



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122392** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/02** (2006.01)  
**C12Q 1/02** (2006.01)  
**C12R 1/90** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2017 05486</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>02.06.2017</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.01.2018</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.01.2018, Бюл.№ 1</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Салата Володимир Зеновійович (UA), Хімич Марія Сергіївна (UA), Ковбасенко Володимир Мусійович (UA), Тарасенко Людмила Олексійовна (UA), Савченко Валентина Іванівна (UA), Розум Євген Юрійович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010 (UA)</b></p>
---	--

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОКСИМЕТИЛФУРФУРОЛУ У МЕДІ**

**(57) Реферат:**

Спосіб визначення гідроксиметилфурфуролу у меді включає підготовку тест-культури інфузорій *Colpoda steinii*, відбір проб досліджуваного продукту, підготовку проби та внесення в тест-культуру інфузорій, термостатування одержаної суміші при температурі +26...+28 °С і визначення вмісту токсичної речовини у продукті, спостерігаючи за життєдіяльністю інфузорій під час термостатування. Відібрану пробу меду розбавляють дистильованою гарячою водою (+70...+80 °С) у співвідношенні 1:2, охолоджують отриманий розчин до кімнатної температури, фільтрують, вносять 1 см<sup>3</sup> фільтрату у флакони із культурою інфузорій *Colpoda steinii* і поміщають у термостат. Виймають через 10 хв. і під мікроскопом оцінюють кількість живих та загиблених інфузорій. Якщо зниження активності та загибель інфузорій становить 60 % і більше, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу перевищує 25 мг/кг меду; якщо зниження активності та загибель інфузорій становить менше 60 %, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу не перевищує 25 мг/кг меду.

UA 122392 U



Корисна модель належить до ветеринарної медицини, зокрема до ветеринарно-санітарної експертизи, а саме до способів визначення гідроксиметилфурфуролу у меді, і може бути застосована у державних лабораторіях ветеринарної медицини для визначення якості та безпечності меду, що надходить на реалізацію.

5 Бджолиний мед - відомий як цінний харчовий і лікувально-профілактичний продукт. Він містить легко засвоювані цукри, всі зольні елементи, відповідно до наявності їх у ґрунтах, ферменти, вітаміни, ароматичні й азотисті та інші сполуки. Проте, дієтична та лікувальна дія меду залежить від його якості. Тому, до показників якості меду ставляться особливі вимоги, які повинні гарантувати споживачам натуральність меду та збереження в ньому біологічно активних речовини. Основним об'єктивним критерієм якості меду вважається вміст

10 гідроксиметилфурфуролу (ГМФ). Відповідно до вітчизняних вимог в меді допускається до 25 мг/кг ГМФ.

Відомі способи (Устройство и способ определения токсичности жидких сред, патент WO № 2013081496 A1; Способ контроля качества меда, патент RU № 2477469; Спосіб визначення флувалінату в меді, патент України № 55953; Спосіб кількісного визначення неорганічних елементів у меді та імаго бджіл за допомогою рентген-флуоресцентного аналізу, патент України № 72574) включають використання складних лабораторних методів визначення ксенобіотиків у меді, зокрема електронно-адсорбційної спектроскопії, рентген-флуоресцентного аналізу, тонкошарової хроматографії, спеціальних чутливих сенсорів.

20 Недоліками відомих способів є те, що вони вимагають наявності у лабораторіях відповідного дороговартісного обладнання, окрім того відомі способи не передбачають визначення у меді гідроксиметилфурфуролу.

Відомий спосіб визначення гідроксиметилфурфуролу (ГОСТ Р 52834-2007 "Мед натуральний. Методы определения гидроксиметилфурфурала") включає застосування вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), спектрофотометрії, фотоколметрії та інших.

До недоліків відомого способу відносять складність використання.

Найближчим аналогом до способу, що заявляється, є спосіб визначення токсичності харчових продуктів (патент України № 35469), який включає підготовку тест-культури інфузорій *Colpoda steinii*, відбір проб досліджуваного продукту, екстрагування проби, фільтрування відібраного екстракту, внесення фільтрату в тест-культуру інфузорій, термостатування одержаної суміші при температурі +26...+28 °С і визначення токсичності досліджуваного продукту спостерігаючи за життєдіяльністю інфузорій під час термостатування, у якому, згідно з корисною моделлю, екстрагування проби проводять хімічно чистим ацетоном, який беруть у кількості 15-20 см<sup>3</sup>, а перед внесенням в тест-культуру інфузорій фільтрат розбавляють розчином Лозина-Лозинського, який беруть у кількості 10 см<sup>3</sup> на 0,5 см<sup>3</sup> фільтрату.

35 Заявлений спосіб і прототип мають спільні суттєві ознаки, а саме: включає підготовку тест-культури інфузорій *Colpoda steinii*, відбір проб досліджуваного продукту, підготовку проби та внесення в тест-культуру інфузорій, термостатування одержаної суміші при температурі +26...+28 °С і визначення вмісту токсичної речовини у продукті, спостерігаючи за життєдіяльністю інфузорій під час термостатування.

Недоліками прототипу є те, що відповідний спосіб підготовки зразка досліджуваного продукту, зокрема меду, не підходить для визначення у ньому гідроксиметилфурфуролу.

45 Заявлений спосіб усуває недоліки найближчого аналога і дозволяє визначати наявність гідроксиметилфурфуролу у меді з використанням тест-культури інфузорій за відповідної попередньої підготовки дослідного зразка.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити новий, ефективний, простий у використанні спосіб визначення гідроксиметилфурфуролу у меді.

50 Поставлена задача вирішується тим, що відібрану пробу меду розбавляють дистильованою гарячою водою (+70...+80 °С) у співвідношенні 1:2, охолоджують отриманий розчин до кімнатної температури, фільтрують, вносять 1 см<sup>3</sup> фільтрату у флакони із культурою інфузорій *Colpoda steinii* і поміщають у термостат, виймають через 10 хв. і під мікроскопом оцінюють кількість живих та загиблих інфузорій, при цьому: якщо зниження активності та загибель інфузорій становить 60 % і більше, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу перевищує 25 мг/кг меду; якщо зниження активності та загибель інфузорій становить менше 60 %, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу не перевищує 25 мг/кг меду.

55 Гідроксиметилфурфурол - це продукт хімічного руйнування цукрів, що утворюється при тривалому зберіганні або в результаті високотемпературної обробки харчових продуктів.

60 Так, у перші місяці зберігання меду утворений гідроксиметилфурфурол руйнується ферментами до нетоксичних речовин. При тривалому зберіганні активність ферментів різко знижується, і гідроксиметилфурфурол накопичується в значних кількостях. У свіжовикачаному

меді вміст гідроксиметилфурфуролу становить 1-5 мг/кг продукту, а після декількох років зберігання його кількість може досягати 150-200 мг/кг.

Нагрівання меду при температурі не вище 50 °С навіть протягом 12 годин призводить до незначного руйнування цукрів і утворення гідроксиметилфурфуролу. Проте, за короткочасного впливу температур понад 60 °С вміст гідроксиметилфурфуролу різко збільшується, що служить індикатором порушення технологічного процесу.

Наявність гідроксиметилфурфуролу в меді понад 25 мг/кг небажана, оскільки великі дози, які надходять в організм, можуть викликати судоми, паралічі, а малі дози пригнічувати нервову систему. Він також накопичується в печінці, що призводить до порушень обмінних процесів.

Таким чином, вміст гідроксиметилфурфуролу визначають для того, щоб встановити як безпечність продукту, так і порушення технологічного режиму (температури і часу витримки) при переробці, фасуванні і зберіганні меду, виявити фальсифікацію.

Технічний результат способу обумовлений тим, що як розчинник використовується гаряча (+70...+80 °С) дистильована вода, яка здатна максимально розчинити наявний у меді гідроксиметилфурфурол. Розчинювальна здатність води зумовлена будовою її молекул. Молекули води характеризуються сталим дипольним моментом: в процесі розчинення молекули води взаємодіють з іншими молекулами та іонами. Велике значення має здатність води утворювати водневий зв'язок з іншими сполуками, якщо в їхньому складі є атоми з електронегативністю (кисень, азот, сірка тощо).

Біотестування на інфузоріях, на відміну від хімічних та фізико-хімічних методів аналізу, дозволяє прогнозувати вплив досліджуваного об'єкта на живі організми. Такий метод характеризується високою чутливістю, експресністю, надійністю, універсальністю і невеликою собівартістю. Він простий у виконанні, а його результати легко інтерпретувати.

Отже, заявлений спосіб ґрунтується на використанні гарячої дистильованої води, як розчинник наважки меду, та біопробі отриманого розчину з культурою інфузорій *Colpoda steinii*.

При проведенні патентно-інформаційного пошуку заявником виявлено технічні рішення (Спосіб визначення токсичності харчових продуктів, патент України № 35469), які містять суттєві ознаки, спільні із заявленим способом, а саме: включає підготовку тест-культури інфузорій *Colpoda steinii*, відбір проб досліджуваного продукту, підготовку проби та внесення в тест-культуру інфузорій, термостатування одержаної суміші при температурі +26...+28 °С і визначення вмісту токсичної речовини у продукті спостерігаючи за життєдіяльністю інфузорій під час термостатування.

Однак, наявність зазначених, спільних із прототипом ознак недостатня для отримання технічного результату, який забезпечує заявлений спосіб. Технічних рішень, які за сукупністю ознак повністю співпадають із заявленим способом, не виявлено.

У патентній і науково-теоретичній інформації не знайдено технічних рішень, які б містили ознаки, що відрізняють заявлений спосіб від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату тим, що відібрану пробу меду розбавляють дистильованою гарячою водою (+70...+80 °С) у співвідношенні 1:2, охолоджують отриманий розчин до кімнатної температури, фільтрують, вносять 1 см<sup>3</sup> фільтрату у флакони із культурою інфузорій *Colpoda steinii* і поміщають у термостат, виймають через 10 хв. і під мікроскопом оцінюють кількість живих та загинувших інфузорій, при цьому: якщо зниження активності та загибель інфузорій становить 60 % і більше, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу перевищує 25 мг/кг меду; якщо зниження активності та загибель інфузорій становить менше 60 %, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу не перевищує 25 мг/кг меду.

Заявлений спосіб стосується ветеринарної медицини, зокрема до ветеринарно-санітарної експертизи, а саме до способів визначення токсичності меду, і може бути застосований у державних лабораторіях ветеринарної медицини для визначення якості та безпечності меду, що надходить на реалізацію Повністю відповідає критерію корисної моделі - "Промислова придатність".

Реалізацію заявленого способу здійснюють наступним чином:

Для визначення токсичності меду готується тест-культура інфузорій *Colpoda steinii*, для чого до флакону з сухою культурою додається 2 см<sup>3</sup> поживного середовища і поміщається в термостат на 24 години при температурі 28 °С. Відбирають пробу меду вагою 20 г і поміщають у конічну колбу ємкістю 100 см<sup>3</sup>. Додають гарячу дистильовану воду, нагріту до температури +70...+80 °С, у кількості 40 см<sup>3</sup> та перемішують мед до отримання розчину та охолоджують до кімнатної температури. У флакони з розчиною у воді інфузорією *Colpoda steinii* вносять по 1 см<sup>3</sup> фільтрованого розчину меду з водою. Контролем служить чиста культура інфузорій. Флакони ставлять у термостат при температурі 26-28 °С. Через 10 хвилин флакони виймають з термостату і визначають рухливість інфузорій в обох флаконах методом мікроскопії у "висячій"

або "роздавлених" краплі (збільшення 80-120), враховуючи кількість живих і загиблих інфузорій. Про вміст гідроксиметилфурфуролу роблять висновок за життєдіяльністю інфузорій, якщо протягом 10 хвилин загибель інфузорій перевищує 60 % і більше, вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу перевищує 25 мг/кг меду, якщо менше 60 % - то вміст його в меді становить до 25 мг/кг, що відповідає вимогам якісного меду першого сорту.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10 Спосіб визначення гідроксиметилфурфуролу у меді, що включає підготовку тест-культури інфузорій *Colpoda steinii*, відбір проб досліджуваного продукту, підготовку проби та внесення в тест-культуру інфузорій, термостатування одержаної суміші при температурі +26...+28 °С і визначення вмісту токсичної речовини у продукті, спостерігаючи за життєдіяльністю інфузорій під час термостатування, який **відрізняється** тим, що відібрану пробу меду розбавляють дистильованою гарячою водою (+70...+80 °С) у співвідношенні 1:2, охолоджують отриманий розчин до кімнатної температури, фільтрують, вносять 1 см<sup>3</sup> фільтрату у флакони із культурою інфузорій *Colpoda steinii* і поміщають у термостат, виймають через 10 хв. і під мікроскопом оцінюють кількість живих та загиблих інфузорій, при цьому, якщо зниження активності та загибель інфузорій становить 60 % і більше, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу перевищує 25 мг/кг меду; якщо зниження активності та загибель інфузорій становить менше 20 60 %, то вважають, що вміст гідроксиметилфурфуролу не перевищує 25 мг/кг меду.

---

Комп'ютерна верстка О. Рябко

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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