



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **30499** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
A23C 7/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ВДОСКОНАЛЕННЯ РЕДУКТАЗНОЇ ПРОБИ ПРИ ВИЗНАЧЕННІ БАКТЕРІАЛЬНОГО ОБСІМЕНІННЯ СИРОГО КОРОВ'ЯЧОГО МОЛОКА**

1

2

(21) u200712958

(22) 23.11.2007

(24) 25.02.2008

(72) БОГАТКО НАДІЯ МИХАЙЛІВНА, UA,  
ШАРАНДАК ВАЛЕНТИНА ВАСИЛІВНА, UA,  
БОГАТКО ДЕНИС ЛЕОНІДОВИЧ, UA,  
ПОЛТАВЧЕНКО ТЕТЯНА ВІКТОРІВНА, UA  
(73) БОГАТКО НАДІЯ МИХАЙЛІВНА, UA,  
ШАРАНДАК ВАЛЕНТИНА ВАСИЛІВНА, UA,  
БОГАТКО ДЕНИС ЛЕОНІДОВИЧ, UA,  
ПОЛТАВЧЕНКО ТЕТЯНА ВІКТОРІВНА, UA

(56)

(57) Спосіб вдосконалення редуктазної проби при визначенні бактеріального обсіменіння сирого

коров'ячого молока, що включає використання робочого розчину, який **відрізняється** тим, що як робочий розчин використовують розчин резазурину натрієвої солі в розведенні основного розчину резазурину до дистильованої води, як 1:2 в кількості 1,4-1,5 см<sup>3</sup> та 10,0-10,2 см<sup>3</sup> сирого молока, при температурі в редуктазнику при проведенні проби 37,5±0,5 °C та оцінку бактеріального обсіменіння молока протягом 40 хвилин та через 1 год. 10 хвилин, причому визначають забарвлення від сіро-бузкового до бузкового з слабким сірим відтінком, що відповідає до 300 тис. бактерій в 1 см<sup>3</sup> сирого коров'ячого молока.

Винахід належить до сільського господарства, зокрема, до ветеринарної медицини, і може бути використаний для проведення редуктазної проби при визначенні бактеріального обсіменіння сирого коров'ячого молока у виробничих лабораторіях на потужностях по переробці молока, в державних лабораторіях ветеринарної медицини, на пунктах збору сирого коров'ячого молока, на суб'єктах господарювання по отриманню молока та в лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи на ринку. За результатами цього метода можна отримати кількісні показники при оцінці безпеки сирого коров'ячого молока.

Аналогом винаходу є метод визначення інгібувальних речовин (антибіотиків, формаліну, перекису водню тощо) в молоці за допомогою органічного барвника резазурин натрієвої солі [1], який відновлюється при розвитку в молоці чутливих до інгібувальних речовин мікроорганізмів виду *Streptococcus thermophilus*.

Прототипом винаходу є метод визначення бактеріального обсіменіння сирого коров'ячого молока [2, 3], в якому використовують робочий розчин резазурин натрієвої солі в кількості 1см<sup>3</sup> і 10см<sup>3</sup> досліджуваного сирого коров'ячого молока і витримують в редуктазнику з температурою (37±1)°C протягом 1 год. - 1 год 30хв. По довготривалості зміни забарвлення оцінюють

бактеріальне обсіменіння молока. Метод довготривалий, дає похибку у визначенні 15-20%.

В основу даного винаходу покладено завдання - розробити спосіб вдосконалення редуктазної проби при визначенні бактеріального обсіменіння сирого коров'ячого молока шляхом зміни концентрації та кількості робочого розчину резазурин натрієвої солі, температури та часу проведення дослідження. Даний винахід забезпечить достовірність результатів при визначенні бактеріального обсіменіння сирого коров'ячого молока.

Завдання вирішується тим, що в стерильну пробірку наливають 1,4-1,5см<sup>3</sup> робочого розчину резазурину і 10,0-10,1см<sup>3</sup> досліджуваного сирого коров'ячого молока. Ретельно перемішують вміст пробірки при закритій пробці та витримують в редуктазнику з температурою води (37,5±0,5)°C. Результати враховують через 40хв. та 1 год. 10хв. і оцінюють бактеріальне обсіменіння сирого коров'ячого молока.

Етапи вирішення даного завдання наведено у нижчезазначених прикладах.

Приклад 1. Для розробки методу готують основний розчин резазурин натрієвої солі: 0,10-0,11г резазурин переносять в мірну колбу ємністю 200,0см<sup>3</sup> і доводять до мітки прокип'яченою і охолодженою до 25°C

(13) **U**  
(11) **30499**  
(19) **UA**

дистильованою водою. Ретельно перемішують. Для дослідження використовують робочий розчин резазурина натрієвої солі, приготовлений з 10,0-10,1см<sup>3</sup> основного розчину резазурина та 25,0-25,1см<sup>3</sup>. В стерильну пробірку наливають 2,0-2,1см<sup>3</sup> робочого розчину резазурина, приливають 8,0-8,2см<sup>3</sup> сирого коров'ячого молока, закривають стерильною пробкою і ретельно трьохразово перемішують вміст пробірки. Потім ставлять у редуктазник з температурою води (36±1)°C. Результати по орієнтованій кількості бактерій в 1см<sup>3</sup> молока враховують через 1 год 20хв. та 2 години. Через 1 год 20хв. пробірка з молоком, що має забарвлення бузкове з рожевим відтінком, залишається у редуктазнику ще на 40хв.

Приклад 2. Для розробки методу готують основний розчин резазурина натрієвої солі: 0,10-0,11г резазурина переносять в мірну колбу ємністю 200,0см<sup>3</sup> і доводять до мітки прокип'яченою і охолодженою до 25°C дистильованою водою. Ретельно перемішують. Для дослідження використовують робочий розчин резазурина натрієвої солі, приготовлений з 15,0-15,1см<sup>3</sup> основного розчину резазурина та 20,0-20,1см<sup>3</sup>. В стерильну пробірку наливають 1,8-2,0см<sup>3</sup> робочого розчину резазурина, приливають 9,0-9,2см<sup>3</sup> сирого коров'ячого молока, закривають стерильною пробкою і ретельно трьохразово перемішують вміст пробірки. Потім ставлять у редуктазник з температурою води (39±1)°C. Результати по орієнтованій кількості бактерій в 1см<sup>3</sup> молока враховують через 1 год 10хв. та 1 год. 40хв. Через 1 год 10хв. пробірка з молоком, що має забарвлення бузкове з рожевим відтінком, залишається у редуктазнику ще на 30хв.

Приклад 3. Для розробки методу готують основний розчин резазурина натрієвої солі: 0,10-0,11г резазурина переносять в мірну колбу ємністю 200,0см<sup>3</sup> і доводять до мітки прокип'яченою і охолодженою до 25°C дистильованою водою. Ретельно перемішують. Для дослідження використовують робочий розчин резазурина натрієвої солі, приготовлений з 10,0-10,1см<sup>3</sup> основного розчину резазурина та 20,0-20,1см<sup>3</sup>. В стерильну пробірку наливають 1,4-1,5см<sup>3</sup> робочого розчину резазурина, приливають 10,0-10,2см<sup>3</sup> сирого коров'ячого молока, закривають стерильною пробкою і ретельно трьохразово перемішують вміст пробірки. Потім ставлять у редуктазник з температурою води (37,5±0,5)°C. Результати по орієнтованій кількості бактерій в 1см<sup>3</sup> молока враховують через 40хв. та 1 год. 10хв. Через 40хв. пробірка з молоком, що має забарвлення сіро-бузкове до бузкового з слабим відтінком, залишається у редуктазнику ще на 30хв.

Порівняльна оцінка результатів випробування вищезазначених способів вдосконалення редуктазної проби при визначенні бактеріального обсіменіння сирого коров'ячого молока до прототипу наведені в таблиці 1.

Порівняння способів вдосконалення редуктазної пр

№ п/п	Показники, що порівнюються	Прототип	1
			4
1	2	3	4
1	Склад основного розчину резазурина натрієвої солі: резазурин, г дистильована вода, см <sup>3</sup>	0,1 200,0	0,10-0,11 200,0-200,1
2	Склад робочого розчину резазурина натрієвої солі: основний розчин, см <sup>3</sup> дистильована вода, см <sup>3</sup>	10,0 25,0	10,0-10,1 25,0-25,1
3	Складові проби: робочий р-н резазурина, см <sup>3</sup> молоко, см <sup>3</sup>	1,0 10,0	2,0-2,1 8,0-8,2
4	Температура в редуктазнику, °C	37,0±1	36,0±1
5	Тривалість визначення досліді, год	від 1год до 1год 30хв	від 1год 20хв до 2год.
6	Стабільність показників редуктазної проби, %	80-85	83-86

Дані таблиці 1 свідчать, що більш достовірні дані по стабільності показників редуктазної проби - 92-94% були отримані при застосуванні способу за прикладом №3 в порівнянні до прототипу. Використовуючи спосіб за прикладом №3, ми провели оцінку по кольору редуктазної проби та встановили орієнтовану кількість бактерій в 1см<sup>3</sup> на 28 пробах сирого коров'ячого молока. Результати наведені в таблиці 2.

Оцінка результатів редуктазної проби при визначенні бактеріального молока за прототипом та способами

N п/п	Показники редуктазної проби	Оцінка редуктаз		
		Прототип	1	
			Час проведення редук	
		через 1год.	через 1год 20хв	ч
1	Колір	бузковий з рожевим відтінком	бузковий з рожевим відтінком	роз
2	Орієнтована к-ть бактерій в 1см <sup>3</sup> молока	від 300 тис. до 500 тис.	від 500 тис. до 4 млн.	ві
		Загальний час проведення		
		через 1 год. 30хв	через 2 год	че
3	Колір	сіро-бузковий	біло-рожевий	роз
4	Орієнтована к-ть бактерій в 1см <sup>3</sup> молока	від 500 тис. до 4 млн	від 4 млн. до 20 млн.	ві

Проведеними дослідженнями визначено, що найбільш стабільний колір при проведенні

редуктазної проби - сіро-бузковий до бузкового з слабким сірим відтінком був в способі за прикладом №3. Крім того, даний метод ефективний та скорочує термін проведення редуктазної проби.

В прикладі №3 нами пропонується як якісний та кількісний спосіб для вдосконалення редуктазної проби при визначенні бактеріального обсіменіння сирого коров'ячого молока поряд з іншими методами визначення показників безпеки (кількості соматичних клітин, мікотоксинів, пестицидів тощо) [3].

Даний спосіб має перевагу перед існуючими методами визначення безпеки сирого коров'ячого молока тому, що результати мають високу достовірність в оцінці кольору при визначенні бактеріального обсіменіння молока.

Джерела інформації

1. ГОСТ 23454-79 Молоко. Методы определения ингибирующих веществ. - М.: Госстандарт СССР. - 1981. - 14с.

2. ГОСТ 9225-84 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа. - М.: Госстандарт СССР. - 1986. - 16с.

3. ДСТУ 3662-97 Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі. - К.: Держстандарт. - 1997. - 8с.