



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **81820** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/04** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2013 01254</b>	(72) Винахідник(и): <b>Богатко Надія Михайлівна (UA), Сахнюк Наталія Іванівна (UA), Голуб Ольга Юріївна (UA), Щуревич Григорій Панасович (UA), Богатко Леонід Мечиславович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>04.02.2013</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.07.2013</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.07.2013, Бюл.№ 13</b>	(73) Власник(и): <b>Богатко Надія Михайлівна, вул. Академіка Вула, 6, кв. 97, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA), Сахнюк Наталія Іванівна, вул. Героїв Чорнобиля, 7, кв. 54, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA), Голуб Ольга Юріївна, вул. Комсомольська, 45, кв. 334, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA), Щуревич Григорій Панасович, вул. Щорса, 45, кв. 191, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA), Богатко Леонід Мечиславович, вул. Академіка Вула, 6, кв. 97, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA)</b>

## (54) СПОСІБ ВДОСКОНАЛЕННЯ ВИЗНАЧЕННЯ ІНГІБУВАЛЬНИХ РЕЧОВИН У СИРОМУ КОРОВ'ЯЧОМУ МОЛОЦІ З ІНДИКАТОРОМ РЕЗАЗУРИНОМ

### (57) Реферат:

Спосіб вдосконалення визначення інгібувальних речовин у сирому коров'ячому молоці з індикатором резазурином включає використання 10,0-10,2 см<sup>3</sup> молока, підігрітого на водяній бані за температури 85-90 °С та охолодження його до температури 43-45 °С. Використовують робочу тест-культуру *Streptococcus thermophilus* у кількості 0,4-0,5 см<sup>3</sup> та витримують на водяній бані упродовж 1 год. 30 хв -1 год. 40 хв за температури 43-44 °С. Потім у пробірку вносять 0,5-0,6 см<sup>3</sup> розчину резазурину натрієвої солі з масовою концентрацією 0,1 % за температури 20-21 °С, перемішуючи триразовим перевертанням і витримуючи на водяній бані упродовж 10-11 хвилин за температури 43-44 °С, і в подальшому оцінюють інтенсивність забарвлення в пробірці.

UA 81820 U



Корисна модель належить до сільського господарства, зокрема до ветеринарної медицини, і може бути використана для визначення інгібувальних речовин у сирому коров'ячому молоці у виробничих лабораторіях на потужностях з переробки молока, в державних лабораторіях ветеринарної медицини, на пунктах збору сирого коров'ячого молока, на суб'єктах господарювання по отриманню молока (фермах) та в лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи на агропродовольчих ринках. За результатами цього метода можна отримати кількісні показники при оцінці безпеки сирого коров'ячого молока.

Аналогом корисної моделі є метод визначення бактеріального обсіменіння сирого коров'ячого молока [1], в якому використовують робочий розчин резазурину натрієвої солі в кількості 1 см<sup>3</sup> і 10 см<sup>3</sup> досліджуваного сирого коров'ячого молока і витримують в редуктазнику за температури (37±1) °C упродовж 1,0-1,30 год. По довготривалості зміни забарвлення оцінюють бактеріальне обсіменіння молока. Недоліком даного методу є те, що він громіздкий, довготривалий, а також метод дає похибку у визначеннях від 15 до 20 %.

Прототипом корисної моделі є метод визначення інгібувальних речовин (антибіотиків, формаліну, перексиду водню тощо) у сирому коров'ячому молоці за допомогою органічного барвника резазурина натрієвої солі [2], який відновлюється при розвитку в молоці чутливих до інгібувальних речовин мікроорганізмів виду *Streptococcus thermophilus*. Недоліком даного методу є те, що розчин суміші для аналізу готується у великій кількості, низької концентрації і нестійкий. Крім цього даний метод довготривалий і дає похибку у 10-15 % під час проведення аналізу.

В основу даної корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб вдосконалення визначення інгібувальних речовин в сирому коров'ячому молоці з індикатором резазурином шляхом зміни концентрації та кількості робочого розчину резазурину натрієвої солі, температури та часу проведення дослідження, що забезпечить достовірність результатів при визначенні інгібувальних речовин в сирому коров'ячому молоці.

Задача вирішується тим, що в стерильну пробірку наливають 10,0-10,2 см<sup>3</sup> досліджуваного сирого коров'ячого молока і прогрівають на водяній бані за температури 85-90 °C, потім вміст пробірки охолоджують до 43-45 °C і стерильною піпеткою вносять у пробірку 0,4-0,5 см<sup>3</sup> робочої тест-культури *Streptococcus thermophilus*, вміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують упродовж 1 год. 30 хв-1 год., 40 хв на водяній бані за температури 43-44 °C. Потім у пробірку вносять 0,5-0,6 см<sup>3</sup> розчину резазурину натрієвої солі з масовою концентрацією 0,1 % за температури 20-21 °C, вміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують на водяній бані упродовж 10-11 хвилин за температури 43-44 °C та в подальшому оцінюють забарвлення в пробірці.

Етапи вирішення даної задачі наведено у нижчезазначених прикладах.

Приклад 1. Для розробки методу в стерильну пробірку наливають 8,0-8,2 см<sup>3</sup> досліджуваного сирого коров'ячого молока і прогрівають на водяній бані за температури 70-75 °C, потім вміст пробірки охолоджують до 41-42 °C і стерильною піпеткою вносять у пробірку 0,3-0,4 см<sup>3</sup> робочої тест-культури *Streptococcus thermophilus*. Вміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують упродовж 2 год.-2 год. 10 хв на водяній бані за температури 38-39 °C. Потім у пробірку вносять 1,0-1,1 см<sup>3</sup> розчину резазурину натрієвої солі з масовою концентрацією 0,05 % за температури 18-20 °C, знову вміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують на водяній бані упродовж 15-16 хвилин за температури 38-39 °C та в подальшому оцінюють забарвлення в пробірці. За відсутності інгібувальних речовин - досліджуване молоко буде рожевим або білим; за наявності інгібувальних речовин - синьо-фіолетовим або фіолетовим.

Приклад 2. Для розробки методу в стерильну пробірку наливають 9,0-9,2 см<sup>3</sup> досліджуваного сирого коров'ячого молока і прогрівають на водяній бані за температури 80-85 °C, потім вміст пробірки охолоджують до 40-41 °C і стерильною піпеткою вносять у пробірку 0,5-0,6 см<sup>3</sup> робочої тест-культури *Streptococcus thermophilus*. Вміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують упродовж 2 год. 20 хв-2 год. 30 хв на водяній бані за температури 40-41 °C. Потім у пробірку вносять 1,5-1,6 см<sup>3</sup> розчину резазурину натрієвої солі з масовою концентрацією 0,1 % за температури 22-23 °C, знову вміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують на водяній бані упродовж 13-14 хвилин за температури 40-41 °C та в подальшому оцінюють забарвлення в пробірці. За відсутності інгібувальних речовин - досліджуване молоко буде рожевим або білим; за наявності інгібувальних речовин - синьо-фіолетовим або фіолетовим.

Приклад 3. Для розробки методу в стерильну пробірку наливають 10,0-10,2 см<sup>3</sup> досліджуваного сирого коров'ячого молока і прогрівають на водяній бані за температури 85-90 °C, потім вміст пробірки охолоджують до 43-45 °C і стерильною піпеткою вносять у пробірку 0,4-

0,5 см<sup>3</sup> робочої тест-культури *Streptococcus thermophilus*. Уміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують упродовж 1 год. 30 хв-1 год. 40 хв на водяній бані за температури 43-44 °С. Потім у пробірку вносять 0,5-0,6 см<sup>3</sup> розчину резазурину натрієвої солі з масовою концентрацією 0,1 % за температури 20-21 °С, знову уміст пробірки перемішують триразовим перевертанням і витримують на водяній бані упродовж 10-11 хвилин за температури 43-44 °С та в подальшому оцінюють забарвлення в пробірці. За відсутності інгібувальних речовин - досліджуване молоко буде рожевим або білим; за наявності інгібувальних речовин - синьо-фіолетовим або фіолетовим.

Порівняльна оцінка результатів випробування вищезазначених способів вдосконалення визначення інгібувальних речовин у сирому коров'ячому молоці з індикатором резазурином до прототипу наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Порівняння способів вдосконалення визначення  
інгібувальних речовин у сирому коров'ячому молоці до прототипу

№ п/п	Показники, що порівнюються	Прототип	Приклади		
			1	2	3
1	2	3	4	5	6
1	Складові методу: Проба молока, см <sup>3</sup>	10,0	8,0-8,2	9,0-9,2	10,0-10,2
	Температура водяної бані, °С	85-90	70-75	80-85	85-90
	Охолодження проби молока, °С	43-45	41-42	40-41	43-45
2	Додавання робочої тест- культури <i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i> , см <sup>3</sup>	0,3	0,3-0,4	0,3-0,4	0,3-0,4
	Кількість перемішувань умісту пробірки	3 рази	3 рази	3 рази	3 рази
	Експозиція на водяній бані, хв., год.	2 год.	2 год.-2 год. 10 хв	2 год. 20 хв-2 год. 30 хв	1 год. 30 хв-1 год. 40 хв
	Температура на водяній бані, °С	42-43	38-39	40-41	43-44
3	Додавання робочого розчину резазурину натрієвої солі кількість, см <sup>3</sup>	1,0	1,0-1,1	1,5-1,6	0,5-0,6
	концентрація, %	0,05	0,05	0,1	0,1
	Температура розчину, °С	18-20	18-20	22-23	20-21
	Кількість перемішувань умісту пробірки	2 рази	3 рази	3 рази	3 рази
4	Температура на водяній бані, °С	42-43	38-39	40-41	43-44
	Експозиція на водяній бані, хв	15	15-16	13-14	10-11
5	Тривалість визначення досліджу, год.	2 год. 30 хв-3 год. 10 хв	2 год. 30 хв-3 год. 10 хв	2 год. 50 хв-3 год. 20хв	2 год.-2 год. 10 хв
6	Стабільність показників визначення інгібувальних речовин в молоці, %	85,8	65,2	63,3	97,5
7	% співвідношення результатів досліджень до визначення бактеріального обсіменіння молока	89,0-90,5	76,3-77,1	78,0-79,5	94,2-95,5
8	% співвідношення результатів досліджень до визначення ферменту пероксидази	87,5-89,5	74,6-75,5	77,4-78,0	96,0-97,1

Дані таблиці 1 свідчать, що більш достовірні дані по стабільності показників визначення інгібувальних речовин в сирому коров'ячому молоці - 97,5 % були отримані при застосуванні

способу за прикладом № 3 в порівнянні до прототипу. Також більш достовірні дані в порівнянні до результатів досліджень по визначенню бактеріального обсіменіння молока - у 94,2-95,5 % [1] та до результатів досліджень по визначенню ферменту пероксидази в молоці - у 96,0-97,1 % [3] були отримані при застосуванні методу за прикладом № 3.

- 5 Використовуючи метод за прикладом № 3, ми визначили інгібувальні речовини у сирому коров'ячому молоці з індикатором резазурином на 38 пробах сирого коров'ячого молока. Попередньо досліджувані проби молока досліджували експресними хімічними методами на наявність формаліну, пероксиду водню, хлору, соди та пеніциліну [4]. Із 38 досліджуваних проб молока у 12 проб - були відсутні інгібувальні речовини; у 5 пробах молока а виявили наявність формаліну; у 6 пробах - наявність пероксиду водню; у 8 пробах - наявність соди; у 4 пробах - наявність хлорки і у 3 пробах молока - наявність пеніциліну. Результати наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Оцінка результатів при визначенні інгібувальних речовин в сирому коров'ячому молоці за розробленим методом

№ п/п	Досліджувані проби молока	Кількість проб	Наявність інгібіторів за експресними хімічними методами	Оцінка розробленого методу визначення інгібіторів за прикладом № 3
1.	Молока	12	відсутні	Колір білий з рожевим відтінком
2.	Молоко	5	формалін	Колір синьо-фіолетовий
3.	Молоко	6	пероксид водню	Колір фіолетовий
4.	Молоко	8	сода	Колір синьо-фіолетовий
5.	Молоко	4	хлорка	Колір синьо-фіолетовий
6.	Молоко	3	пеніцилін	Колір фіолетовий

- 15 Проведеними дослідженнями визначено, що найбільш стабільний колір при визначенні наявних в молоці інгібувальних речовин (формаліну, пероксиду водню, соди, хлорка, пеніцилін) - від синьо-фіолетового до фіолетового та відсутності інгібувальних речовин - від білого до рожевого був за розробленим методом за прикладом № 3. Крім цього даний метод є ефективний та скорочує термін проведення дослідження, а його результати дають достовірні якісні показники за кольором при визначенні різних інгібувальних речовин у молоці.

- 20 Метод за прикладом № 3 нами пропонується як якісний спосіб вдосконалення визначення інгібувальних речовин в сирому коров'ячому молоці з індикатором резазурином поряд з іншими методами визначення якості молока (визначення бактеріального обсіменіння молока, визначення ферменту пероксидази, визначення вміст кількості соматичних клітин [5]).

- 25 Даний спосіб має перевагу перед існуючими методами визначення якості молока в тому, що результати мають високу достовірність в оцінці кольору при визначенні інгібувальних речовин в сирому коров'ячому молоці.

Джерела інформації:

- 30 1. ГОСТ 9225-84 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа. - М.: Госстандарт СССР, 1986.-16 с. (Межгосударственный стандарт).  
 2. ГОСТ 23454-79 Молоко. Методы определения ингибирующих веществ. - М.: Госкомитет по стандартам СССР, 1981.-14 с. (Межгосударственный стандарт).  
 3. ГОСТ 3623-73 Молоко. Методы определения пастеризации. - М.: Госкомитет по стандартам СССР, 1973.-12 с. (Межгосударственный стандарт).  
 4. ДСТУ 3662-97 Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі. - К.: Держстандарт, 1997.-8 с. (Національний стандарт України).  
 35 5. ГОСТ 23453-90 Молоко. Методы определения количества соматических клеток. - М.: Госкомитет по стандартам СССР, 1990.-6 с. (Межгосударственный стандарт).

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 40 Спосіб вдосконалення визначення інгібувальних речовин у сирому коров'ячому молоці з індикатором резазурином, що включає використання 10,0-10,2 см<sup>3</sup> молока, підігрітого на водяній бані за температури 85-90 °С та охолодження його до температури 43-45 °С, який **відрізняється** тим, що використовують робочу тест-культуру *Streptococcus thermophilus* у кількості 0,4-0,5 см<sup>3</sup> та витримують на водяній бані упродовж 1 год. 30 хв -1 год. 40 хв за температури 43-44 °С, потім у пробірку вносять 0,5-0,6 см<sup>3</sup> розчину резазурину натрієвої солі з

масовою концентрацією 0,1 % за температури 20-21 °С, перемішуючи триразовим перевертанням і витримуючи на водяній бані упродовж 10-11 хвилин за температури 43-44 °С, і в подальшому оцінюють інтенсивність забарвлення в пробірці.

---

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601