CODEX ALIMENTARIUS
INTERNATIONAL FOOD STANDARDS

منظمة الأغذية والزراعة
للأمم المتحدة

منظمة
الصحة العالمية

A

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

الخطوط التوجيهية بشأن حفظ الحليب الخام باستخدام نظام اللاكتوبروكسيديز

CXG 13-1991

مقدمة

الحليب مادة خام قابلة للتلف بسهولة. فقد تتكاثر الجراثيم الملوِثة بسرعة وتجعلها غير مناسبة للتجهيز و/أو غير صالحة للاستهلاك البشري. يمكن تأخير النمو الجرثومي عن طريق التبريد، وبالتالي إبطاء معدل التلف. ولكن في ظل ظروف معينة قد لا يكون التبريد ممكناً لأسباب اقتصادية و/أو فنية. وتُعتبر الصعوبات في تطبيق التبريد مشكلة، خصوصاً لمناطق معينة في بلدان تكون في طَور إنشاء صناعة إنتاج الحليب أو توسيعها. في هذه الحالات، من المفيد الاستعانة بطريقة أخرى غير التبريد، لتأخير نمو الجراثيم في الحليب الخام أثناء تجميع الحليب ونقله إلى مصنع تجهيز الألبان.

في عام 1967، خلص فريق الخبراء المشترك بين منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية والمعني بجودة الحليب إلى أن استخدام بيروكسيد الهيدروجين قد يكون بديلاً مقبولاً في المراحل الأولى من تطوير صناعة الألبان المنظمة، شريطة الالتزام بشروط معينة. ومع ذلك، لم تحظَ هذه الطريقة بأي قبول عام، حيث إنها مشوبة بعيوب عديدة، أهمها صعوبة التحكم باستخدامها: فقد يتم إساءة استخدامها لإخفاء الجودة البكتريولوجية غير المرضية للحليب المنتَج في ظل ظروف صحية سيئة. كما تم التشكيك في الجوانب السمية لاستخدام تركيزات عالية نسبياً من بيروكسيد الهيدروجين في الحليب.

وعلى الرغم من ذلك، تظل الطريقة الكيميائية لحفظ الحليب ذات فائدة كبيرة في حالات معينة. لذلك، استمر البحث عن طريقة من هذا القبيل. وقد تركّز الاهتمام مؤخراً على الأنظمة المضادة للجراثيم المتواجدة داخل الحليب لتحديد ما إذا كان يمكن تطبيقها عملياً للحفاظ على الحليب الخام. وخلال العقد الماضي، أثبتت الأبحاث الأساسية والتطبيقية أن أحد هذه الأنظمة وهو نظام اللاكتوبيروكسيديز/ ثيوسيانات/ بيروكسيد الهيدروجين (نظام LP) يمكن استخدامه بنجاح لهذا الغرض.

1. النطاق

1.1 تصف مدونة الممارسات هذه استخدام نظام اللاكتوبيروكسيديز لمنع تلف الحليب الخام (المستخرج من الأبقار والجاموس) بالجراثيم، أثناء جمعه ونقله إلى مصنع تجهيز الألبان. وتصف المبادئ التي تعتمد عليها الطريقة، والحالات التي يُمكن استخدامها فيها، وتطبيقها العملي والتحكم فيها. ويجب التأكيد على أنه يتعين استخدام هذه الطريقة عندما يكون تبريد الحليب الخام غير ممكن.

2. مبادئ هذه الطريقة

2.1 إن نظام اللاكتوبروكسيديز/ ثيوسيانات/ بيروكسيد الهيدروجين هو نظام مضاد للجراثيم متواجد داخل الحليب واللعاب البشري. يتواجد إنزيم اللاكتوبيروكسيديز في حليب الأبقار والجاموس بتركيزات عالية نسبياً. ويمكنه أكسدة أيونات الثيوسيانات بوجود بيروكسيد الهيدروجين. من خلال هذا التفاعل، تتحول الثيوسيانات إلى حمض الهيبوثيوسيانات (HOSCN). عند الرقم الهيدروجيني للحليب، يتفكك حمض الهيبوثيوسيانات ويتواجد بشكل أساسي في شكل أيونات الهيبوثيوسيانات ($OSCN^-$). يتفاعل هذا العامل بالتحديد مع مجموعات السلفيدريل الكبريتية الحرة، مما يعطل عمل العديد من الإنزيمات اللازمة لاستقلاب الخلايا الجرثومية، وبالتالي نموها. وبما أن بروتينات الحليب تحتوي على كمية ضئيلة للغاية من مجموعات السلفيدريل وتلك الموجودة لا يمكنها الوصول نسبياً إلى أيونات الهيبوثيوسيانات ($OSCN^-$) (المقنَّع)، يكون تفاعل هذا المركّب في الحليب محدداً للغاية وموجهاً ضد البكتيريا الموجودة في الحليب.

2.2 إن التأثير على البكتيريا يعتمد على النوع والسلالة. بالنسبة لفلورا الحليب الخام المختلطة التي تهيمن عليها البكتيريا أليفة الحرارة المعتدلة (mesophilic bacteria)، يكون التأثير كابحاً للجراثيم (مثبط في الغالب). أما بالنسبة لبعض البكتيريا سالبة الجرام، مثل الزائفة (pseudomonas) والإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)، فيكون التأثير مبيداً للجراثيم. ونظراً للتأثير الكابح للجراثيم الغالب للنظام، لا يمكن التستر عن الحليب الرديء الجودة الذي كان يحتوي في الأصل على عدد كبير من الجراثيم من خلال تطبيق هذه الطريقة.

2.3 إن منتجات أكسدة الثيوسيانات المضادة للجراثيم ليست مستقرة عند درجة الحموضة المحايدة، بحيث يتحلل أي فائض المنتجات تلقائياً إلى ثيوسيانات. وتعتمد سرعة هذا التفاعل على درجة الحرارة، فتكون أكثر سرعة في درجات الحرارة المرتفعة. وتضمن بسترة الحليب التخلص الكامل من أي تركيزات متبقية من منتجات الأكسدة النشطة.

2.4 لا تحصل أكسدة الثيوسيانات إلى حدٍ كبير في الحليب بعد خروجه من الضرع. إلا أنه يمكن إطلاقها من خلال إضافة بيروكسيد الهيدروجين بمستويات تركيز صغيرة (أنظر القسم 4). وتؤدي مستويات التركيز العالية لبيروكسيد الهيدروجين المستخدَمة لحفظ الحليب (300-800 جزء في المليون) إلى تدمير إنزيم اللاكتوبيروكسيديز وبالتالي تمنع أكسدة الثيوسيانات. في هذه الطريقة، يكون التأثير المضاد للجراثيم هو تأثير بيروكسيد الهيدروجين نفسه.

2.5 يتناسب التأثير المضاد للجراثيم في نظام اللاكتوبيروكسيديز، ضمن حدود معينة، مع تركيز الثيوسيانات في الحليب (بشرط توفير كمية متساوية الجزيئات من بيروكسيد الهيدروجين). ويرتبط مستوى الثيوسيانات في الحليب بكيفية تغذية الماشية، وبالتالي يمكن أن يختلف. وعليه، فإن الاستخدام العملي لهذه الطريقة يتطلب إضافة بعض الثيوسيانات لضمان وجود المستوى الضروري لتحقيق التأثير المطلوب في الحليب.

2.6 تكون مستويات الثيوسيانات الناتجة عن طريقة المعالجة هذه ضمن المستويات الفسيولوجية التي تُسجَّل في اللبن في ظل ظروف وأنظمة تغذية معينة. كما أنها أقل بكثير من مستويات الثيوسيانات الموجودة في لعاب الإنسان وبعض الخضروات الشائعة، مثل الملفوف والقرنبيط. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت نتائج التجارب السريرية بوضوح أن الحليب المعالَج وفقاً لهذه الطريقة لا يؤثر بتاتاً على امتصاص الغدة الدرقية لمادة اليود، لا في الأشخاص الذين يتمتعون بمستويات طبيعية من اليود ولا في حالات نقص اليود.

3. الاستخدام المتوخى للطريقة

3.1 يجب استخدام هذه الطريقة فقط في الحالات التي لا تسمح فيها الأسباب الفنية والاقتصادية و/أو العملية باستخدام مرافق التبريد للحفاظ على جودة الحليب الخام. ومن شلأن استخدام نظام اللاكتوبروكسيديز في المناطق التي تفتقر حالياً إلى بنية تحتية مناسبة لجمع الحليب السائل أن يضمن إنتاج الحليب كغذاء آمن وصحي، الأمر الذي يكون شبه مستحيل لولا ذلك.

3.2 لا ينبغي استخدام هذه الطريقة من قبل المزارعين الأفراد إلا في نقطة/ مركز تجميع مناسب. ويجب أن تكون هذه المراكز مجهزة بمرافق مناسبة لتنظيف وتعقيم الأوعية المستخدمة لحمل الحليب ونقله.

3.3 يجب أن يكون العمال المسؤولون عن جمع الحليب مكلفين بمعالجته. ويجب أن يحصلوا على التدريب المناسب، بما في ذلك التدريب على النظافة العامة للحليب، لتمكينهم من إتمام ذلك بطريقة صحيحة.

3.4 يجب أن يكون مصنع الألبان الذي يعالج الحليب باستخدام نظام اللاكتوبيروكسيداز مسؤولاً عن ضمان استخدام الطريقة على النحو المقصود. ويجب أن يتّبع طرق رقابة مناسبة (أنظر القسم 5) لمراقبة استخدام الطريقة وجودة الحليب الخام وجودة الحليب قبل المعالجة.

3.5 يجب استخدام الطريقة بشكل أساسي لمنع تكاثر الجراثيم غير المبرر في الحليب الخام أثناء الجمع والنقل إلى مصنع معالجة الألبان وفق الشروط المنصوص عليها في الفقرة 1.3. ويعتمد التأثير المثبط للمعالجة على درجة الحرارة التي يتم تخزين الحليب عندها، وقد بينت التجارب التي أجريت في بلدان مختلفة، سواء في المختبر أو في الميدان، على الحليب الخام ذات الجودة البكتريولوجية المُرضية أن مفعول التأثير المثبط يبقى سارياً للفترات الزمنية التالية:

الحرارة (درجة مئوية)	الوقت (بالساعات)
30	8-7
25	12-11
20	17-16
15	26-24

3.6 لا يستبعد استخدام طريقة اللاكتوبيروكسيديز ضرورة بسترة الحليب قبل الاستهلاك البشري. كما أنه لا يستبعد اتخاذ الإجراءات الوقائية الاعتيادية وإجراءات المناولة المطبَّقة لضمان درجة عالية من النظافة في الحليب الخام.

4. التطبيق العملي لهذه الطريقة

4.1 يمكن تنشيط نظام لاكتوبيروكسيديز في الحليب الخام لتوليد التأثير المضاد للجراثيم المذكور أعلاه، عن طريق إضافة الثيوسيانات مثل ثيوسيانات الصوديوم وبيروكسيد الهيدروجين على شكل بيركربونات الصوديوم (sodium percarbonate) من خلال اتباع الإجراء التالي:

- يُضاف 14 ملغ من ثيوسيانات الصوديوم لكل لتر من الحليب. يجب بعد ذلك خلط الحليب لضمان التوزيع المتساوي لشاردة الثيوسيانات -SCN. وعادةً ما يكون الغمر لمدة دقيقة واحدة بمكبس نظيف أمراً مُرضياً.
- ثانياً، يُضاف 30 ملغ من بيركربونات الصوديوم (sodium percarbonate) لكل لتر من الحليب. ثم يتم تحريك الحليب لمدة دقيقتين أو ثلاث دقائق إضافية للتأكد من أن بيركربونات الصوديوم قد ذاب بشكل كامل وأن بيروكسيد الهيدروجين قد توزع بالتساوي في الحليب.

4.2 من الضروري إضافة ثيوسيانات الصوديوم وبيركربونات الصوديوم بالترتيب المذكور أعلاه. يبدأ التفاعل الأنزيمي في الحليب عند إضافة بيروكسيد الهيدروجين (بيركربونات الصوديوم). ويكتمل في غضون حوالى 5 دقائق بعد إضافة بيروكسيد الهيدروجين؛ بعد ذلك، لا يوجد أثر لبيروكسيد الهيدروجين في الحليب.

4.3 يجب تفعيل نظام اللاكتوبيروكسيديز في غضون ساعتين إلى ثلاث ساعات من وقت الحلب.

4.4 يجب توزيع كميات ثيوسيانات الصوديوم وبيركربونات الصوديوم اللازمة لمعالجة كمية معينة من الحليب (على سبيل المثال، البراميل التي تحتوي على 40 أو 50 لتراً من الحليب)، على مركز/ نقطة التجميع بكميات معبأة مسبقاً تدوم لبضعة

أسابيع في المرة الواحدة. وترد المواصفات الفنية للثيوسيانات وبيركربونات الصوديوم التي يجب استخدامها في الملحقين الأول والثاني.

5. مراقبة الاستخدام

5.1 يجب أن يقوم مَصنع معالجة الألبان الذي يتلقى الحليب بمراقبة كيفية استخدام نظام لاكتوبيروكسيديز لحفظ الحليب الخام، وذلك من خلال مزيج من اختبارات القبول المستخدمة حالياً، مثل الحموضة القابلة للمعايرة، وأزرق الميثيلين، والريسازورين، والتعداد الكلي للبكتيريا الحية وتحاليل تركيز الثيوسيانات في الحليب. ونظراً لعدم استهلاك الثيوسيانات في التفاعل، فإن الحليب المعالَج الذي يصل إلى مصنع الألبان يحتوي على ما يقارب 10 ملغ فوق الكمية الطبيعية للثيوسيانات (التي يمكن تحديدها من خلال تحليل الحليب غير المعالَج المستقدَم من المنطقة ذاتها) لكل لتر من الحليب. ويرد وصف للطريقة التحليلية لشاردة الثيوسيانات SCN^- في الملحق الثالث. ويجب إجراء الاختبار بشكل عشوائي. فإذا جاء تركيز الثيوسيانات مرتفعاً جداً (أو منخفضاً جداً)، يجب إجراء تحقيق لتحديد سبب عدم امتثال نسبة التركيز للمواصفات. كما يجب أن يكون مصنع معالجة الألبان مسؤولاً عن التحكم بالمواد الكيميائية التي سيتم استخدامها في مركز التجميع لتفعيل نظام اللاكتوبيروكسيديز.

5.2 كذلك يجب تحليل الجودة البكتريولوجية للحليب (أزرق الميثيلين، والريسازورين، والتعداد الكلي للبكتيريا) لضمان عدم إهمال المواصفات الصحية الجيدة. وبما أن تأثيرات النظام هي في الغالب كابحة للجراثيم، من الممكن الكشف عن وجود مستعمرات أولية كبيرة من البكتيريا في الحليب من خلال مثل هذه الاختبارات.

ملحق 1

المواصفات الفنية لثيوسيانات الصوديوم

التعريف

الاسم الكيميائي	ثيوسيانات الصوديوم
الصيغة الكيميائية	NaSCN
الوزن الجزيئي	81.1
محتوى الاختبار	%99-98
الرطوبة	%2-1

النقاوة (وفقاً لمواصفة لجنة الخبراء المشتركة بين منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية المعنية بالمواد المضافة الى الأغذية*)

المعادن الثقيلة (مثل الرصاص)	< 2 جزء من المليون
الكبريتات (SO_4)	< 50 جزء من المليون
الكبريتيد (S)	< 10 جزء من المليون

* لجنة الخبراء المشتركة بين منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية والمعنية بالمواد المضافة إلى الأغذية

ملحق 2

المواصفات الفنية لبيركربونات الصوديوم

التعريف

الاسم الكيميائي	بيركاربونات الصوديوم (*)
الصيغة الكيميائية	$2Na_2CO_3 \cdot 3H_2O_2$
الوزن الجزيئي	314.0
المحتوى	%85

يتميز بيركربونات الصوديوم المتاح تجارياً والموصى باستخدامه بالمواصفات التالية:

بيركربونات الصوديوم	> 85%
المعادن الثقيلة (مثل الرصاص)	< 10 جزء من المليون
الزرنيخ (As)	< 3 جزء من المليون

(*) للحصول على معلومات حول المكان الذي يمكن الاستحصال فيه على بيركربونات الصوديوم تجارياً، يُرجى تقديم طلب إلى الاتحاد الدولي لمنتجات الألبان، المبنى الفضي، جادة A. Reyers 70/B، B-1030 بروكسل، بلجيكا.

ملحق 3

تحليل الثيوسينات في الحليب

المبدأ

يمكن تحديد وجود الثيوسيانات في الحليب، بعد نزع البروتين منه، مع حمض ثلاثي كلورو الخليك (TCA) كمركّب حديديك عن طريق قياس الامتصاصية عند 460 نانومتر. ويبلغ الحد الأدنى لمستوى الكشف بهذه الطريقة 1 إلى 2 جزء في المليون من شاردة الثيوسيانات SCN-.

محاليل الكواشف

1. 20% (وزن/ حجم) حمض ثلاثي كلورو الخليك: يتم تذويب 20 غرام من ثلاثي كلورو الخليك في 100 ملل من الماء المقطّر والمصفّى.
2. كاشف نترات الحديد الثلاثي: يتم تذويب 16.0 غرام من نترات الحديد الثلاثي $Fe(NO_3)_3.9H_2O$ في 50 ملل من 2 مولار من حمض النتريك (HNO_3)* ثم يخفف بالماء المقطّر حتى 100 ملل. ويجب تخزين المحلول في مكان مظلم وبارد.

* يتم الحصول على 2 مولار من حمض النتريك ($2M\ HNO_3$) بتخفيف 138.5 ملل من محلول يحتوي على 65% من حمض النتريك بالماء المقطّر وصولاً إلى 1000 ملل.

التحديد

يتم خلط 4 ملل من الحليب مع 2 ملل من محلول يحتوي على 20% من ثلاثي كلورو الخليك (TCA). يُمزج الخليط جيداً ثم يُترك ليرتاح لمدة 30 دقيقة على الأقل. بعد ذلك، يتم ترشيحه بواسطة ورق ترشيح مناسب (Whatman No. 40). يتم بعد ذلك خلط 1.5 ملل من المحلول المرشَح الصافي مع 1.5 ملل من كاشف نترات الحديديك وتُقاس الامتصاصية عند 460 نانومتر. ويتم استخدام خليط من 1.5 ملل من محلول نترات الحديديك و1.5 ملل من الماء. ويجب إجراء القياس في غضون 10 دقائق من إضافة محلول نترات الحديديك لأن المركب الملون لا يكون مستقراً لفترة زمنية طويلة. ثم يتم تحديد تركيز الثيوسيانات من خلال المقارنة مع المحاليل القياسية لتركيز الثيوسيانات المعروف (10 و15 و20 و30 ميكروغرام/ملل من الثيوسيانات على سبيل المثال).