



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40159 (13) U  
(51) МПК (2009)  
G01N 33/02МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЯКОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

1

2

(21) u200812822

(22) 03.11.2008

(24) 25.03.2009

(46) 25.03.2009, Бюл. № 6, 2009 р.

(72) ПИЛИПЕНКО ЛЮДМИЛА МИКОЛАЇВНА, UA,  
ЄГОРОВА АНТОНІНА ВІКТОРІВНА, UA, СТАРО-  
ДУБ МИКОЛА ФЕДОРОВИЧ, UA, ПИЛИПЕНКО  
ІННА ВАСИЛІВНА, UA(73) ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАР-  
ЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, UA(57) Спосіб визначення якості харчових продуктів,  
що включає приготування контрольного зразка і

дослідної проби, введення певної кількості особин *Daphnia m. S.* у контрольний зразок і дослідну пробу та витримку їх в інкубаційних середовищах при 28°C, який відрізняється тим, що витримку *Daphnia m. S.* здійснюють протягом 2-х годин, після чого в контрольний зразок і дослідну пробу додають по 50мкл 0,2мМ розчину люмінолу і 1%-го розчину перексиду водню, реєструють інтенсивність хемілюмінесценції та роблять висновок про якість харчових продуктів за різницею значень хемілюмінесценції контрольного зразка і дослідної проби.

Корисна модель відноситься до харчової промисловості, зокрема до способу оцінювання якості харчових продуктів шляхом визначення наявності в них певних токсичних речовин.

Зараз відомо більш ніж 500 токсичних метаболітів, що продукуються більш ніж 250 видами токсичних грибів. Розвиток досліджень у галузі токсикології показав, що інтоксикація мікотоксинами є не тільки реальною, але й вкрай серйозною загрозою для здоров'я населення планети. Більш того, за масштабами небезпеки хронічні мікотоксикози значно перевищують усі відомі спалахи гострих форм отруєнь у Японії, Росії, Індії, Китаї та США з летальним результатом для багатьох тисяч людей. Серед мікотоксинів, які проявили себе у якості етіологічного чинника аліментарних токсикозів та виділяються своєю розповсюдженістю, особливе місце займає патулін.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб визначення якості води за допомогою тест-організму *Daphnia magna* Straus (*Daphnia m. S.*) - див. Міжнародний стандарт ISO 6341:1996 (E) Water quality - Determinations of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test. - 9p.

Відповідно до вказаного способу готують контрольний зразок і дослідну пробу, після чого додають певну кількість особин *Daphnia m. S.* у контрольний зразок і дослідну пробу і витримують їх в інкубаційних середовищах 24 години при температурі 28°C. Далі проводять візуальне спостережен-

ня та реєстрацію симптомів поведінки осіб *Daphnia m. S.* у контрольному зразку і дослідній пробі. Реєструють такі симптоми:

1) показники летального характеру (імобілізація, осідання на дно, судоми, смерть). Ефект проявляється за короткі строки (від 24 до 48 годин);

2) рефлекторно-поведінкові реакції - перехід від стрибкоподібних рухів до неупорядкованих, обертання навколо своєї осі, уповільнення помахів антен та серцевої діяльності, викид яєць та ембріонів, що розвиваються;

3) зміни пігментації тіла, депігментації великого і малого ока, що виявляється візуально чи під лупою;

4) припинення харчування (спостерігається під мікроскопом): кишечники пусті при наявності в культурі водоростей.

Даний спосіб обраний прототипом.

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

- приготування контрольного зразка;
- приготування дослідної проби;
- введення певної кількості особин *Daphnia m. S.* у контрольний зразок і дослідну пробу;
- витримка осіб в інкубаційних середовищах при 28°C.

Але описаний спосіб має низку суттєвих недоліків, зокрема:

- недостатня точність, пов'язана із суб'єктивним при визначенні досліджуваних показників;

(13) U

(11) 40159

(19) UA

- тривалість способу визначення - 24-48 годин;
- невисока чутливість способу.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити удосконалений спосіб визначення якості харчових продуктів, в якому, шляхом обробки контрольної проби, що містить певну кількість осіб *Daphnia m. S.* сумішшю люмінолу та пероксиду водню та наступної реєстрації інтенсивності хемілюмінесценції, забезпечити підвищення чутливості і точності способу, а також скорочення тривалості визначення якості харчових продуктів.

Поставлена задача вирішена в способі визначення якості харчових продуктів, що передбачає приготування контрольного зразка і дослідної проби, введення певної кількості осіб *Daphnia m. S.* у контрольний зразок і дослідну пробу та витримку їх в інкубаційних середовищах при 28°C, тим, що витримку *Daphnia m. S.* здійснюють протягом 2-х годин, після чого в контрольний зразок та дослідну пробу додають по 50мкл 0,2мМ розчину люмінолу і 1%-го розчину пероксиду водню, реєструють інтенсивність хемілюмінесценції та роблять висновок про якість харчових продуктів за різницею значень хемілюмінесценції контрольного зразка і дослідної проби.

Новизна способу, що заявляється, полягає в тому, що:

- *Daphnia m. S.* витримують в інкубаційному середовищі протягом 2-х годин;
- в контрольний зразок і дослідну пробу, що містять певну кількість осіб *Daphnia m. S.*, вводять задану кількість розчину люмінолу і пероксиду водню;
- після введення вказаних хімічних реагентів реєструють інтенсивність хемілюмінесценції;
- за різницею значень хемілюмінесценції контрольного зразка і дослідної проби роблять висновок про якість харчових продуктів.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Готують дослідну пробу шляхом гомогенізації певного харчового продукту з наступним центрифугуванням протягом 10хв. при 10000об/хв. з подальшим приготуванням водного екстракту при гідромодулі 1:4. В якості контрольного зразка беруть воду. Далі відбирають *Daphnia m. S.* віком не більше 24 годин (ювеніси), вміщують по 5 осіб у пробірки з досліджуваною пробою та контрольним зразком і витримують в них протягом 2-х годин при 28°C. Далі відбирають по 500мкл інкубаційного середовища контрольного зразка і дослідної проби і додають до кожного з них по 50мкл 0,2мМ розчину люмінолу та 1%-го розчину пероксиду водню і визначають величину інтенсивності хемілюмінесценції за допомогою хемілюмінометру ХМЛ-3. Якість харчового продукту визначають по величині зміни інтенсивності хемілюмінесценції, порівнюючи величину  $I_k$  контрольного зразка та  $I$  дослідної проби.

Приклад 1. Приготували дослідну пробу і контрольний зразок, як наведено вище. В якості дослідного продукту використовували картоплю. Картоплю подрібнювали на лабораторному гомогенізаторі до розміру часток 0,3-1,0мм. До 100г зразку додавали 400см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O (співвідношення 1:4), ретельно перемішували та фільтрували че-

рез паперовий складчастий фільтр. Фільтрат і контрольний зразок поміщали в окремі пробірки. В кожну пробірку поміщали по 5 осіб дафній (*Daphnia m. S.*).

Обидві пробірки поміщали в термостат при t=28°C на 2 години. Далі з кожної пробірки відбирали по 500мкл середовища, додавали 50мкл 0,2мМ розчину люмінолу та 50мкл 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> та реєстрували інтенсивність хемілюмінесценції.

Дані наведені в Таблиці 1.

Приклад 2. Проводили визначення якості харчового продукту аналогічно тому, як наведено в Прикладі 1, в якості дослідного продукту використовували екстракт полуниці.

Дані наведені в Таблиці 1. Як видно з наведених даних, рівень хемілюмінесценції середовища існування дафній коливається в межах 1700±48квант/с. При додаванні екстракту полуниці він дещо збільшується, досягаючи 1950±61, а при додаванні екстракту картоплі - 1870±49квант/с. Підвищення рівня хемілюмінесценції, очевидно, пов'язане з наявністю в ньому або токсичних речовин, що стимулюють виділення екзометаболітів у середовище, або речовин, що подразнюють організм дафній та сприяють виділенню екзометаболітів у середовище їх існування.

Приклад 3. Приготували дослідну пробу, як наведено вище. В якості дослідного продукту використовували картоплю. Картоплю подрібнювали на лабораторному гомогенізаторі до розміру часток 0,3-1,0мм. До 100г зразку додавали 400см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O (співвідношення 1:4), ретельно перемішували та фільтрували через паперовий складчастий фільтр. У 5 пробірок поміщали фільтрат та додавали патулін у кількостях, щоб кінцева його концентрація у пробірках була 0,001; 0,01; 0,1; 1,0 та 10,0мг/дм<sup>3</sup> відповідно. По 10см<sup>3</sup> середовища із 5-ти пробірок переносили у наступний ряд пробірок та в кожну з них поміщали по 5 осіб дафній.

Поміщали пробірки з дафніями у термостат при t=28°C на 2год. Потім з кожної пробірки відбирали по 500мкл середовища, додавали 50мкл 0,2мМ розчину люмінолу та 50мкл 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> та реєстрували інтенсивність хемілюмінесценції.

Дані наведені в Таблиці 2.

Приклад 4. Проводили визначення якості харчового продукту аналогічно тому, як наведено в Прикладі 3. В якості дослідного продукту використовували екстракт полуниці.

Дані наведені в Таблиці 2.

Як видно з даних, наведених у Таблиці 2, при додаванні до середовищ існування дафній розчинів патуліну спостерігається підвищення інтенсивності хемілюмінесценції. Але при концентрації патуліну 1,0мг/дм<sup>3</sup> цей показник знижується. Це пояснюється стимуляцією продукування екзометаболітів *Daphnia magna* Straus. При подальшому підвищенні концентрації патуліну інтенсивність хемілюмінесценції знижується у зв'язку з загибеллю тест-культури *Daphnia magna* Straus.

У зразках з екстрактами картоплі та полуниці при додаванні до середовища існування дафній екстрактів, що містять патулін, інтенсивність хемілюмінесценції змінюється аналогічно, але характер цих змін значно більш виражений, що пов'язано

но з комбінованою токсичністю як патуліну, так і самих екстрактів.

Таким чином, на підставі одержаних даних можна зробити наступні висновки:

1) збільшення інтенсивності хемілюмінесценції дослідної проби до ~15% в порівнянні з контрольним зразком пов'язано з властивістю конкретного харчового продукту;

2) збільшення інтенсивності хемілюмінесценції

дослідної проби до ~20-25% свідчить про наявність в продукті слідових кількостей (в межах дозволених концентрацій) токсичних речовин;

3) збільшення інтенсивності хемілюмінесценції дослідної проби на  $\geq 50\%$  в порівнянні з контрольним зразком свідчить про наявність в харчовому продукті токсичних речовин.

Таблиця 1

Рівень хемілюмінесценції досліджуваних зразків

| Вид зразка                            | Інтенсивність хемілюмінесценції (квант/с) |
|---------------------------------------|-------------------------------------------|
| Водне середовище - контрольний зразок | 1700 $\pm$ 48                             |
| Екстракт картоплі - Приклад 1         | 1870 $\pm$ 49                             |
| Екстракт полуниці - Приклад 2         | 1950 $\pm$ 61                             |

Таблиця 2

Інтенсивність хемілюмінесценції досліджуваних зразків у присутності патуліну, квант/с

| Вид зразка                    | Концентрація патуліну, мг/дм <sup>3</sup> |      |      |      |              |
|-------------------------------|-------------------------------------------|------|------|------|--------------|
|                               | 0,001                                     | 0,01 | 0,1  | 1,0  | 10           |
| Екстракт картоплі - Приклад 3 | 2010                                      | 3075 | 3380 | 2850 | Не визначено |
| Екстракт полуниці - Приклад 4 | 2150                                      | 3260 | 3610 | 2280 | Не визначено |