
вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)

(54) СПОСІБ БІОЛОГІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНИХ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН

(57) Реферат:

Спосіб біологічного визначення токсичних органічних речовин, що передбачає підготовку харчової сировини шляхом подрібнення. Екстракцію здійснюють ацетоном при співвідношенні досліджуваного об'єкта і розчинника, рівному 1:(1,0-20,0) за необхідністю здійснюють нейтралізацію до 4,8-7 та фільтрацію. Випарений екстракт розчиняють у ацетоново-водній суміші при співвідношенні (0,2-0,5):(9,5-9,8), після чого 0,01-0,02 $см^3$ добової культури інфузорій Stylonichia mytilus у водному розчині, в якому міститься від 10 до 20 особин, вносять в мікроакваріуми, додають 0,2 $см^3$ концентрату досліджуваної органічної речовини або суміші токсичних речовин. Після адаптації тест-організмів підраховують початкову чисельність інфузорій. Доводять об'єм суміші розчином досліджуваної речовини до половини мікроакваріумів і витримують. Після чого вдруге підраховують чисельність інфузорій і по кількості тест-організмів, що вижили, оцінюють ступінь токсичності досліджуваної органічної речовини.

UA 86769 U

Корисна модель належить до області аналізу гігієнічної безпеки харчових продуктів і продовольчої сировини, а саме до визначення токсичних органічних речовин у харчових продуктах біологічним методом.

Відомий спосіб біотестування ґрунту із використанням інфузорій Paramecium caudatum Ehrenberg (див. патент РФ № 2482478, МПК G01N33/24), що включає екстракцію зразка водою, фільтрацію з отриманням прозорого розчину з pH 7,0-8,2, виготовлення шкали розведення екстрактів і визначення токсичності зразка за тест-реакцією інфузорій. Далі здійснюють повторну екстракцію зразка водним розчином ацетону, фільтрацію, екстрагують гексаном, зливають нижню гексанову фракцію і повторюють переекстракцію новою порцією гексану. Гексановий екстракт випарюють досуха, додають етанол, закривають і здійснюють витримку, потім етаноловий екстракт перетворюють на колоїдний розчин шляхом розведення його до масової частки 2 % водним розчином препарату сухої жовчі крупної рогатої худоби із вмістом жовчі 0,01 %. Біотестують шкалу розведень по тест-реакції швидкості скорочень видільних вакуолів інфузорій і оцінюють рівень токсичності зразка по величинах токсичності водорозчинної фракції і водонерозчинної з ДДТ (дихлордифенілтрихлорметилметан).

До недоліків відомого способу біотестування можна віднести значну кількість операцій екстракції, необхідність наявності після фільтрації прозорого розчину, в той час, коли як харчові продукти, так і стічні води тощо бувають забарвленими. Недоліком є також значна кількість використаних реактивів, визначення здійснюють в колоїдному розчині, що заважає чіткому спостереженню за поведінкою біологічного об'єкту.

Відомий також спосіб визначення токсичності компонентів твердих матеріалів і вплив на живі особини (патент РФ № 2281495, МПК G01N33/02), що включає відбір і підготовку зразків біотестів, тестованих і контрольних об'єктів, введення біотесту в тестовані і контрольні об'єкти з наступною кількісною оцінкою дії індивідуальних сполук або сумішей різних сполук на біотести. Для реалізації способу тестований і контрольний об'єкти твердих матеріалів готують у вигляді рівноважних розчинів у воді або іншому відповідному водному розчиннику, а біотест вибирають з однієї партії початкових видів живих організмів, адаптують їх до умов експерименту і витримують одночасно за тотожних умов в досліджуваному і контрольному об'єктах (рівноважних розчинах) впродовж заданого часу. Потім вимірюють найбільш чутливий параметр (відгук) біотесту до дії забруднюючих речовин на особини біотесту, що вижили, в тестованому об'єкті. За результатами виміру параметрів біотесту із залежності відносного відгуку біотесту від концентрації розчинених компонентів в тестованому об'єкті знаходять коефіцієнт біологічної активності дії індивідуальних сполук на біотест, біологічний ефект і біологічну активність розчинених компонентів в кожній пробі. За результатами визначення біологічної активності розчинів і співвідношенню маси твердого матеріалу і об'єму розчинника, узятих для отримання розчинів, визначають біологічну активність твердих матеріалів.

Недоліком цього способу є обмеження використання біотесту тільки до твердих матеріалів, необхідність отримання рівноважних розчинів, тестування індивідуальних сполук і дотримання точного співвідношення маси твердого матеріалу і об'єму розчинника.

Найбільш близьким за технічною суттю до запропонованого способу є спосіб визначення токсичності ("ГОСТ 13496.7-97 Зерно фуражное, продукты его переработки, комбикорма. Методы определения токсичности"), згідно з яким токсичність біопроби визначають за допомогою інфузорій Stylonychia mytilus послідовно в три етапи. Попередньо готують середовища для проведення досліджень: середовище для культивування та поживне середовище для інфузорій. На першому етапі здійснюють екстракцію токсичних речовин із подрібненої зернової маси чи комбікорму за допомогою ацетону. На другому етапі здійснюють випарювання ацетону до повного випарювання екстрагента і додають середовище для культивування, змивають із стінок чашки маслянистий екстракт, здійснюють повторне випарювання до повного зникнення запаху розчинника, додають 1-2 $см^3$ екстракту, фільтрують у флакони і доводять pH до 7,0-7,5. На третьому етапі беруть 1 $см^3$ екстракту, додають 3-х або 5-ти добову культуру інфузорій і двічі через 30 та 60 хв. визначають ефект біопроби в краплині під мікроскопом шляхом підрахунку живих і загиблих інфузорій у відсотках, який залежить від ступеня токсичності проби зерна або корму.

Даний спосіб вибрано найближчим аналогом.

Найближчий аналог і корисна модель, що заявляється, мають такі спільні ознаки:

- як тест-організмів використовують культуру інфузорій;
- здійснюють попередню підготовку харчової сировини шляхом подрібнення;
- екстракцію токсичних речовин здійснюють ацетоном;
- здійснюють концентрування токсичних речовин шляхом випарювання розчинника;
- при необхідності регулюють pH досліджуваного розчину;

- введення інкубованих тест-організмів в розчин досліджуваної речовини;
- біологічну активність об'єкта оцінюють шляхом підрахунку кількості інфузорій.

Але спосіб за прототипом має наступні недоліки:

- використовують три етапи для визначення дії речовини, що подовжує термін виконання способу;
- наявність етапу з функціональним навантаженням, що призводить до повної загибелі тест-організмів вимагає додаткового часу, витрат реактивів, але не є достатньо показовим;
- використовується контрольне стандартне середовище для мікроорганізмів, яке має специфічну токсикогенну дію, що, з одного боку, вимагає додаткових умов безпеки для працюючих, а з іншого - воно достатньо специфічно діє на тест-організми і його дія може не збігатися з механізмом дії речовин, що досліджуються, що може призвести до похибки в результатах.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб біологічного визначення токсичних органічних речовин, в якому за рахунок використання добової культури інфузорій Stylonichia mytilus забезпечується отримання однозначного результату щодо ступеню токсичності органічних речовин та/або їх сумішей, прискорюється проведення тестування, воно також спрощується за рахунок того, що спосіб не вимагає використання спеціального складного обладнання.

Поставлена задача вирішена в способі біологічного визначення токсичних органічних речовин, що передбачає подрібнення сировини, екстракцію ацетоном, випарювання екстракту до сухого залишку, розчинення його для отримання розчину досліджуваної речовини, інкубацію тест-організмів інфузорій, введення їх в розчин досліджуваної речовини і підрахунок кількості тест-організмів у фіксованому об'ємі суміші, тим, що екстракцію здійснюють ацетоном при співвідношенні досліджуваного об'єкта і розчинника, рівному 1:(1,0-20,0) за необхідністю проводять нейтралізацію до 4,8-7,0, фільтрацію, випарений екстракт розчиняють у ацетоново-водній суміші при співвідношення (0,2-0,5):(9,8-9,5), після чого 0,01-0,02 $см^3$ добової культури інфузорій Stylonichia mytilus у водному розчині, в якому міститься від 10 до 20 особин, вносять в мікроакваріуми, додають 0,2 $см^3$ концентрату досліджуваної органічної речовини або суміші токсичних речовин, після адаптації тест-організмів підраховують початкову чисельність інфузорій, доводять об'єм суміші розчином досліджуваної речовини до половини мікроакваріумів і витримують 45-60 хвилин, після чого вдруге підраховують чисельність інфузорій і по кількості тест-організмів, що вижили, оцінюють ступінь токсичності досліджуваної органічної речовини.

У способі, що заявляється, використовується добова культура інфузорій Stylonichia mytilus, термін проведення біотестування значно скорочений. Виживаність інфузорій вираховують по формулі:

$$N = \left(N_2 / N_1 \right) \cdot 100$$, де:

N - виживаність, %

N_1 - середня арифметична кількість інфузорій на початку досліду (за результатами не менше 5-ти досліджень), шт.;

N_2 - середня арифметична кількість інфузорій через 1 год. експозиції (за результатами не менше 5-ти досліджень), шт.;

100 - коефіцієнт перерахунку у відсотки.

Ступінь токсичності органічних речовин, що можуть бути визначені запропонованим способом, залежить від їх сумарного вмісту, хімічної природи і належності до різних груп пестицидів (інсектициди, фунгіциди, гербіциди).

Запропонований спосіб дозволяє швидко виявити потенційно небезпечні об'єкти, які містять токсичні органічні речовини, що важливо при біологічному та екологічному моніторингу харчових систем.

Приклад 1.

Добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 $см^3$, в якій міститься від 10 до 20 особин вносили в мікроакваріуми, додавали 0,2 $см^3$ розчину досліджуваної речовини - інсектициду "Децис" (альфа-циперметрину) в ацетоново-водній суміші при співвідношенні ацетон:вода 0,2:9,8. Через 5 хв., після адаптації тест-організмів у розчині, здійснювали підрахунок початкової кількості інфузорій, через 45 хв. експозиції вдруге проводили підрахунок чисельності інфузорій. При наявності у розчині, що досліджується, "Децис" у кількості $5 \cdot 10^{-5}$ $мг/см^3$ із 58 залишилося інфузорій 57 особин, у кількості $1 \cdot 10^{-4}$ $мг/см^3$ із 64 залишилося 55 особин інфузорій, при кількості інсектициду $2 \cdot 10^{-4}$ $мг/см^3$ і більше в п'яти мікроакваріумах залишається 22 особини і менше - виявляється токсичний ефект.

Контроль: В п'ять акваріумів вносять добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3 в такій послідовності: в перший мікроакваріум 14 особин, в другий - 15, в третій - 13, четвертий - 15, п'ятий - 15, додавали 0,2 см^3 ацетоново-водного розчину. Через годину експозиції підраховують кількість живих інфузорій: 14+14+14+15+15=72.

$$N = \left(N_2 / N_1 \right) \cdot 100 \cdot$$

Результати впливу інсектициду "Децис" на Stylonichia mytilus наведені у таблиці 1.

Приклад 2.

Добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3, в якій міститься від 10 до 20 особин вносили в мікроакваріуми, додавали 0,2 см^3 розчину досліджуваної речовини - фунгіциду "Тілт" (пропіконазолу) в ацетоново-водній суміші при співвідношенні ацетон:вода 0,4:9,6. Через 5 хв., після адаптації тест-організмів у розчині, здійснювали підрахунок початкової кількості інфузорій, через 60 хв. експозиції вдруге проводили підрахунок чисельності інфузорій. Так, при наявності у розчині, що досліджується, "Тілт" у кількості $5 \cdot 10^{-5}$ мг/см^3 із 60 залишилося інфузорій 60 особин, у кількості $8 \cdot 10^{-5}$ мг/см^3 із 58 залишилося 56 особин інфузорій, у кількості $1 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 52 залишилося 41 особина інфузорій - виявлений слаботоксичний ефект, при кількості фунгіциду $2 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 і більше в п'яти мікроакваріумах залишається 25 особини і менше - виявляється токсичний ефект.

Контроль: В п'ять акваріумів вносять добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3 в такій послідовності: в перший мікроакваріум 13 особин, в другий - 14, в третій - 14, четвертий - 14, п'ятий - 15, додавали 0,2 см^3 ацетоново-водного розчину. Через годину експозиції підраховують кількість живих інфузорій: 13+14+15+14+14=70.

$$N = \left(N_2 / N_1 \right) \cdot 100 \cdot$$

Результати впливу фунгіциду "Тілт" на Stylonichia mytilus наведені у таблиці 2.

Приклад 3.

Добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3, в якій міститься від 10 до 20 особин вносили в мікроакваріуми, додавали 0,2 см^3 розчину досліджуваної речовини - інсектициду "Бульдог" (бета-цифлурину) в ацетоново-водній суміші при співвідношенні ацетон:вода 0,5:9,5. Через 5 хв., після адаптації тест-організмів у розчині, здійснювали підрахунок початкової кількості інфузорій, через 60 хв. експозиції вдруге проводили підрахунок чисельності інфузорій. Так, при наявності у розчині, що досліджується, "Бульдогу" у кількості $1 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 65 залишилося інфузорій 64 особини, у кількості $2 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 60 залишилося 52 особин інфузорій, при кількості інсектициду $4 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 66 залишилася 51 особина - слабо токсичний ефект, при кількості інсектициду $8 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 і більше в п'яти мікроакваріумах залишається 25 особини і менше - виявляється токсичний ефект.

Контроль: В п'ять акваріумів вносять добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3 в такій послідовності: в перший мікроакваріум 13 особин, в другий - 13, в третій - 14, четвертий - 13, п'ятий - 14, додавали 0,2 см^3 ацетоново-водного розчину. Через годину експозиції підраховують кількість живих інфузорій: 13+14+13+13+14=67.

$$N = \left(\frac{67/5}{67/5} \right) \cdot 100 = \left(\frac{13,4}{13,4} \right) \cdot 100 = 100,00 \cdot$$

Результати впливу інсектициду "Бульдог" на Stylonichia mytilus наведені у таблиці 3.

Приклад 4.

Наважку кабачків 1 г подрібнювали, здійснювали екстракцію 10 см^3 ацетону, який випарювали, до сухого залишку додавали 0,5 см^3 ацетону для його розчинення, потім додавали 9,5 см^3 води і використовували цей розчин для дослідження. Добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,01 см^3, в якій міститься від 10 до 20 особин вносили в мікроакваріуми, додавали 0,2 см^3 екстракту, отриманого із свіжих кабачків або модельної системи, що включала екстракт зразку свіжих кабачків та інсектицид "Бульдог" (бета-цифлурин) в ацетоново-водній суміші. Через 5 хв., після адаптації тест-організмів у розчині, здійснювали підрахунок початкової кількості інфузорій, через 60 хв. експозиції вдруге проводили підрахунок чисельності інфузорій. Зразки контролю та кабачків виявилися нетоксичними. При наявності у модельній системі "Бульдогу" у кількості $1 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 63 залишилося інфузорій 62 особини, у кількості $2 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 62 залишилося 54 особини інфузорій, при кількості інсектициду $4 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 64 залишилося 50 особин - слабо токсичний ефект, при кількості інсектициду $8 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 і більше в п'яти мікроакваріумах залишається 24 особини і менше - виявляється токсичний ефект.

Контроль: В п'ять акваріумів вносять добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3 в такій послідовності: в перший мікроакваріум 13 особин, в другий - 13, в третій - 14, четвертий - 12, п'ятий - 13, додавали 0,2 см^3 ацетоново-водного розчину. Через годину експозиції підраховують кількість живих інфузорій: 13+13+13+12+14=65.

$$N = \left(\frac{65/5}{65/5} \right) \cdot 100 = \left(\frac{13}{13} \right) \cdot 100 = 100{,}00 \cdot$$

Результати впливу інсектициду "Бульдог" на Stylonichia mytilus у зразках овочів наведені у таблиці 4.

Приклад 5.

Добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3, в якій міститься від 10 до 20 особин вносили в мікроакваріуми, додавали 0,2 см^3 розчину досліджуваної речовини - суміші фунгіциду "Тілт" (пропіконазолу) та інсектициду "Децис" (альфа-циперметрину) в ацетоново-водній суміші при співвідношенні ацетон:вода 0,5:9,5. Через 5 хв., після адаптації тест-організмів у розчині, здійснювали підрахунок початкової кількості інфузорій, через 60 хв. експозиції вдруге проводили підрахунок чисельності інфузорій. Так, при наявності у розчині, що досліджується, "Тілт" та "Децис" у кількості по $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ мг/см^3 із 65 залишилося 50 особин інфузорій, у суміші із вмістом по $5 \cdot 10^{-5}$ мг/см^3 із 62 залишилося інфузорій 50 особин, у суміші із вмістом по $1 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 63 залишилося 41 особина інфузорій, у кількості $2 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 65 залишилася 21 особина інфузорій виявлений токсичний ефект. Таким чином, наявність двох видів токсикантів призводить до підвищення порогу чутливості інфузорій Stylonichia mytilus.

Контроль: В п'ять акваріумів вносять добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3 в такій послідовності: в перший мікроакваріум 13 особин, в другий - 14, в третій - 13, четвертий - 14, п'ятий - 14, додавали 0,2 см^3 ацетоново-водного розчину. Через годину експозиції підраховують кількість живих інфузорій: 13+14+14+13+14=68.

$$N = \left(\frac{68/5}{68/5} \right) \cdot 100 = \left(\frac{13{,}6}{13{,}6} \right) \cdot 100 = 100{,}00 \cdot$$

Результати впливу фунгіциду "Тілт" та інсектициду "Децис" на Stylonichia mytilus наведені у таблиці 5.

Приклад 6.

Наважку яблук 1 г подрібнювали, отримували пюре, із якого здійснювали екстракцію 10 см^3 ацетону, який випарювали до сухого залишку, додавали 0,3 см^3 ацетону для його розчинення, потім додавали 9,5 см^3 води і здійснювали нейтралізацію 0,2 см^3 розчину $NaHCO_3$ до pH 5,1, далі використовували цей розчин для дослідження. Добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,01 см^3, в якій міститься від 10 до 20 особин вносили в мікроакваріуми, додавали 0,2 см^3 екстракту, отриманого із пюре яблук або модельної системи, що включала екстракт зразку яблучного пюре та інсектицид "Бульдог" (бета-цифлурин) в ацетоново-водній суміші. Через 5 хв., після адаптації тест-організмів у розчині, здійснювали підрахунок початкової кількості інфузорій, через 60 хв. експозиції вдруге проводили підрахунок чисельності інфузорій. Зразки контролю та яблук виявилися нетоксичними. При наявності у модельній системі "Бульдогу" у кількості $1 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 63 залишилося інфузорій 62 особини, у кількості $2 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 62 залишилося 54 особини інфузорій, при кількості інсектициду $4 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 із 64 залишилося 50 особин - слабо токсичний ефект, при кількості інсектициду $8 \cdot 10^{-4}$ мг/см^3 і більше в п'яти мікроакваріумах залишається 25 особин і менше - виявляється токсичний ефект.

Контроль: В п'ять акваріумів вносять добову культуру інфузорій Stylonichia mytilus у кількості 0,02 см^3 в такій послідовності: в перший мікроакваріум 15 особин, в другий - 14, в третій - 14, четвертий - 15, п'ятий - 13, додавали 0,2 см^3 ацетоново-водного розчину. Через годину експозиції підраховують кількість живих інфузорій: 15+13+14+15+14=71.

$$N = \left(\frac{71/5}{71/5} \right) \cdot 100 = \left(\frac{14{,}2}{14{,}2} \right) \cdot 100 = 100{,}00 \cdot$$

Результати впливу інсектициду "Бульдог" на Stylonichia mytilus у зразках пюре із плодів наведені у таблиці 6.

Таблиця 1

Вплив інсектициду "Децис" (альфа-циперметрину) на виживаність Stylonichia mytilus

Досліджувані зразки	Сумарна кількість Stylonichia mytilusim початку експозиції', особин	Сумарна кількість Stylonichia mytihts через 45 хв. експозиції, особин	Виживаність Stylonichia mytilus, %	Ступінь токсичності
Вода контроль	72	72	100,0	Не токсичний
0,5 ГДК	58	57	98,3	Не токсичний
1,0 ГДК	64	55	85,9	Не токсичний
2,0 ГДК	63	40	63,5	Слаботоксичний
3,0 ГДК	66	32	48,5	Слаботоксичний
4,0 ГДК	62	22	35,5	Токсичний
5,0 ГДК	68	14	20,6	Токсичний

Примітка: ГДК = 0,0001 мг/$см^3$.

Таблиця 2

Вплив фунгіциду "Тілт" (пропіконазолу) на виживаність Stylonichia mytilus

Досліджуванні зразки	Сумарна кількість Stylonichia mytilus на початку експозиції', особин	Сумарна кількість Stylonichia mytilus через 60 хв. експозиції, особин	Виживаність Stylonichia mytilus, %	Ступінь токсичності
Вода контроль	70	70	100,0	Не токсичний
0,5 ГДК	60	60	100,0	Не токсичний
0,8 ГДК	58	56	96,6	Не токсичний
1,0 ГДК	52	41	78,9	Слаботоксичний
2,0 ГДК	68	32	47,1	Слаботоксичний
3,0 ГДК	65	25	38,56	Токсичний
4,0 ГДК	64	20	31,2	Токсичний
5,0 ГДК	62	14	22,6	Токсичний

Примітка: ГДК = 0,0001 мг/$см^3$.

Таблиця 3

Вплив інсектициду "Бульдог" (бета-цифлурину) на виживаність Stylonichia mytihts

Досліджувані зразки	Сумарна кількість Stylonichia mytilus на початку експозиції, особин	Сумарна кількість Stylonichia mytilus через 1 год. експозиції, особин	Виживаність Stylonichia mytilus, %	Ступінь токсичності
Вода-контроль	67	67	100,0	Не токсичний
Модельний зразок 0,5 ГДК	65	64	98,5	Не токсичний
Модельний зразок 1 ГДК	60	52	86,7	Не токсичний
Модельний зразок 2 ГДК	66	51	77,3	Слаботоксичний
Модельний зразок 3 ГДК	61	36	58,1	Слаботоксичний
Модельний зразок 4 ГДК	65	25	38,5	Токсичний
Модельний зразок 5 ГДК	61	15	24,6	Токсичний
Модельний зразок 6 ГДК	59	7	11,9	Токсичний

Примітка: ГДК = 0,0002 мг/$см^3$.

Таблиця 4

Вплив інсектициду "Бульдог" (бета-цифлурину) на виживаність Stylonichia mytilus у зразках овочів

Досліджувані зразки	Сумарна кількість Stylonichia mytilus на початку експозиції, особин	Сумарна кількість Stylonichia mytilus через 1 год. експозиції, особин	Виживаність Stylonichia mytilus, %	Ступінь токсичності
1	2	3	4	5
Вода-контроль	65	65	100,0	Не токсичний
Зразок подрібнених свіжих кабачків	68	67	98,5	Не токсичний
Модельний зразок подрібнених свіжих кабачків та 0,5 ГДК "Бульдога»	635	62	98,4	Не токсичний
Модельний зразок подрібнених свіжих кабачків та 1 ГДК "Бульдога»	62	54	87,1	Не токсичний
Модельний зразок подрібнених свіжих кабачків та 2 ГДК "Бульдога»	64	50	78,1	Слаботоксичний
Модельний зразок подрібнених свіжих кабачків та 3 ГДК "Бульдога»	65	38	58,5	Слаботоксичний
Модельний зразок подрібнених свіжих кабачків та 4 ГДК	61	24	39,3	Токсичний
Модельний зразок подрібнених свіжих кабачків та 5 ГДК "Бульдога»	64	17	26,6	Токсичний
Модельний зразок подрібнених свіжих кабачків та 6 ГДК "Бульдога»	60	8	13,3	Токсичний

Примітка: ГДК = 0,0002 мг/см^3.

Таблиця 5

Вплив суміші фунгіциду "Тілт" (пропіконазолу) та інсектициду "Децис" (альфа-циперметрина) на виживаність Stylonichia mytilus

Досліджувані зразки	Сумарна кількість Stylonichia mytilus на початку експозиції, особин	Сумарна кількість Stylonichia mytilus через 1 год. експозиції, особин	Виживаність Stylonichia mytilus, %	Ступінь токсичності
1	2	3	4	5
Вода-контроль	68	68	100,0	Не токсичний
Модельний зразок по 0,25 ГДК	65	53	81,5	Не токсичний
Модельний зразок по 0,3 ГДК	62	50	80,6	Не токсичний
Модельний зразок по 0,4 ГДК	63	41	65,0	Слаботоксичний
Модельний зразок по 0,3 ГДК "Децис" та 0,5 ГДК "Тілт"	65	27	41,5	Слаботоксичний
Модельний зразок по 0,5 ГДК	64	25	39	Токсичний
Модельний зразок по 1 ГДК	62	22	35,5	Токсичний
Модельний зразок по 1,5 ГДК	66	21	31,8	Токсичний
Модельний зразок по 2 ГДК	63	19	30,2	Токсичний

Примітка: ГДК = 0,0001 мг/см^3.

Таблиця 6

Вплив фунгіциду "Бульдог" (бета-цифлуріна) на виживаність Stylonichia mytilus

Досліджувані зразки	Сумарна кількість Stylonichia mytilus на початку експозиції, особин	Сумарна кількість Stylonichia mytilus через 1 год. експозиції, особин	Виживаність Stylonichia mytilus, %	Ступінь токсичності
Вода-контроль	71	71	100,0	Не токсичний
Екстракт із яблучного пюре	70	69	98,6	Не токсичний
Модельний зразок екстракту із яблучного пюре з додаванням 0,5 ПДК Бульдога	68	66	97,1	Не токсичний
Модельний зразок екстракту із яблучного пюрез додаванням 1,0 ПДК Бульдога	66	57	86,4	Не токсичний
Модельний зразок екстракту із яблучного пюре з додаванням 2,0 ПДК Бульдога	69	53	76,8	Слаботоксичний
Модельний зразок екстракту із яблучного пюре з додаванням 3,0 ПДК Бульдога	67	37	55,2	Слаботоксичний
Модельний зразок екстракту із яблучного пюре з додаванням 4,0 ПДК Бульдога	68	25	36,8	Токсичний
Модельний зразок екстракту із яблучного пюре з додаванням 5,0 ПДК Бульдога	70	12	17,1	Токсичний
Модельний зразок екстракту із яблучного пюре з додаванням 6,0 ПДК Бульдога	69	3	4,3	Токсичний

Примітка: ГДК = 0,0002 мг/см^3.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб біологічного визначення токсичних органічних речовин, що передбачає підготовку харчової сировини шляхом подрібнення, екстракцію токсичних речовин ацетоном, концентрування шляхом випарювання розчинника, інкубацію тест-організмів інфузорій, введення їх в розчин досліджуваної речовини і підрахунок кількості тест-організмів у фіксованому об'ємі суміші, який **відрізняється** тим, що екстракцію здійснюють ацетоном при співвідношенні досліджуваного об'єкта і розчинника, рівному 1:(1,0-20,0) за необхідністю здійснюють нейтралізацію до 4,8-7,0, фільтрацію, випарений екстракт розчиняють у ацетоново-водній суміші при співвідношення (0,2-0,5):(9,5-9,8), після чого 0,01-0,02 $см^3$ добової культури інфузорій Stylonichia mytilus у водному розчині, в якому міститься від 10 до 20 особин, вносять в мікроакваріуми, додають 0,2 $см^3$ концентрату досліджуваної органічної речовини або суміші токсичних речовин, після адаптації тест-організмів підраховують початкову чисельність інфузорій, доводять об'єм суміші розчином досліджуваної речовини до половини мікроакваріумів і витримують 45-60 хвилин, після чого вдруге підраховують чисельність інфузорій і по кількості тест-організмів, що вижили, оцінюють ступінь токсичності досліджуваної органічної речовини.

Комп’ютерна верстка Л. Литвиненко

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