

使用乳过氧化物酶系统保存原奶的指南

CAC/GL 13-1991

序言

奶是一种易腐原料。污染细菌可能会迅速繁殖，使奶不适合加工和/或不适合人类消费。冷藏可以减缓细菌的生长，从而减缓变质的速度。在某些条件下，由于经济和/或技术原因，制冷可能不可行。在建立或扩大牛奶生产的国家的某些地区，冷藏应用方面的困难尤其是一个问题。在这些情况下，在原奶收集和运输到乳品加工厂期间采用冷藏之外的方法阻止细菌的生长将是有益的。

1967年，粮农组织/世卫组织牛奶质量专家小组得出结论，在有组织的乳制品行业发展的早期阶段，使用过氧化氢可能是一种可接受的替代方法，但必须符合某些条件。然而，这种方法并没有被普遍接受，因为它有几个缺点，其中最重要的是对其使用难以控制：它可能被滥用，以掩盖在卫生条件差的情况下生产的卫生质量低的牛奶。在牛奶中使用相对高浓度的过氧化氢在毒理学方面也受到质疑。

在某些情况下，用化学方法保存牛奶仍然具有很大的优势。因此，对这种方法的探索仍在继续。最近的兴趣集中在牛奶中的本地抗菌系统上，以确定这些系统是否可以实际应用于保存原奶。在过去十年中，基础和应用研究表明，此类系统之一，即乳过氧化物酶/硫氰酸盐/过氧化氢系统（LP系统），可成功用于此目的。

1. 范围

1.1 本操作规范描述了如何使用乳过氧化物酶系统防止原奶（牛奶和水牛奶）在收集和运输到乳品加工厂的过程中发生细菌导致的变质。本操作规范描述了该方法的原理、适用的情况、以及实际应用和控制。需要强调的是，这种方法应当仅仅用于原奶冷藏不可行的情况。

2. 方法原理

2.1 乳过氧化物酶/硫氰酸盐/过氧化氢系统是牛奶和人类唾液中的固有抗菌系统。乳过氧化物酶在牛奶和水牛奶中的浓度相对较高。它可以在过氧化氢环境中氧化硫氰酸根离子。通过该反应，硫氰酸盐转化为次硫氰酸（HOSCN）。在牛奶的pH值下HOSCN解离，并主要以次硫氰酸根离子（OSCN）的形式存在。该试剂与游离巯基发生特异性反应，从而使几种重要的代谢细菌酶失活，从而阻止它们的新陈代谢和繁殖能力。由于牛奶蛋白质含有很少的巯

基，而且存在的巯基相对于OSCN（掩蔽）难以接近，因此该化合物在牛奶中的反应非常具体，并且针对牛奶中的细菌。

- 2.2 对细菌的作用取决于菌种和菌株。对以嗜温细菌为主的混合原奶菌群，有抑菌作用（主要是抑制性的）。对一些革兰氏阴性菌，即假单胞菌、大肠杆菌有杀菌作用。由于该系统的作用主要是抑菌，应用这种方法无法掩盖原本含有大量细菌的劣质牛奶。
- 2.3 硫氰酸盐的抗菌氧化产物在中性pH值下不稳定。任何多余的氧化产物都会自发分解为硫氰酸盐。该反应的速度取决于温度，即在较高温度下更快。牛奶的巴氏杀菌将确保完全去除任何残留的高密度活性氧化产物。
- 2.4 当牛奶离开乳房时，硫氰酸盐不会在很大程度上发生氧化。然而，它可以通过添加小浓度的过氧化氢来启动（见第4节）。用于保存牛奶的高浓度过氧化氢（300-800 ppm）会破坏乳过氧化物酶，从而阻止硫氰酸盐的氧化。因此，使用这种方法时，抗菌作用是过氧化氢本身的作用。
- 2.5 LP系统的抗菌作用在一定限度内与牛奶中的硫氰酸盐浓度成正比（前提是提供等摩尔量的过氧化氢）。牛奶中硫氰酸盐的含量与动物的饲料有关，因此可能会有差异。因此，该方法在实际应用中需要添加一些硫氰酸盐，以确保牛奶中存在达到预期效果所需的硫氰酸盐水平。
- 2.6 在某些情况和喂养方式下，通过这种处理产生的硫氰酸盐水平在牛奶中报告的生理水平范围内。它们也远低于已知存在于人类唾液和某些常见蔬菜（例如卷心菜和花椰菜）中的硫氰酸盐水平。此外，临床实验结果清楚地表明，采用这种方法处理的牛奶不会对甲状腺的碘摄取造成任何干扰，无论是在碘状态正常还是在缺碘的情况下。

3. 方法的预期用途

- 3.1 只有在技术、经济和/或实际原因不允许使用冷却设施来保持原奶质量的情况下才应使用此种方法。在目前缺乏足够的液态奶收集基础设施的地区使用LP系统将确保牛奶生产提供一种安全和健康的食品，否则这几乎是不可能的。
- 3.2 该方法不应由个体农户使用，而应在合适的收集点/中心使用。这些中心必须配备适当的设施来清洁和消毒用于存放和运输牛奶的容器。
- 3.3 负责收集牛奶的人员应负责牛奶的处理。他们应该接受适当的培训，包括一般牛奶卫生知识培训，以便他们能够以正确的方式完成这项工作。
- 3.4 对使用乳过氧化物酶系统收集的牛奶进行加工的乳品企业应负责确保方法按照要求使用。乳品企业应建立适当的控制方法（见第5节），以在加工前监测方法的使用、原奶质量和牛奶质量。
- 3.5 该方法应主要用于防止在3.1中规定的条件下收集和运输到乳品加工厂过程中原奶中的细菌过度繁殖。处理的抑制效果取决于储存牛奶的温度，并且在实验室和不同国家进行的现场实验中发现在以下时段内起作用，原奶应符合良好的初始卫生标准：

温度 °C	时间：小时
30	7-8
25	11-12
20	16-17
15	24-26

- 3.6 使用乳过氧化物酶法并不排除在人类食用前对牛奶进行巴氏杀菌的必要性。这种方法也不排除为确保原奶的高卫生标准而采用的正常预防措施和处理程序。

4. 方法的实际应用

- 4.1 通过以下程序，经由添加硫氰酸盐（以硫氰酸钠的形式）和过氧化氢（以过碳酸钠的形式），可以激活原奶中的乳过氧化物酶系统，产生上述抗菌作用：

- 每升牛奶添加**14毫克**硫氰酸钠（NaSCN）。然后应混合牛奶以确保硫氰酸根离子（SCN⁻）均匀分布。通常用干净的柱塞塞住大约一分钟即可取得令人满意的结果。
 - 其次，每升牛奶添加**30毫克**过碳酸钠。然后再搅拌牛奶**2-3分钟**，确保过碳酸钠完全溶解，过氧化氢均匀分布在牛奶中。
- 4.2 硫氰酸钠和过碳酸钠必须按上述顺序加入。当添加过氧化氢（过碳酸钠）时，牛奶中的酶促反应就开始了。反应在加入过氧化氢（H₂O₂）后约**5分钟**内完成；此后，牛奶中不存在过氧化氢。
- 4.3 乳过氧化物酶系统的激活应在挤奶后**2-3小时**内进行。
- 4.4 处理大量牛奶（例如用**40或50升**的牛奶搅拌器）所需的硫氰酸钠和过碳酸钠的数量应以预先包装的数量分配到收集中心/点，每次送货量应可持续数周。应使用的硫氰酸盐和过碳酸钠的技术指标见附录一和附录二。

5. 使用控制

- 5.1 接收牛奶的乳品加工厂必须对使用乳过氧化物酶系统保存原奶的操作加以控制。控制方法应该是当前使用的验收测试的组合，例如可滴定酸度、亚甲蓝、刃天青、总活菌计数和对牛奶中硫氰酸盐浓度的分析。由于硫氰酸盐在反应中没有被消耗，因此到达乳品厂的处理过的牛奶每升中含有的硫氰酸盐比天然量高出大约**10毫克**（后者可以通过分析来自同一地区的未经处理的牛奶来确定）。SCN⁻的分析方法见附录三“测试”。应随机进行。如果硫氰酸盐的浓度过高（或过低），则必须进行调查，以确定浓度超出规定的原因。乳品加工厂还应负责控制收集中心用于激活乳过氧化物酶系统的化学品。
- 5.2 还应进行牛奶的细菌学质量分析（亚甲蓝、刃天青、总菌数），以确保良好的卫生标准不会被忽视。由于该系统的作用主要是抑菌，因此此类测试仍可揭示牛奶中最初的高菌群。

附录一

硫氰酸钠的技术指标

定义

化学名称	硫氰酸钠
化学式	NaSCN
分子量	81.1
含量	98 - 99%
湿度	1 - 2%

纯度 (根据JECFA*规格)

重金属 (Pb)	< 2 ppm
硫酸盐 (SO ₄)	< 50 ppm
硫化物 (S)	< 10 ppm

* 联合粮农组织/世卫组织食品添加剂专家委员会

附录二

过碳酸钠技术指标

定义

化学名称	过碳酸钠 (*)
化学式	2Na ₂ CO ₃ ·3H ₂ O ₂
分子量	314.0
含量	85%

推荐使用的市售过碳酸钠的规格如下:

过氧化碳酸钠 > 85%

重金属 (Pb) < 10 ppm

砷 (As) < 3 ppm

(*) 有关过碳酸钠可通过商业途径获得的信息, 请向IDF总秘书处申请: Silver Building, Blvd. A. Reyers 70/B, B-1030 Brussels, Belgium

附录三

牛奶中硫氰酸盐分析

原理

脱蛋白后，牛奶中的硫氰酸盐可用三氯乙酸（TCA）作为三价铁络合物通过测量460 nm处的吸光度来确定。这种方法的最低检测水平是1-2 ppm SCN⁻。

试剂溶液

1. 20% (w/v) 三氯乙酸：将20克TCA在100毫升蒸馏水中溶解后过滤。
2. 硝酸铁试剂：将16.0克硝酸铁九水合物（Fe(NO₃)₃·9H₂O）在50毫升异氰酸（2 M HNO₃）*中溶解，然后用蒸馏水稀释至100毫升。溶液应避光冷藏。
* 2M HNO₃是通过用蒸馏水将138.5毫升65% HNO₃稀释至1,000毫升获得的。

测定

将4.0毫升牛奶与2.0毫升20%三氯乙酸（TCA）溶液混合。将混合物充分混合，然后静置至少30分钟。然后用合适的滤纸（Whatman No. 40）过滤。再将1.5毫升澄清滤液与1.5毫升硝酸铁试剂混合，并在460 nm处测量吸光度。作为空白，使用1.5毫升硝酸铁溶液和1.5毫升水的混合物。测量必须在加入硝酸铁溶液后10分钟内进行，因为有色混合物在任何时间长度内都不稳定。然后通过已知硫氰酸盐浓度的标准溶液（例如10、15、20和30 μg/ml）进行比较，来确定硫氰酸盐的浓度。