

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 159525

СПОСІБ ФАРБУВАННЯ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН РОЗЧИНОМ
САФРАНИНУ

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

Зареєстровано в Державному реєстрі України корисних моделей
11.06.2025.

Директор
Державної організації «Український
національний офіс інтелектуальної
власності та інновацій»

О.П. Орлюк



(19) UA

(51) МПК

G01N 21/29 (2006.01)

G02F 1/23 (2006.01)

A23L 21/20 (2016.01)

(21) Номер заявки: u 2024 03015

(22) Дата подання заявки: 07.06.2024

(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 12.06.2025

(46) Дата публікації відомостей про державну реєстрацію та номер Бюлетеня: 11.06.2025, Бюл. № 24

(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 САФРАНІНУ

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб фарбування пилкових зерен розчином сафраніну, що включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якої 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 для проведення дослідження використовують водний розчин сафраніну, пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 159525 (13) U

(51) МПК

G01N 21/29 (2006.01)

G02F 1/23 (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 03015	(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: 12.06.2025	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 11.06.2025, Бюл.№ 24	(73) Володілець (володільці): ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Канатна, 99, м. Одеса, 65039 (UA)

(54) СПОСІБ ФАРБУВАННЯ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН РОЗЧИНОМ САФРАНІНУ**(57) Реферат:**

Спосіб фарбування пилкових зерен розчином сафраніну включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якої 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. Для проведення дослідження використовують водний розчин сафраніну, пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.

UA 159525 U

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

Пилковий аналіз меду використовується для визначення ботанічного та географічного походження меду. Окрім того, пилкові зерна, як обов'язковий компонент меду, є безпосередньою ознакою його натуральності. В теперішній час пилковий аналіз широко використовується з метою вивчення якості продукції бджільництва.

Найближчими аналогом до способу, що заявляється, є [патент № 151290 "Спосіб фарбування пилкових зерен розчином фуксину"].

У близькому аналогу 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.

У хімічному стакані зважують $10 \pm 0,01$ г меду, додають $20 \pm 0,1$ см дистильованої води, поміщають розчин у водяну баню за температури 45°C 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 см 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.

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

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 в разі відсутності цього обладнання. Як розчинник фуксину основного кристалічного використовується етиловий спирт, що призводить до підвищення собівартості аналізу. У близькому аналогу 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. Певним недоліком є те, що у близькому аналогу пропонується використовувати покривне скло. Це може призвести до утворення пазирчиків повітря, що утруднює підрахунок та ідентифікацію видового складу пилкових зерен. Слід зазначити, що за окраскою фуксином пилкові зерна не завжди повністю та рівномірно профарбовуються.

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 за цього процесу, - 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).

На відміну від фуксину основного сафранін для мікроскопії має ряд переваг.

Сафранін - це лабораторна хімічна речовина, органічна сполука, яка належить до групи основних барвників азинової групи. Цю речовину застосовують для фарбування гістологічних препаратів, а також як барвник таких речей, як шкіра, папір, тканини тощо. Сафранін не належить до канцерогенів.

Тобто, якщо порівняти фуксин основний та сафранін, то останній використовувати більш доцільно.

Заявлений спосіб усуває недоліки наведеного аналога. За його використання пилкові зерна фарбуються рівномірно в кораловий або рожевий колір, оболонка зерна (екзина та інтина) - в яскраво кораловий або рожевий колір, а поле навколо зерен майже не зафарбовується та набуває блідо-рожевого кольору, що не заважає візуалізації пилку та інших мікроскопічних включень у меду (паді, водоростей та ін.). Саме інтенсивне коралове/рожеве забарвлення запропонованим способом оболонки пилкового зерна (екзина та інтина) дозволяє ідентифікувати їх видовий склад. Також за цього методу більш інтенсивно візуалізуються апертури, які знаходяться в екзині пилкового зерна, що покращує видову ідентифікацію пилку.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити новий, ефективний, економічний спосіб, що полегшує ідентифікацію пилкових зерен та визначення їх видової належності. Це підвищує ефективність способу та розширює область його застосування. Запропонований спосіб передбачає роботу з нетоксичним для людини барвником. Для приготування фарби не використовується етиловий спирт, що знижує собівартість дослідження.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі фарбування пилкових зерен розчином сафраніну, що включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якої 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, для проведення дослідження використовують водний розчин сафраніну, пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.

Запропонований спосіб виконується таким чином:

Перед дослідженням готують водний розчин сафраніну. 2 г сафраніну вносять в мірну колбу ємністю 100 см і доводять дистильованою водою до мітки (2 % сафраніну, основний розчин).

Із основного розчину 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.

У хімічному стакані зважують $10 \pm 0,01$ г меду, додають $20 \pm 0,1$ см³ дистильованої води, вміщують розчин у 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 см 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 сафраніну № 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 сафраніну № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Залишок розчину сафраніну 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 сафраніну № 2 (0,1 мл робочого розчину № 1 та 9 мл дистильованої води). Залишок розчину сафраніну не зливають. Пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури. Розглядають предметне скло під мікроскопом за збільшення 40х.

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

Результати ефективності запропонованого способу представлені в таблиці.

З матеріалів таблиці видно, що при використанні заявленого способу пилкового аналізу оболонка пилкового зерна (екзина та інтина) фарбується в яскраво кораловий або рожевий колір, зерна - в кораловий/рожевий колір, а поле навколо зерен майже не зафарбовується або набуває блідо-рожевого кольору. Саме інтенсивне коралове/рожеве забарвлення запропонованим способом оболонки пилкового зерна (екзина та інтина) та більш темне забарвлення апертур дозволяє ідентифікувати їх видовий склад.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що запропонований спосіб пилкового аналізу відповідає сучасним вимогам проведення ідентифікації харчових продуктів рослинного походження, є ефективним, технологічно прийнятним, економічним, безпечним для оператора, швидким та простим при застосуванні.

Таблиця

Спосіб фарбування пилкових зерен розчином сафраніну

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

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб фарбування пилкових зерен розчином сафраніну, що включає приготування дослідного водного розчину меду з наважкою $10 \pm 0,01$ г, до якої 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 для проведення дослідження використовують водний розчин сафраніну, пофарбований осад залишають до повного підсихання за кімнатної температури.