

## АНОТАЦІЯ

**Верхоліук М. М. Санітарно-гігієнічне обґрунтування розробки та застосування засобу на основі ортофосфатної кислоти із полігексаметиленгуанідином для обробки доїльного обладнання.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза». – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Львів, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному вивченню особливостей санітарної обробки доїльного устаткування, розробці ефективного кислотного мийно-дезінфікуючого засобу та режимів його застосування, санітарно-гігієнічній оцінці молока.

За результатами моніторингу «Переліку зареєстрованих ветеринарних препаратів, кормових добавок, готових кормів та преміксів» отримано нові дані про стан виробництва засобів для санітарної обробки доїльного обладнання в Україні та узагальнено потребу у них на внутрішньому ринку. Встановлено, що він забезпечений препаратами власного виробництва лише на 40 %, частка вітчизняних кислотних мийно-дезінфікуючих засобів становить 17,4 %, а кількість імпортованих та виготовлених за ліцензіями закордонних фірм кислотних і лужних засобів є більшою відповідно на 11,2 і 18,3 % та 13 і 16,6 %.

Для розробки кислотного мийно-дезінфікуючого засобу «Мілкодез» був вибраний прототип, проведений підбір діючих речовин, визначено їх сумісність, фізико-хімічні властивості, оптимальну концентрацію, а також досліджено фізико-хімічні, бактерицидні й токсичні властивості готового препарату. Встановлено, що 65,2 % кислотних мийно-дезінфікуючих засобів виготовлені на основі фосфатної кислоти, а кількість дезінфектантів на основі азотної та інших кислот становила по 17,4 % відповідно. За допомогою фізико-хімічних методів визначено рН, загальну кислотність, поверхневий натяг, піноутворювальну та мийну здатність, здатність розчиняти кальцію ортофосфат, вплив на видовження

дійкової гуми, а також корозійну дію розчинів із різною концентрацією ортофосфатної кислоти на нержавіючу сталь та алюміній. За результатами проведених досліджень доведено, що створюваний мийно-дезінфікуючий засіб у своєму складі повинен містити не менше 30 % ортофосфатної кислоти.

Дослідженнями величини і швидкості корозії нержавіючої сталі та алюмінію за дії 30 % розчину ортофосфатної кислоти (ISO 8044:1986) встановлено, що в якості інгібітору корозії до складу створюваного кислотного засобу необхідно вводити нітрат амонію, кількість якого повинна становити 5 %, що забезпечить зменшення корозійної дії кислоти в 2,5 рази.

Визначенням мінімальної бактерицидної концентрації полігексаметиленгуанідину до мікроорганізмів було встановлено, що для забезпечення належної дезінфікуючої дії вона повинна становити не менше 2 % у створюваному кислотному мийно-дезінфікуючому засобі, оскільки припинення росту *E. coli* 055K59 №3912/41 відзначено за концентрації 0,5 %, *P. aeruginosa* 27/99 – за 0,7 %, а *S. aureus* ATCC 25923 – за 1,9 %.

На підставі одержаних результатів розроблений кислотний мийно-дезінфікуючий засіб для санітарної обробки доїльного обладнання «Мілкодез», який містить у своєму складі ортофосфатну кислоту (30 %), полігексаметиленгуанідин (2 %), нітрат амонію (5 %) і дистильовану воду – 100 % (Технічні умови України 20.200492990 019:2019. Засіб дезінфікуючий «Мілкодез» затверджений ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок).

Органолептичними дослідженнями встановлено, що засіб «Мілкодез» відповідає показникам норми, є безбарвною прозорою рідиною, без запаху, має добру мийну здатність та не утворює піни. Крім того, за допомогою рН-метра встановлено, що рН його робочого розчину становить  $1,67 \pm 0,043$ . Титрометрично визначали загальну кислотність, яка складала  $41,87 \pm 0,883$  %, за допомогою сталагрометра визначали поверхневий натяг, він дорівнював  $67,75 \pm 0,929$  мН/м. Розчинність кальцію ортофосфату, що становила  $2,86 \pm 0,021$  г, визначали за методом, описаним М. Д. Кухтиним (2015). Величини корозії алюмінію та нержавіючої сталі за дії засобу «Мілкодез» були  $2,76 \pm 0,257$  та

0,67±0,043 г/м<sup>2</sup>-рік, а видовження дійкової гуми, яке визначали згідно з ISO–5709 становило 7,3±0,57 мм, що на 43 % вище від мінімально допустимого значення.

Методом біопробу була досліджена токсичність розробленого препарату. В орієнтовному та розгорнутому досліді на білих щурах встановлено, що «Мілкодез» належить до IV класу токсичності, а методом Г. Кербера визначено, що DL<sub>50</sub> препарату і його робочого розчину становить відповідно 3250 та 10000 мг/кг маси тіла. Дослідженнями на кролях доведено, що розроблений кислотний мийно-дезінфікуючий засіб лише у нативній формі зумовлює незначне подразнення шкіри, кон'юнктиви та слизової оболонки ока. Крім того, тест-методом «субхронічної токсичності» за К. S. Lim зі співавторами у модифікації К. К. Сидорова та розрахунком за формулою Ю. Г. Кагана і В. В. Станкевича коефіцієнта кумуляції доведено відсутність у препараті кумулятивних властивостей. Гематологічними, біохімічними та імунологічними методами за загально визначеними методиками у крові щурів за дії засобу «Мілкодез» встановлено зростання рівня гемоглобіну, кількості нейтрофілів, активності АЛАТ, АсАТ і вмісту загального протеїну та зменшення загальної кількості лейкоцитів, еозинофілів, лімфоцитів та моноцитів, гематокритної величини, активності лужної фосфатази, загальної кількості ліпідів, тригліцеридів, лізоцимної та бактерицидної активності.

Суспензійним методом із використанням біологічних моделей встановлено, що для санітарної обробки доїльного устаткування «Мілкодез» потрібно застосовувати у 0,5 % концентрації, яка зумовлює загибель 100 % планктонних тест-культур *S. aureus* ATCC 25923 і *E. coli* 055K59 №3912/41 впродовж 5 хв і *P. aeruginosa* 27/99 – через 2 хв після його застосування. Загибель досліджуваних тест-культур у біоплівці після 5 хв експозиції становила відповідно 77,8, 85,6 і 61,6 %.

Також за методиками, описаними Ю. Б. Перкієм та ін. (2012), визначене значення фенольного показника і протеїнового індексу. Встановлено, що фенольний коефіцієнт для *S. aureus* ATCC 25923 становить 8,06±0,348, для *E. coli* 055K59 №3912/41 – 20,04±0,531 та для *P. aeruginosa* 27/99 – 64,25±0,756. Протеїновий індекс для досліджуваних тест-культур, за наявності протеїнів

сироватки крові, становив відповідно  $3,12 \pm 0,117$ ,  $4,34 \pm 0,051$  та  $4,32 \pm 0,049$ , а протеїнів молока великої рогатої худоби –  $5,09 \pm 0,125$ ,  $13,91 \pm 0,337$  та  $15,31 \pm 0,294$ .

Методом серійних розведень у МПА за А. П. Красильниковим встановлено мінімальну інгібуючу концентрацію, яка до музейного штаму *S. aureus* ATCC 25923 за експозиції 2 хв становила 0,371 %, за експозиції 5 хв – 0,265 % та 15 хв – 0,0691 %, до *E. coli* 055K59 №3912/41 – відповідно 0,134; 0,0493 і 0,0352 % та до *P. aeruginosa* 27/99 – 0,012856 % за всіх часових експозицій.

Відсутність росту *S. aureus* ATCC 25923 та *E. coli* 055K59 №3912/41 на середовищах із концентрацією препарату «Мілкодез» 0,07 і 0,035 %, що була меншою за мінімальну бактерицидну концентрацію, через 47 і 48 пересівів свідчить про відсутність резистентності вказаних мікроорганізмів до діючих речовин засобу і можливість його довготривалого використання для санітарної обробки доїльного обладнання.

Дослідженнями кількості МАФАНМ у змивах із доїльного обладнання і молочного інвентарю доведено, що «Мілкодез» необхідно застосувати гарячим ( $70 \pm 5$  °C), у концентрації 0,5 % після попередньої обробки лужним засобом «Hyprochlor», експозиція для молочного інвентарю і переносних доїльних апаратів повинна становити не менше 5 хв, охолоджувача молока – 10 хв, установки доїльної в молокопровід УДМ 200 «Брацлавчанка» та доїльного залу «Ялинка» – 15 хв.

Бактеріологічним дослідженням молока, одержаного після санації обладнання «Мілкодезом», встановлено, що його застосування упродовж 5 – 15 хв, після попередньої обробки лужним засобом «Hyprochlor», дозволяє одержати молоко сире коров'яче із вмістом МАФАНМ до 100 тис. в 1 см<sup>3</sup>.

Розрахунковим методом встановлено, що економічний ефект від застосування розробленого кислотного мийно-дезінфікуючого засобу «Мілкодез» у молочних господарствах, де використовується установка доїльна в молокопровід УДМ 200 «Брацлавчанка» та доїльний зал «Ялинка» за рік становить 1 051 460 грн.

**Новизна роботи** полягає в тому, що отримані нові дані про стан виробництва засобів для санітарної обробки доїльного обладнання в Україні та визначено потребу в них на внутрішньому ринку. Встановлено, що препарати власного виробництва покривають потребу на 40 %, серед них лише 17,4 % становлять кислотні мийно-дезінфікуючі засоби.

Вперше на основі ортофосфатної кислоти розроблений мийно-дезінфікуючий засіб «Мілкодез», який, для підвищення ефективності санітарної обробки доїльного устаткування, містить дезінфектант полігексаметиленгуанідин, а для попередження корозії нержавіючої сталі та алюмінію – інгібітор нітрат амонію.

Досліджені фізико-хімічні, токсичні і бактерицидні властивості компонентів та розроблений кислотний мийно-дезінфікуючий засіб «Мілкодез» для санітарної обробки доїльного устаткування. Експериментально доведено, що розроблений засіб відповідає показникам норми за значенням рН його робочого розчину, загальної кислотності, поверхневого натягу, розчинністю кальцію ортофосфату, величини корозії на алюміній та нержавіючу сталь та видовження дійкової гуми, є безбарвною прозорою рідиною, без запаху, має добру мийну здатність, не утворює піни і за ступенем небезпечності хімічних речовин (СОУ 85.2-37-736:2011) належить до IV класу токсичності.

За результатами дослідження фенольного коефіцієнта, протеїнового індексу, бактерицидної дії «Мілкодез» на *P. aeruginosa* 27/99, *S. aureus* ATCC 25923 і *E. coli* 055K59 №3912/41 та резистентності вказаних мікроорганізмів до його діючих речовини встановлено можливість довготривалого використання розробленого засобу для санітарної обробки доїльного устаткування.

Розроблені, теоретично обґрунтовані й апробовані ефективні та безпечні режими застосування засобу «Мілкодез» для санітарної обробки доїльного обладнання та молочного інвентарю, які забезпечують добрий санітарний стан устаткування, видалення молочного каменю та одержання молока екстрагатунку.

Наукову новизну досліджень підтверджено деклараційним патентом України на корисну модель № 129284, «Кислотний мийно-дезінфікуючий засіб

«Мілкодез», МПК (2006.01) и 2018 04737, заявл. 27.04.2018; опубл. 25.10.2018; Бюл. № 20.

Результати дисертаційної роботи використовуються в освітньому процесі та науково-дослідницькій роботі студентів спеціальностей 211 «Ветеринарна медицина», 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» споріднених закладів вищої освіти України.

*Ключові слова:* молоко, доїльне обладнання, молочний інвентар, мийно-дезінфікуючі засоби, санітарна обробка, діючі речовини, ортофосфатна кислота, полігексаметиленгуанідин, нітрат амонію, «Мілкодез».

### Список публікацій здобувача

*Статті у фахових наукових виданнях України:*

1. Пеленьо, Р. А., **Верхолюк, М. М.** (2017). Визначення мінімальної бактерицидної концентрації Вантоцилу на тест-культурах мікроорганізмів, *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*, 19, 82, 212–216. (Здобувач визначив мінімальну бактерицидну концентрацію Вантоцилу та підготував статтю до публікації).

2. **Верхолюк, М. М.**, Пеленьо, Р. А. (2018). Руйнівна дія різної концентрації ортофосфатної кислоти в кислотному мийно-дезінфікуючому засобі на елементи доїльного устаткування, виготовлених із нержавіючої сталі та алюмінію. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*, 20, 87, 74–77. (Здобувач встановив руйнівну дію ортофосфатної кислоти на елементи доїльного устаткування та підготував статтю до публікації).

3. **Верхолюк, М. М.** (2018). Визначення оптимальної концентрації ортофосфатної кислоти для розробки нового мийно-дезінфікуючого засобу для молочного устаткування. *Вісник Сумського національного аграрного університету*, 1 (42), 41–44.

4. **Верхолюк, М. М.** (2019). Дослідження мінімальної бактерицидної концентрації кислотного мийно-дезінфікуючого засобу «Мілкодез» на тест-

культурах мікроорганізмів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*, 21, 93, 93–97.

5. **Верхоліук, М. М.**, Пеленьо, Р. А., Семанюк, Н. В. (2019). Розробка режиму дезінфекції доїльного устаткування та молочного інвентарю кислотним мийно-дезінфікуючим засобом «Мілкодез». *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*, 21, 96, 153–157. (Здобувач розробив режими дезінфекції доїльного устаткування та молочного інвентарю та підготував статтю до публікації).

*Статті у періодичних наукових виданнях інших держав, які входять до складу Європейського Союзу:*

6. **Verkholiuk, M.**, Peleno, R., Turko, I. (2020) Resistance of *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* 055K59 No. 3912/41 and *P. aeruginosa* 27/99 to the wash-disinfectant «Milkodez». *EUREKA: Life Sciences*, № 1, 55–60. (Здобувач визначив стійкість тест-культур мікроорганізмів до кислотного мийно-дезінфікуючого засобу «Мілкодез» та підготував статтю до публікації).

*Патенти України на корисну модель:*

7. **Верхоліук, М. М.**, Пеленьо, Р. А. Кислотний мийно-дезінфікуючий засіб «Мілкодез». Пат. № 129284, Україна: МПК (2006.01) и 2018 04737, заявл. 27.04.2018; опубл. 25.10.2018; Бюл. № 20. 8 с.

*Методичні рекомендації:*

8. **Верхоліук, М. М.**, Пеленьо, Р. А., Семанюк, В. І., Турко, І. Б. (2019). Застосування кислотного мийно-дезінфікуючого засобу «Мілкодез» для санітарної обробки доїльного обладнання та молочного інвентаря. Методичні рекомендації. Львів, 31 с. (Здобувач провів експериментальні дослідження, узагальнив результати та підготував матеріали до публікації).

*Наявність завершеної наукової розробки – технічні умови*

9. Пеленьо, Р. А., **Верхоліук, М. М.**, Сімонов, М. Р., Калініна, О. С., Турко, І. Б., Семанюк, В. І., Семанюк, Н. В., Куляба, О. В., Турко, Я. І., (2019). Технічні умови України ТУ У 20.2-00492990-019:2019. Засіб дезінфікуючий

«МІЛКОДЕЗ». Затверджені ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок від 27.12.2019.

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.*

*Тези наукових доповідей:*

10. **Верхолюк, М. М.,** Пеленьо, Р. А. (2018). Вивчення мінімальної бактерицидної концентрації кислотного мийно-дезінфікуючого засобу «Мілкодез». *Тези доповідей «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактики у ветеринарній медицині»*. Львів, 26–27.

11. **Верхолюк, М. М.,** Пеленьо, Р. А., Семанюк, В. І. (2019). Аналіз засобів для миття і дезінфекції доїльного обладнання, яке використовується в Україні. *Тези доповідей V Міжнародної науково-технічної конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості»*. Тернопіль, 41–42.

12. Пеленьо, Р. А., **Верхолюк, М. М.** (2019). Визначення протеїнового індексу кислотного мийно-дезінфекційного засобу «МІЛКОДЕЗ». *Тези доповідей Міжнародної науково-практичної конференції «Освітньо-наукові аспекти контролю інфекційних хвороб тварин в Україні»*. Київ, 86–88.