

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 159472

**СПОСІБ ФАРБУВАННЯ ПІЛКОВИХ ЗЕРЕН РОЗЧИНОМ
МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі України корисних моделей
04.06.2025.

В.о. директора
Державної організації «Український
національний офіс інтелектуальної
власності та інновацій»

І.В. Паренчук



(19) UA

(51) МПК

G01N 21/29 (2006.01)

A23L 21/20 (2016.01)

(21) Номер заявки: u 2024 03016

(22) Дата подання заявки: 07.06.2024

(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 05.06.2025

(46) Дата публікації відомостей про державну реєстрацію та номер Бюлетеня: 04.06.2025, Бюл. № 23

(72) Винахідники:

Скрипка Галина Андріївна, UA,

Родіонова Катерина

Олександрівна, UA,

Хіміч Марія Сергіївна, UA,

Найдіч Ольга

Володимирівна, UA,

Тімченко Оксана Василівна, UA

(73) Володілець:

ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,вул. Канатна, 99, м. Одеса,
65039, UA

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ФАРБУВАННЯ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН РОЗЧИНОМ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб фарбування пилкових зерен розчином метиленового синього, що включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якого додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, його центрифугування для отримання осаду, приготування розчину для фарбування і проведення ідентифікації пилкових зерен під мікроскопом за збільшення 40х, який відрізняється тим, що як розчин для фарбування використовують водний розчин метиленового синього, а пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **159472** (13) **U**
(51) МПК
G01N 21/29 (2006.01)
A23L 21/20 (2016.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2024 03016	(72) Винахідник(и): Скрипка Галина Андріївна (UA), Родіонова Катерина Олександрівна (UA), Хіміч Марія Сергіївна (UA), Найдіч Ольга Володимирівна (UA), Тімченко Оксана Василівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 07.06.2024	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 05.06.2025	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 04.06.2025, Бюл.№ 23	(73) Володілець (володільці): ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Канатна, 99, м. Одеса, 65039 (UA)

(54) СПОСІБ ФАРБУВАННЯ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН РОЗЧИНОМ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО

(57) Реферат:

Спосіб фарбування пилкових зерен розчином метиленового синього включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якого додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, його центрифугування для отримання осаду, приготування розчину для фарбування і проведення ідентифікації пилкових зерен під мікроскопом за збільшення 40х. Як розчин для фарбування використовують водний розчин метиленового синього. Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.

UA 159472 U

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема стосується ветеринарно-санітарного інспектування, і може бути використана у лабораторіях Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів при контролюванні натуральності меду.

5 Серед апіпродуктів особливим попитом користується мед як цінний харчовий, дієтичний та лікувальний засіб. Але цей продукт може бути підданий фальсифікації, тому він потребує ретельної ветеринарно-санітарної оцінки за різними показниками.

Пилковий аналіз меду є одним з основних методів інспектування меду щодо фальсифікування, а також є інструментом для визначення типу меду, його географічного походження і ботанічного складу рослин, з яких бджоли збирали пилок та нектар. Також проведення меліссопалінологічного аналізу сприяє збору даних щодо флори певного району, що є ланкою керованого бджолозапилення.

Найближчими аналогом корисної моделі є патент № 151290 "Спосіб фарбування пилкових зерен розчином фуксину".

15 У способі за найближчим аналогом із насиченого спиртового розчину фуксину (основний розчин) готують робочий розчин № 1. Для цього беруть 1 частину (1 мл) основного розчину і додають 9 мл дистильованої води. З робочого розчину № 1 готують робочий розчин № 2: беруть 0,1 мл робочого розчину № 1 та додають 9 мл дистильованої води.

20 У хімічному стакані зважують $10 \pm 0,01$ г меду, додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, поміщають розчин на водяну баню за температури 45 °С і нагрівають до повного розчинення меду. Далі розчин меду переливають у центрифугальні пробірки та центрифугують зі швидкістю від 2500 об./хв до 3000 об./хв впродовж 15 хв. З кожної пробірки зливають верхній шар, до осаду додають по 2 см³ дистильованої води, перемішують та виливають всі розчини в одну пробірку. Центрифугують як зазначено вище. Розчин зливають, із осаду беруть краплю, переносять на предметне скло. Після незначного підсихання фіксують її вміст 0,1 мл краплею робочого розчину фуксину № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Через 1 хв залишок розчину фуксину зливають. Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури. Потім накладають покривне скло та розглядають під мікроскопом за збільшення 40х.

30 Заявлений спосіб та найближчий аналог мають спільні суттєві ознаки, а саме: приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якого додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, його центрифугування для отримання осаду, приготування розчину для фарбування і проведення ідентифікації пилкових зерен під мікроскопом за збільшення 40х.

35 Але є ряд недоліків: не завжди є можливість приготувати розчин фуксину основного кристалічного, з якого готуються подальші розведення фарбника. Для готування розчину фуксину основного кристалічного використовується термостат для витримки цього фарбника перед дослідженням, що має певні незручності у разі відсутності цього обладнання. Як розчинник фуксину основного кристалічного використовується етиловий спирт, що призводить до підвищення собівартості аналізу. У способі через 1 хв залишок розчину фуксину зливають, внаслідок чого відбувається втрата певної кількості пилкових зерен, які знаходяться на предметному склі. Це призводить до недостовірності аналізу. Також у способі пропонується використовувати покривне скло. Це може призвести до утворення пухирчиків повітря, що утруднює підрахунок та ідентифікацію видового складу пилкових зерен. Слід зазначити, що за фарбування фуксином пилкові зерна не завжди повністю та рівномірно профарбовуються.

45 Суттєвим недоліком є і те, що фуксин основний для мікроскопії є лабораторною хімічною речовиною, що має ряд властивостей, які стосуються здоров'я людини та екологічної безпеки навколишнього середовища. Згідно з Наказом № 1054 від 20.06.2022 "Про затвердження Гігієнічного нормативу "Перелік речовин, продуктів, виробничих процесів, побутових та природних факторів, канцерогенних для людини" виробництво фуксину належить до виробничих процесів, які мають доведену канцерогенність для людини. Згідно з Наказом № 1054 найбільш вірогідні органи, в яких можуть виникати пухлини через цей процес - сечовий міхур. Також відомо, що фуксин є аніліновим барвником, сировиною для виготовлення якого є анілін, сполука, що входить згідно з Наказом № 1054 до Переліку речовин, продуктів, виробничих процесів, побутових та природних факторів з високою імовірністю канцерогенності для людини (група 2А).

55 На відміну від фуксину основного метиленовий синій для мікроскопії має ряд переваг.

Метиленовий синій - це органічний основний тіазиновий барвник, який широко використовується у промисловості для фарбування тканин, в аналітичній хімії - у певних реакціях, у медицині - як антисептик. Метиленовий синій належить до переліку життєво

важливих препаратів для лікування. У мікроскопії метиленовий синій широко використовується як барвник. Ця речовина не є шкідливою для людини.

Отже, якщо порівняти фуксин основний та метиленовий синій, то останній використовувати більш доцільно.

Корисна модель усуває недоліки наведеного найближчого аналога. За його використання пилкові зерна фарбуються рівномірно в зелений або синій колір (залежно від виду пилку), оболонка зерна (екзина та інтина) чітко забарвлюється у відтінок від зеленого до синього. Поле навколо зерен майже не забарбовується та набуває блідо-блакитного кольору, що не заважає візуалізації пилку та інших мікроскопічних включень у меді (паді, водоростей та ін.). Інтенсивне зелене/синє забарвлення за способом оболонки пилкового зерна (екзини та інтини) дозволяє ідентифікувати їх видовий склад. Також за цього методу інтенсивно візуалізуються апертури, які знаходяться в екзині пилкового зерна, що дозволяє провести видову ідентифікацію пилку.

В основу корисної моделі поставлена задача створити новий, ефективний, економічний та безпечний спосіб, що полегшує ідентифікацію пилкових зерен та їх видову належність. Це підвищує ефективність способу та розширює область його застосування.

Спосіб передбачає роботу з нетоксичним для людини барвником. Для приготування фарби не використовується етиловий спирт. Метиленовий синій має нижчу вартість у порівнянні з основним фуксином, що знижує собівартість.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі фарбування пилкових зерен розчином метиленового синього, який включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якого додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, його центрифугування для отримання осаду, приготування розчину для фарбування і проведення ідентифікації пилкових зерен під мікроскопом за збільшення 40х, згідно з корисною моделлю, як розчин для фарбування використовують водний розчин метиленового синього, а пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.

Спосіб виконують таким чином:

Перед дослідженням готують 1 % водний розчин метиленового синього. 1 г метиленового синього вносять в мірну колбу ємністю 100 см³ і доводять дистильованою водою до мітки (2 % метиленовий синій, основний розчин).

Із основного розчину готують робочий розчин № 1. Для цього беруть 1 частину (1 мл) основного розчину і додають 9 мл дистильованої води. Із робочого розчину № 1 готують робочий розчин № 2: беруть 0,1 мл робочого розчину № 1 та додають 9 мл дистильованої води.

У хімічному стакані зважують $10 \pm 0,01$ г меду, додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, поміщують розчин на водяну баню за температури 45 °С і нагрівають до повного розчинення меду. Далі розчин меду переливають у центрифугальні пробірки та центрифугують зі швидкістю від 2500 об./хв до 3000 об./хв впродовж 15 хв. З кожної пробірки зливають верхній шар, до осаду додають по 2 см³ дистильованої води, перемішують та виливають всі розчини в одну пробірку. Центрифугують як зазначено вище. Розчин зливають, із осаду беруть краплю, переносять на предметне скло. Після повного підсихання фіксують її вміст 0,1 мл краплею робочого розчину метиленового синього № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури. Предметне скло розглядають під мікроскопом за збільшення 40х.

Приклад 1 (гречаний мед). Після приготування краплю осаду з гречаним пилком наносять на предметне скло. Після незначного підсихання фіксують її вміст 0,1 мл краплею робочого розчину метиленового синього № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Залишок розчину метиленового синього не зливають. Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури. Розглядають предметне скло під мікроскопом за збільшення 40х.

Приклад 2 (липовий мед). Після приготування краплю осаду з липовим пилком наносять на предметне скло. Після незначного підсихання фіксують її вміст 0,1 мл краплею робочого розчину метиленового синього № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Залишок розчину метиленового синього не зливають. Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури. Розглядають предметне скло під мікроскопом за збільшення 40х.

Приклад 3 (акацієвий мед). Після приготування краплю осаду з акацієвим пилком наносять на предметне скло. Після незначного підсихання фіксують її вміст 0,1 мл краплею робочого розчину метиленового синього № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Залишок розчину метиленового синього не зливають. Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури. Розглядають предметне скло під мікроскопом за збільшення 40х.

Приклад 4 (мед різнотрав'я). Після приготування краплю осаду з пилком різнотрав'я наносять на предметне скло. Після незначного підсихання фіксують її вміст 0,1 мл краплею робочого розчину метиленового синього № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Залишок розчину метиленового синього не зливають. Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури. Розглядають предметне скло під мікроскопом за збільшення 40х.

Результати ефективності способу представлені у Таблиці.

З матеріалів Таблиці видно, що при використанні способу оболонка пилкового зерна (екзина та інтина) фарбується у зелений або синій кольори, зерна у зелений або синій кольори, а поле навколо зерен майже не зафарбовується або набуває блідо-блакитного кольору. Інтенсивне зелене та синє забарвлення за способом оболонки пилкового зерна (екзина та інтина) та виразне забарвлення апертур дозволяє ідентифікувати їх видовий склад.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що спосіб фарбування пилкових зерен розчином метиленового синього відповідає сучасним вимогам проведення ідентифікації харчових продуктів рослинного походження, є ефективним, технологічно прийнятним, економічним, безпечним для оператора, швидким та простим при застосуванні.

Таблиця

Показник, що аналізується	Найближчий аналог	Приклади			
		1	2	3	4
Інтенсивність кольору оболонки зерна (екзина та інтина)	яскраво рожевий	Зелений/синій			
Інтенсивність кольору пилкового зерна	рожевий	Зелений/синій			
Інтенсивність кольору поля навколо зерен	блідо-рожевий	майже безбарвний/блідо-блакитний			

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб фарбування пилкових зерен розчином метиленового синього, що включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якого додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, його центрифугування для отримання осаду, приготування розчину для фарбування і проведення ідентифікації пилкових зерен під мікроскопом за збільшення 40х, який відрізняється тим, що як розчин для фарбування використовують водний розчин метиленового синього, а пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.