

C O D E X A L I M E N T A R I U S

Международные стандарты на пищевые продукты



Продовольственная и
сельскохозяйственная
организация
Объединенных Наций



Всемирная
организация
здравоохранения

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

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ЛАКТОПЕРОКСИДАЗНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ КОНСЕРВАЦИИ СЫРОГО МОЛОКА

(CAC/GL 13-1991)

ВВЕДЕНИЕ

Молоко является скоропортящимся пищевым сырьем. Быстрое размножение обсеменяющих молоко бактерий может сделать молоко непригодным для переработки и/или потребления человеком. Размножение бактерий можно замедлить за счет охлаждения, снизив тем самым скорость порчи. В некоторых обстоятельствах метод охлаждения может оказаться нереализуемым по экономическим и/или техническим причинам. Особенно остро проблема с охлаждением молока стоит в некоторых регионах стран, создающих свою молочную промышленность или наращивающих ее мощности. В таких ситуациях полезно было бы иметь в распоряжении другой метод, отличный от охлаждения, который был бы пригоден для замедления размножения бактерий в сыром молоке в процессе сбора и перевозки на молокоперерабатывающее предприятие.

В 1967 г. группа экспертов ФАО/ВОЗ по качеству молока пришла к заключению, что использование перекиси водорода может стать приемлемой альтернативой на ранних этапах развития молочной промышленности при условии соблюдения некоторых требований. Однако данный метод не получил широкого признания из-за ряда недостатков, наиболее важным из которых оказалась трудность контроля за его применением, так как этот метод может быть неправомерно использован для имитации приемлемых микробиологических показателей молока, полученного в ненадлежащих гигиенических условиях. Токсикологические аспекты использования перекиси водорода в относительно больших концентрациях также вызвали ряд вопросов.

В некоторых ситуациях химический способ консервации молока мог бы обеспечить большое преимущество, поэтому поиски такого метода продолжаются. В последнее время интерес исследователей сосредоточен на вопросах практического применения присутствующих в молоке природных антибактериальных систем для консервации сырого молока. Полученные за прошедшее десятилетие результаты фундаментальных и прикладных исследований свидетельствуют о том, что одну из этих систем, а именно лактопероксидазную систему (ЛП-систему), состоящую из лактопероксидазы, тиоцианата и перекиси водорода, можно успешно использовать для этой цели.

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

- 1.1 Настоящие нормы и правила устанавливают порядок использования лактопероксидазной системы для предотвращения бактериальной порчи сырого молока (коровьего и буйволиного) в процессе сбора и перевозки на молокоперерабатывающие предприятия. В документе описаны принципиальные основы метода, ситуации, в которых его можно использовать, порядок его практического применения и контроля за применением. Необходимо подчеркнуть, что описываемый метод следует использовать в тех случаях, когда невозможно реализовать охлаждение сырого молока.

2. ПРИНЦИПАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ МЕТОДА

- 2.1 Система лактопероксидаза/тиоцианат/перекись водорода представляет собой природную антибактериальную систему, присутствующую в молоке млекопитающих и слюне человека. Фермент лактопероксидаза присутствует в коровьем и буйволином молоке в относительно высоких концентрациях. Лактопероксидаза способна окислять тиоцианат-ионы в присутствии перекиси водорода. В результате этой реакции тиоцианат превращается в гипотиоциановую кислоту (HOSCN). При значениях pH, характерных для молока, молекулы HOSCN диссоциируют, и это соединение присутствует в основном в виде гипотиоцианат-ионов (OSCN⁻). Образовавшиеся ионы специфически реагируют со свободными сульфгидрильными группами, инактивируя тем самым ряд важных ферментов, участвующих в метаболизме бактерий. В результате метаболизм бактерий блокируется и они теряют способность к размножению. Поскольку молочные белки содержат очень мало сульфгидрильных групп, а имеющиеся группы относительно недоступны для OSCN⁻ (протекание реакции невозможно), в молоке эта реакция оказывается специфической и направленной против присутствующих в этой среде бактерий.
- 2.2 Антибактериальное действие системы зависит не только от вида, но и от штамма микроорганизма. В отношении смешанной микрофлоры сырого молока, в которой преобладают мезофильные бактерии, система действует бактериостатически (оказывает преимущественно ингибирующий эффект). В отношении некоторых грамотрицательных бактерий, таких как псевдомонады и *Escherichia coli*, система проявляет бактерицидный эффект. Поскольку система в основном оказывает бактериостатическое действие, с помощью этого метода невозможно скрыть плохое качество молока, которое изначально содержало большое количество бактерий.
- 2.3 Обладающие антибактериальным действием продукты окисления тиоцианата нестабильны при нейтральных значениях pH. Любой их избыток самопроизвольно разлагается до тиоцианата. Скорость этой реакции зависит от температуры, поэтому она протекает быстрее при повышенных температурах. Пастеризация молока обеспечивает полное удаление любых остаточных количеств этих активных продуктов окисления.

- 2.4 В выдоенном молоке существенного окисления тиоцианата не происходит. Однако эту реакцию можно инициировать путем добавления небольших количеств перекиси водорода (см. раздел 4). Высокие концентрации перекиси водорода, используемые для консервации молока, (300–800 ppm) разрушают лактопероксидазу, предотвращая тем самым окисление тиоцианата. Таким образом, в этом случае антибактериальный эффект обусловлен действием самой перекиси водорода.
- 2.5 В определенных пределах антибактериальный эффект ЛП-системы пропорционален концентрации тиоцианата в молоке (при условии присутствия эквивалентного количества перекиси водорода). Содержание тиоцианата в молоке зависит от рациона животных и поэтому может меняться. В связи с этим для практического применения данного метода необходимо добавление некоторого количества тиоцианата, чтобы его уровень в молоке обеспечивал достижение желаемого эффекта.
- 2.6 Уровни тиоцианата, получаемые в результате такой обработки, находятся в пределах физиологических значений, обнаруживаемых в молоке в некоторых обстоятельствах и при определенных режимах кормления животных. При этом они намного ниже уровней тиоцианата, которые, как известно, присутствуют в слюне человека и некоторых видах обычных овощей, например в белокочанной и цветной капусте. Кроме того, результаты клинических исследований однозначно показали, что потребление молока, обработанного этим методом, никоим образом не препятствует поглощению йода щитовидной железой ни у лиц с нормальной обеспеченностью йодом, ни в случае его дефицита.

3. НАЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА

- 3.1 Данный метод следует применять только в тех случаях, когда по техническим, экономическим и/или практическим причинам невозможно использовать холодильное оборудование для сохранения качества сырого молока. Применение ЛП-систем на предприятиях, которые в настоящее время не имеют соответствующей инфраструктуры для сбора сырого молока, позволило бы производить молоко, представляющее собой безопасный и полезный пищевой продукт, что в ином случае практически невозможно.
- 3.2 Рассматриваемый метод предназначен для применения в центрах сбора молока, а не в отдельных фермерских хозяйствах. Такие центры должны быть оснащены соответствующим оборудованием для очистки и санитарной обработки емкостей, используемых для хранения и перевозки молока.
- 3.3 Персонал, занимающийся сбором молока, должен отвечать и за обработку молока. Для того, чтобы работники могли выполнять эти операции надлежащим образом, они должны пройти соответствующее обучение, в том числе по общей гигиене молока.
- 3.4 Молочное предприятие, обрабатывающее собранное молоко с помощью лактопероксидазной системы, должно нести ответственность за надлежащее применение этого метода. На таком предприятии должен быть организован соответствующий контроль (см. раздел 5) для отслеживания порядка применения метода, качества сырого молока и качества молока перед обработкой.
- 3.5 В первую очередь данный метод следует использовать для предотвращения нежелательного размножения бактерий в сыром молоке в процессе сбора и перевозки на молокоперерабатывающее предприятие при условиях, установленных в пункте 3.1. Ингибирующий эффект обработки зависит от температуры, при которой хранится молоко. Лабораторные и полевые исследования, проведенные в разных странах на сыром молоке с нормальными микробиологическими показателями, показали, что ингибирующий эффект сохраняется в течение следующего времени:

Температура, °C	Время, ч
30	7–8
25	11–12
20	16–17
15	24–26

- 3.6 Применение лактопероксидазного метода не исключает необходимости пастеризации молока перед употреблением в пищу, а также не отменяет соблюдения обычных мер предосторожности и правил переработки для обеспечения высокого гигиенического качества сырого молока.

4. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА

- 4.1 Лактопероксидазную систему можно активировать в сыром молоке, чтобы получить указанный выше антибактериальный эффект. Для этого в молоко добавляют тиоцианат в виде тиоцианата натрия и перекись водорода в виде перкарбоната натрия, следуя описанной ниже процедуре:
- добавляют 14 мг NaSCN на литр молока. Затем молоко перемешивают для равномерного распределения SCN⁻. Обычно достаточно 1 минуты перемешивания движениями вверх-вниз с помощью чистой мутовки;
 - затем добавляют 30 мг перкарбоната натрия на литр молока. После этого молоко перемешивают еще в течение 2–3 минут, чтобы обеспечить полное растворение перкарбоната натрия и равномерное распределение перекиси водорода по всему объему.
- 4.2 Важно добавлять тиоцианат натрия и перкарбонат натрия в указанном выше порядке. Ферментная реакция в молоке начинается после добавления перекиси водорода (перкарбоната натрия). Реакция завершается приблизительно в течение 5 минут с момента добавления H₂O₂, после чего перекись водорода в молоке не обнаруживается.
- 4.3 Активирование лактопероксидазной системы следует проводить не позднее чем через 2–3 часа после доения.
- 4.4 Тиоцианат натрия и перкарбонат натрия в количествах, необходимых для обработки определенного объема молока, например в 40- или 50-литровых флягах, должны поступать в центр сбора молока в виде расфасованных навесок, причем каждой такой поставки должно хватать на несколько недель работы. Применять следует тиоцианат и перкарбонат натрия с техническими характеристиками, приведенными в Приложениях I и II.

5. КОНТРОЛЬ ЗА ПРИМЕНЕНИЕМ

- 5.1 Молокоперерабатывающее предприятие, на которое поступает молоко, должно контролировать применение лактопероксидазной системы для консервации сырого молока. Для контроля следует использовать сочетание нескольких действующих методик, предназначенных для приемочных испытаний, таких как определение титруемой кислотности, проба с метиленовым синим, резазуриновая проба, определение общего числа жизнеспособных микроорганизмов и анализ на содержание тиоцианата в молоке. Поскольку в ходе реакции тиоцианат полностью не расходуется, содержание его в обработанном молоке, поступающем на молокоперерабатывающее предприятие, будет приблизительно на 10 мг/л выше естественного уровня тиоцианата (последний можно определить путем анализа необработанного молока из той же местности). Методика анализа, используемая для определения SCN⁻, описана в Приложении III. Испытание должно проводиться с пробами, отобранными случайным образом. Если концентрация тиоцианата окажется слишком высокой (или слишком низкой), необходимо провести расследование, чтобы установить причину отклонения концентрации от нормы. Молокоперерабатывающее предприятие должно также нести ответственность за контроль химических реактивов, используемых в центре сбора для активации лактопероксидазной системы.
- 5.2 Определение микробиологических показателей качества молока (проба с метиленовым синим, резазуриновая проба, общее число микроорганизмов чашечным методом) следует проводить также для проверки надлежащего соблюдения санитарных норм. Поскольку данная система оказывает преимущественно бактериостатическое действие, перечисленные методы позволяют выявить высокую исходную обсемененность молока даже после ее применения.

ПРИЛОЖЕНИЕ I. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ТИОЦИАНАТУ НАТРИЯ**Общие характеристики**

Химическое название	Натрия тиоцианат
Химическая формула	NaSCN
Молекулярная масса	81,1
Количественное содержание	98–99%
Влажность	1–2%

Чистота (согласно спецификации JECFA*)

Тяжелые металлы (в пересчете на Pb)	< 2 ppm
Сульфаты (в пересчете на SO ₄)	< 50 ppm
Сульфид (S)	< 10 ppm

* Объединенный экспертный комитет ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам

ПРИЛОЖЕНИЕ II. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПЕРКАРБОНАТУ НАТРИЯ**Общие характеристики**

Химическое название	Натрия перкарбонат (*)
Химическая формула	$2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$
Молекулярная масса	314,0
Количественное содержание	85%

Рекомендованный к применению коммерческий перкарбонат натрия имеет следующие характеристики:

Натрия карбоната пероксигидрат	> 85%
Тяжелые металлы (в пересчете на Pb)	< 10 ppm
Мышьяк (в пересчете на As)	< 3 ppm

(*) Для получения информации о том, где можно приобрести коммерческий перкарбонат натрия, просьба обращаться в Генеральный секретариат Международной молочной федерации (IDF), Silver Building, Blvd. A. Reyers 70/B, B-1030 Brussels, Belgium (Бельгия).

ПРИЛОЖЕНИЕ III. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТИОЦИАНАТА В МОЛОКЕ

Принцип

Тиоцианат определяют в молоке после депротеинизации трихлоруксусной кислотой (ТХУ) в виде комплекса с трехвалентным железом путем измерения поглощения при длине волны 460 нм. Минимальная концентрация, обнаруживаемая данным методом, составляет от 1 до 2 ppm SCN^- .

Растворы реактивов

Раствор трихлоруксусной кислоты 20% (м/о): 20 г ТХУ растворяют в 100 мл дистиллированной воды и фильтруют.

Раствор нитрата железа (III): 16,0 г $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 50 мл 2 М раствора HNO_3^* , а затем разбавляют дистиллированной водой до 100 мл. Раствор следует хранить в прохладном темном месте.

* 2 М раствор HNO_3 получают разбавлением 138,5 мл 65% HNO_3 до 1000 мл дистиллированной водой.

Определение

Смешивают 4,0 мл молока с 2,0 мл 20% раствора ТХУ, тщательно перемешивают и выдерживают не менее 30 минут. Полученную смесь фильтруют через подходящий бумажный фильтр (Whatman, № 40). Затем 1,5 мл прозрачного фильтрата перемешивают с 1,5 мл раствора нитрата железа (III) и измеряют поглощение при длине волны 460 нм. В качестве раствора сравнения используют смесь 1,5 мл раствора нитрата железа (III) и 1,5 мл воды. Измерение следует проводить не позднее чем через 10 минут после добавления раствора нитрата железа (III), поскольку окрашенный комплекс нестабилен. Содержание тиоцианата определяют путем сравнения со стандартными растворами с известными концентрациями, например, 10, 15, 20 и 30 мкм/мл тиоцианата.