

7. Markevych, O.P., Korotkiy, I.I. (1954). *Vyznachnyk prysnovodnykh ryb [Determinant of freshwater fishes of URSR]*. Kyiv: Radianska shkola [in Ukrainian].
8. Nahorniuk, T.A., Tushnytsyka, N.Y., Tarasiuk, S.I. (2012). Morphogenetychni osoblyvosti ukrayins'koyi luskatoyi porody koropa [Morphogenetic features of Ukrainian sparse carp]. *Naukovo-tekhnichnyi byuleteny Instytutu biologiyi tvaryn ta Derzhavnogo naukovo-doslidnogo kontrol'nogo instytutu vetrynaryo ta kormovoykh dobavok – Scientific and technical bulletin of the Institute of Animal Biology and State Scientific and Research Control Institute of Veterinary Drug and Feed Additives*, 13, (3/4), 323–327 [in Ukrainian].
9. Davis, B.J. (1964). Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Academy Scientifics*, 121, 404–408 [in English].
10. Harris, H., Hopkinson, D. (1976). *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. Amsterdam: North-Holland Publ. Comp. [in English].
11. Plokhinsky, N.A. (1970). *Biometria [Biometry]*. Moskva: Moskovskii gosudarstvennyi universitet [in Russian].
12. Swofford, D.L., Selander, R.B. (1981). BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematic. *Heredity*, 72, 281–283 [in English].
13. Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *American Nature*, 106, 4047, 434–436 [in English].
14. Zhyvotovskiy, L.A. (1991). *Populacionnaya biometriya [Population biometry]*. Moskva: Nauka [in Russian].
15. Paver, T. (1983). *Biohimicheskaya hetetika karpa (Cyprinus carpio L.) [Biochemical genetics of carp (Cyprinus carpio L.)]*. Tallin: Valgus [in Russian].
16. Kirpichnikov, V.S. (1987). *Henetika i selekcia ryb [Genetics and selection of fishes]*. Leningrad: Nauka [in Russian].
17. Sulkowska, M.K. (2012). Isoenzyme Analyses Tools Used Long Time in Forest Science. *Electrophoresis*. Retrieved from : dx.doi.org/10.5772/45756 [in English].
18. Desvignes, J., Laroche, J., Durand, J., Bouvet, Y. (2001). Genetic variability in realted stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites. *Aquaculture*, 194, 291–301 [in English].
19. Fallahbagheri, F. Pourkazemi, M. Dorafshan, S. (2013). Genetic analysis of wild common carp, *Cyprinus carpio* L. in the Anzali wetland, the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12 (1), 5–11 [in English].
20. Altukhov, Yu.P. (1989). *Heneticheskie procesy v polyaciakh [Genetic processes are in populations]*. Moskva: Nauka [in Russian].

Стаття надійшла до редакції журналу
29.04.2019

УДК 504.054:504.064.2.001.18:614.484

DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.2.2019.174075>

ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ МИЙНО-ДЕЗИНФІКУВАЛЬНОГО ЗАСОБУ САНІМОЛ Л ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ІНФУЗОРІЙ *TETRACHUMENA PYRIFORMIS*

О.М. Жукорський¹, Є.М. Кривохижа²

¹ Національна академія аграрних наук України

² Інститут агроекології і природокористування НААН

*Висвітлено результати досліджень токсичності мийно-дезинфікувального засобу СанімоЛ Л для доїльного обладнання та молочного інвентаря за використання як біоіндикатора інфузорій *Tetrachumena pyriformis*. Встановлено мінімальну токсичну концентрацію засобу СанімоЛ Л для інфузорій, що становить 0,1% (або 10000 мг/л). За цієї концентрації та експозиції 24 год найбільш токсичним засобом для *T. pyriformis* виявився Сульфохлорантин — смертність інфузорій становила 85–95%. Нижчу токсичність — у 1,6 та 1,5 рази проявляли засоби СанімоЛ Л і CircoSuper AF відповідно.*

Ключові слова: мийно-дезинфікувальний засіб, токсичність, інфузорії, санітарна обробка, доїльне обладнання.

У процесі виробництва молока основним джерелом його мікробного обсіменіння є недостатньо очищене доїльне обладнання

[1], що потребує ретельного миття і дезінфекції після кожного доїння. Під час очищення видаляються молочні залишки, органічні і мінеральні речовини з внутрішніх

поверхонь обладнання. Дезінфекція проводиться для знищення мікроорганізмів з цих поверхонь. Порушення технологічного процесу призводить до розмноження бактерій на внутрішніх поверхнях обладнання і, як наслідок, до збільшення їх кількості у молоці [2].

Нині на ринку України налічується широкий асортимент імпортованих мийно-дезінфікувальних засобів для доїльного обладнання і — недостатня кількість вітчизняних. З огляду на це, виникає потреба створення нових ефективних мийно-дезінфікувальних засобів та технологій їх застосування.

Функція мийно-дезінфікувальних засобів для санітарної обробки доїльного обладнання — забезпечення широкого спектра антимікробної активності, належного мийного ефекту. Поряд із тим вони мають відповідати високим стандартам, як-от: мати низьку корозійну активність, не мати різкого запаху, не подразнювати шкіру рук, бути екологічно безпечними та нетоксичними [3].

Метою роботи було визначити токсичність мийно-дезінфікувального засобу СанімоЛ Л із використанням як біоіндикатора інфузорій *Tetrachymena pyriformis*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження рівня токсичності засобу СанімоЛ Л за кількістю живих інфузорій

T. pyriformis (штам WH-14) після його застосування проводили в Інституті агро-екології і природокористування НААН на основі порівняння з наявними на ринку засобами, як-от: CircoSuper AF і Сульфохлорантин загальноприйнятими методами [4–6]. Розглянуто інструкції із застосування цих засобів, проаналізовано кількісний уміст їх діючих речовин (табл. 1).

Інфузорій утримували в органічному середовищі за методикою напівбезперервного культивування при температурі $22 \pm 1^\circ \text{C}$ із щотижневою заміною частини середовища. До інфузорій, що поміщали у поживне середовище на чашках Петрі, додавали водні розчини мийно-дезінфікувальних засобів, щоб загальна їх концентрація у середовищі становила від 0,01 до 2,0%. Співвідношення об'ємів внесених засобів і поживного середовища з інфузоріями становило 1:9. У контрольному варіанті до зразків з інфузоріями додавали аналогічні кількості питної води. Спостереження за станом і поведінкою мікроорганізмів здійснювали за допомогою лабораторного біокулярного мікроскопа, термін спостереження — 3 доби. Дослідження кожного засобу проводили у восьмиразовому повторенні.

Критерієм токсичності мийно-дезінфікувального засобу слугувала смертність інфузорій. Мертвими вважалися нерухомі та видозмінені форми. Показник смертності

Таблиця 1

Уміст діючих речовин досліджуваних мийно-дезінфікувальних засобів для доїльного обладнання та молочного інвентаря

Назва засобу	Кількісний уміст компонентів, %							
	аніонні ПАР*	катионні ПАР	луг	гіпохлорит натрію	органічні сполуки хлору	фосфати	натрій кремнієкислий	трилон Б
СанімоЛ Л	–	4,0	7,0	–	–	–	3,5	0,6
CircoSuper AF	–	–	10,0	4,0	–	–	–	–
Сульфохлорантин	35,0	–	–	–	36,5	10,0	–	–

Примітка: *ПАР — поверхнево-активні речовини.

тест-об'єктів у гострому токсичному експерименті розраховували за формулою:

$$X = \frac{N_1}{N_2} \times 100,$$

де X – смертність інфузорій, %; N_1 – загальна кількість вихідних особин, які взяті для досліджу; N_2 – кількість мертвих особин за час експозиції.

У кожному колбу з токсичним середовищем обсягом 90 см³ (розчини досліджуваних мийно-дезінфікувальних засобів) вносили культури інфузорій обсягом 10 см³. Культуру в колбі ретельно перемішували, після визначеного часу експозиції відбирали вісім проб з кожної об'ємом 1,0 см³. Для підрахунку використовували мікроскоп бінокулярний МБИ-3 і камеру Горяєва.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами розроблено безхлорний лужний мийно-дезінфікувальний засіб Санімол Л для санітарної обробки доїльного облад-

нання та молочного інвентаря [7]. Засіб має такі характеристики: прозора жовтуватого кольору рідина, за хімічним складом – водний розчин суміші катіонних ПАВ, луку, комплексону та інгібітора корозії. Катіонні ПАВ, які входять до його складу, більше ніж на 90% біологічно розкладаються (метод OECD) [8, 9], що відповідає вимогам ЄС [10].

Визначено, що засіб Санімол Л у 0,5%-й концентрації за експозиції 2 хв проявляє бактерицидну дію на тест-культури дослідних мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* та *Pseudomonas aeruginosa* та високу мийну здатність.

На основі проведених досліджень із визначення фітотоксичності засобу Санімол Л встановлено, що за його внесення у ґрунт у концентрації 1000 мг/кг відбувається зменшення маси, довжин стебла та найдовшого кореня рослин – у середньому на 12,7%. А це свідчить про його низький

Таблиця 2

Дія мийно-дезінфікувальних засобів на фізіологічний стан *T. Piriformis**

Назва засобу та його концентрація, %	Період експозиції і дія на інфузорій									
	1 хв	30 хв	1 год	3 год	7 год	24 год	36 год	48 год	56 год	72 год
<i>Санімол Л</i>										
2,0	±	±	±	–	–	–	–	–	–	–
1,0	±	±	±	±	±	–	–	–	–	–
0,1	+	+	+	±	±	±	±	±	–	–
0,01	+	+	+	+	+	+	+	++	++	++
<i>CircoSuper AF</i>										
2,0	±	±	–	–	–	–	–	–	–	–
1,0	±	±	±	–	–	–	–	–	–	–
0,1	+	+	±	±	±	±	±	±	–	–
0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
<i>Сульфохлорантин</i>										
2,0	±	–	–	–	–	–	–	–	–	–
1,0	±	±	–	–	–	–	–	–	–	–
0,1	+	±	±	±	±	±	–	–	–	–
0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: * «+» – норма; «++» – збільшення та «±» – зменшення чисельності інфузорій та їх активності; «–» – загибель інфузорій, відсутність будь-яких видимих ознак життєздатності.

Таблиця 3

Вплив мийно-дезинфікувальних засобів на смертність інфузорій *T. pyriformis*, $M \pm m$, $n = 8$

Назва засобу (концентрація – 0,1%)	Експозиція, год							
	1	3	7	24	36	48	56	72
	Смертність інфузорій, %							
Саніمول Л	0	20±1	35±3	55±3	70±4	85±5	100	100
CircoSuper AF	5±1	30±2	45±3	60±4	75±5	95±5	100	100
Сульфохлорантин	9±2	50±4	70±5	90±5	100	100	100	100
Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0

рівень фітотоксичності. Але для системного визначення впливу засобу Саніمول Л, порівняно з іншими мийно-дезинфікувальними засобами, безпосередньо на клітину ми вивчали його токсичну дію на інфузорії *T. pyriformis*.

Так, усі досліджувані засоби в 1,0%-й концентрації спричиняють зменшення чисельності інфузорій та зниження їх активності впродовж першої хвилини експозиції (табл. 2). Тому в наступних експериментах було здійснено порівняння дії досліджуваних засобів у концентрації 0,1%. Для цього в кожную чашку Петрі з культуральним середовищем обсягом 18 см³ та інфузоріями додавали 2 см³ 1,0%-го розчину мийно-дезинфікувальних засобів (тобто їх кінцева концентрація у розчині становить 0,1%). Здійснювали спостереження за динамікою змін стану інфузорій та розраховували показник смертності за дії всіх випробуваних засобів (табл. 3).

Так, за 0,1%-ї концентрації розчинів засобу Саніمول Л виживаність інфузорій упродовж 1 год експозиції була аналогічна контролю. Засоби CircoSuper AF і Сульфохлорантин за такої самої концентрації та експозиції спричиняли зниження виживаності інфузорій – у середньому на 7,0%. Через 24 год їх чисельність за впливу всіх досліджуваних засобів зменшилася на 68,0%. За збільшення експозиції до 36 год засіб Сульфохлорантин проявляв летальний ефект на інфузорій, а засоби Саніمول Л і CircoSuper AF спричиняли 73,0%-у їх смертність. Через 48 год смертність інфузорій за впливу цих засобів становила у середньому 90,0%. Упродовж 56 год засоби

Саніمول Л і CircoSuper AF також проявляли летальний ефект на інфузорій; засіб Саніمول Л демонстрував нижчу токсичність – у середньому на 38,8% порівняно із іншими досліджуваними засобами.

Отже, токсичність засобу Саніمول Л за експозиції 24 год була нижчою на 5,0 і 35,0% порівняно із засобами CircoSuper AF та Сульфохлорантин відповідно.

ВИСНОВКИ

Застосування методу визначення токсичності мийно-дезинфікувальних засобів для доїльного обладнання на інфузоріях *T. pyriformis* дає можливість прогнозувати вплив викидів їх відпрацьованих розчинів на найпростіші організми.

Встановлено мінімальну токсичну концентрацію засобу Саніمول Л для інфузорій – 0,1% (або 10000 мг/л). Більш токсичним засобом щодо *T. pyriformis* виявився Сульфохлорантин, натомість Саніمول Л і CircoSuper AF були менш агресивними – у 2,0 та 1,6 раза відповідно. Токсикологічні дослідження на інфузоріях дають підстави вважати, що Саніمول Л є перспективним екобезпечним засобом і може використовуватися у молочному скотарстві для покращення екологічної ситуації у зонах інтенсивного виробництва продукції.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Robinson R.K.* Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products / R.K. Robinson. – 3rd ed. – New York: John Wiley and Sons, 2002. – 784 p.
2. *Jones G.M.* Cleaning and Sanitizing Milking Equipment [Електронний ресурс] / G.M. Jones. – Publications (Virginia Cooperative Extension), 2009. –

- 4 р. — (Series 400–404). — Режим доступу: <https://pubs.ext.vt.edu/404/404-400/404-400.html>
3. Палій А.П. Санітарна обробка доільно-молочного обладнання / А.П. Палій, А.П. Палій, О.В. Синиця // Вісник Харківського національного технічного університету сільського господарства імені Петра Василенка. — 2016. — Вип. 170. — С. 51–55.
 4. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І.Я. Коцюмбас, О.Г. Малик, І.П. Патерега [та ін.]; за ред. І.Я. Коцюмбаса. — Львів: Триада плюс, 2006. — 360 с.
 5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / О.В. Стефанов, Н.В. Літвінова, М.А. Філоненко-Патрушева [та ін.]; за ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
 6. Коваленко В.Л. Методичні підходи контролю дезінфікуючих засобів для ветеринарної медицини: монографія / В.Л. Коваленко, В.В. Недосєков. — К.: НУБіП, 2011. — 219 с.
 7. Пат. 133516 Україна, МПК C11D 7/00. Лужний мийно-дезінфікуючий засіб «СанімоЛ» / О.М. Жукорський, Є.М. Кривохижа, О.В. Никифорук, В.О. Пінчук; заявник і патентовласник Інститут агроєкології і природокористування НААН. — № u201810993; заявл. 07.11.2018; опубл. 10.04.2019; Бюл. № 7.
 8. Assessment of the biodegradability of Dialkyldimethylammonium salts in flow through systems / C.G. van Ginkel, A. Hoenderboom, A.M. van Haperen, M.G.J. Geurts // Journal of Environmental Science and Health. — 2003. — Vol. 38, Issue 9. — P. 1825–1835. — (Part A. Toxic: Hazardous Substances and Environmental Engineering).
 9. Марки Лутензит TC-KLC 50: Технічна інформація. — BASF, 1992. — 19 с.
 10. Regulation (EC) No. 648/2004 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on detergents // Official Journal of the European Union. — 2004. — No. 104. — P. 1–35.
1. Robinson, R.K. (2002). *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*. New York: John Wiley and Sons [in English].
 2. Jones, G.M. (2009). Cleaning and Sanitizing Milking Equipment. *pubs.ext.vt.edu*. Retrieved from <https://pubs.ext.vt.edu/404/404-400/404-400.html> [in English].
 3. Paliy, A.P., Paliy, A.P., Synytsya, O.V. (2016). Sanitary processing of dairy equipment [Sanitization of milking and dairy equipment]. *Visnyk Kharkivs'koho natsional'noho tekhnichnoho universytetu sil's'koho hospodarstva imeni Petra Vasylenka — Bulletin of Kharkiv National Technical University of Agriculture named after Petr Vasilenko, 170, 51–55* [in Ukrainian].
 4. Kotsyumbas, I.Ya., Malyk, O.H., & Patereha I.P. et al. (2006). *Doklinichni doslidzhennya veterynarnykh likars'kykh zasobiv* [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. I.Ya. Kotsyumbas (Ed.). Lviv: Triad plus [in Ukrainian].
 5. Stefanov, O.V., Litvinova, N.V., Filonenko-Patrusheva, M.A. et al. (2001). *Doklinichni doslidzhennya likars'kykh zasobiv: metodychni rekomendatsiyi* [Preclinical studies of drugs: guidelines]. O.V. Stefanov (Ed.). Kyiv: Avitsenna [in Ukrainian].
 6. Kovalenko, V.L., Nedosyevkov, V.V. (2011). *Metodychni pidkhody kontrolyu dezinfikuyuchykh zasobiv dlya veterynarnoyi medytsyny* [Methodological approaches of control disinfectants for veterinary medicine]. Kyiv: NUBiP [in Ukrainian].
 7. Zhukorskiy, O.M., Kryvokhyzha, Ye.M., Nykyforuk, O.V. and Pinchuk, V.O. Luzhnyi myno-dezinfikuyuchyiy zasib «Sanimol L» [Alkaline washing-disinfectant «Sanimol L»]. *Patent No.133516, C11D 7/00. u201810993; 7th November 2018; 10th April 2019. Biul. No. 7. Ukraine* [in Ukrainian].
 8. Van Ginkel, C.G., Hoenderboom, A., van Haperen, A.M., Geurts, M.G.J. (2003). Assessment of the biodegradability of Dialkyldimethylammonium salts in flow through systems. *Journal of Environmental Science and Health. Part A. Toxic, 38, 9, 1825–1835* [in English].
 9. *Tekhnichna informatsiya. Marky Lutensit TC-KLC 50* [Technical information. Mark Lutensit TC-KLC 50]. (1992). BASF [in Ukrainian].
 10. Regulation (EC) No 648/2004 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on detergents. *Official Journal of the European Union, 104, 1–35* [in English].

REFERENCES

Стаття надійшла до редакції журналу
30.04.2019