

**ДЛЯ ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ В**  
Центр нормирования и сертификации Минздрава России  
на проведение работ связанных с организацией экспертиз,  
исследований, испытаний, токсикологических, гигиенических и  
иных видов оценок

**ДОКУМЕНТ В ПОДДЕРЖКУ РЕГИСТРАЦИИ  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТВОРА ХЛОРИДА  
ЦЕТИЛПИРИДИНИЯ ДЛЯ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ  
ОБРАБОТКИ СЫРЫХ ТУШЕК ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ**

**Проситель:**

**Safe Foods Corporation  
4801 North Shore Drive  
North Little Rock, Arkansas 72118  
Телефон: 501-758-8500**

**Первичный контакт:**

**Раш Б. Диакон, руководитель по  
стратегическим вопросам  
[Rush.Deacon@SafeFoods.net](mailto:Rush.Deacon@SafeFoods.net)**

**Сайт компании: [www.SafeFoods.net](http://www.SafeFoods.net)**

**Полномочный агент:**

**г. Альберт Давлеев  
Глава Представительства Совета США по  
экспорту домашней птицы и яиц («ЮЭСЭЙ  
Полтри энд Эг Экспорт Кансил, Инк» в России  
127051, Петровский б-р 15/1 Москва, Россия  
Телефон: 980-6140  
E-mail: [albertdavleyev@yahoo.com](mailto:albertdavleyev@yahoo.com)**

**Дата представления:**

**Август 2004**

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр
I. Введение .....	2
II. Качество товара .....	3
III. Безопасность товара .....	4
<u>Сертификат безопасности</u>	
<u>Контакт пищевого продукта с СРС</u>	
<u>Токсикологические данные</u>	
IV. Отчеты об исследовании продуктов .....	12
<u>Безопасность</u>	
<u>Противомикробная эффективность</u>	
<u>существование непрерывного технического эффекта</u>	
V. Технологические инструкции .....	16
<u>Методы применения</u>	
<u>Методы проверки остатков</u>	
Методология анализа HPLC .....	17

## I. Введение

С помощью исследования, проведенного в 80-ые и 90-ые годы под покровительством консорциума Food Safety Consortium, сформированного и финансируемого Министерством сельского хозяйства США, ученые Арканзасского университета, одного из трех участвующих в исследовании университетов, пришли к выводу, что использование раствора на базе цетилпиридиния хлорида ("СРС") было весьма эффективным в борьбе с широким сектором пищевых болезнетворных микроорганизмов, включая *Listeria*, *E. coli*, *Salmonella*, и *Campylobacter*. Это соединение также доказало, что оно не оказывает неблагоприятных воздействий на органолептические свойства пищевых продуктов, по отношению к которым оно применялось, и что особенно важно, тот же самый активный ингредиент, а именно СРС, безопасно использовался в многочисленных безрецептных средствах ухода за полостью рта, продаваемых в США на протяжении пятидесяти лет.

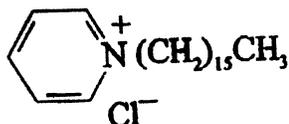
В 1999 г. была сформирована корпорация Safe Foods Corporation в North Little Rock, штат Арканзас, с целью лицензирования патентов Арканзасского университета на технологию противомикробной обработки пищевых продуктов посредством СРС и коммерциализации этой весьма многообещающей технологии пищевой безопасности. С тех пор Проситель работает над внедрением этой технологии борьбы с патогенами и получением одобрения со стороны Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов ("USFDA") на его использование в качестве средства обработки пищевых продуктов, начиная с сырых тушек домашней птицы. 2-го апреля 2004 г. в *Федеральном регистре* было опубликовано постановление, одобряющее использование раствора СРС, торговая марка Secure™, для обработки сырых тушек домашней птицы перед их охлаждением.

Проситель представляет на рассмотрение документ в поддержку регистрации этого противомикробного раствора на базе СРС ("Противомикробный раствор") в Министерстве здравоохранения России в качестве средства обработки пищевых продуктов для использования на сырых тушках домашней птицы, как производимой в России, так и легально импортируемой в Россию из другой страны. Этот документ и приложение к нему призваны помочь Министерству здравоохранения в санитарно-гигиеническом исследовании Противомикробного раствора для его использования по назначению при переработке домашней птицы. В качестве приложения документ включает в себя:

Приложение 1	Копию опубликованного уведомления в <i>Федеральном регистре</i> , том 69, No. 64, пятница, 2 апреля 2004, стр. 17297, объявляющую об одобрении USFDA Ходатайства о пищевой добавке Просителя, предлагающего использовать Противомикробный раствор в качестве противомикробного вещества при переработке домашней птицы.
--------------	---

## II. Качество товара

Цетилпиридиния хлорид (CPC) регистрируется Службой краткого обзора химикатов (регистрационный номер CAS 123-03-5) и классифицируется в Фармакопедии США - (USP) 24/Национальный формуляр 19 (1 января 2000). Структурная формула CPC имеет следующий вид:



Физические свойства:

Внешний вид/Физическая форма	белый порошок (моногидрат)
Температура плавления	77 - 83°C
pH (1% вод. раст.)	6.0 - 7.0
Растворимость	свободно растворимый в воде, спирте и хлороформе, но нерастворим в эфире

Концентрированный раствор из 40% CPC и 60% пропиленгликоля, используемый применительно к домашней птице в США, поставляется компанией Zeeland Chemical Inc., Зиелэнд, штат Мичиган. Пропиленгликоль относится к пищевому классу и соответствует спецификации, изложенной в Кодексе пищевых химикатов, четвертое издание. Применяемый в условиях переработки птицы Противомикробный раствор производится посредством разбавления концентрированного раствора водой в примерно соотношении 40:60, в зависимости от обстоятельств и нужды переработчика домашней птицы, в соответствии со сложившейся производственной практикой (GMP).

### III. Безопасность товара

#### Сертификат безопасности

CPC, как основа Противомикробного раствора, был недавно одобрен USFDA “для безопасного использования...в качестве противомикробного средства при переработке домашней птицы.” См. **Приложение 1**, где приводится полный текст уведомления USFDA, сертифицирующее безопасность Противомикробного раствора. Определение USFDA “безопасный” базируется на расчетном остатке CPC, который потребитель может проглотить с обработанных тушек домашней птицы, и том как этот остаток сопоставляется с имеющимися токсикологическими данными. Обе темы будут обсуждаться в двух разделах ниже.

#### Контакт пищевого продукта с CPC

Остаток CPC на коже приготовленной домашней птицы после обработки в условиях коммерческого использования был определен с помощью высококачественной жидкой хроматографии (“HPLC”). Образцы собирались после обработки 1% раствором CPC при 1.0 унция/фунт. Остаточный анализ показал, что CPC присутствовал лишь на коже со средним показателем 13,2 ppm (частей на миллион) и отсутствовал в подкожной мышечной ткани. Если предположить, что средние тушки домашней птицы состоят на 10% из кожи (Tap и др. 1975), то общая концентрация CPC в коже оценивается на уровне 1,32 ppm.

Для вычисления количества CPC, потребляемого на человека за день, необходимо учесть количество птицы, потребляемое при типичном рационе индивидуума. Данные о потреблении домашней птицы в США имеются в *Непрерывном отчете о потреблении пищевых продуктов индивидуумами 1994-1996 (CSFII)*, подготовленным Министерством сельского хозяйства США (USDA). Краткие результаты этого отчета приведены ниже.

**Потребление домашней птицы с кожей и без кожи**  
**Все пищевые продукты, основанные на вычисленных пропорциях**

Потребление птицы, г/чел./день <sup>1</sup>		Среднее	90 <sup>-ая</sup> перцентиль
Суммарное потребление	на душу	19.4	44.2
	на потребителя	20.9	49.2
Птица, потребляемая с кожей	на душу	8.9	20.3
	на потребителя	<b>9.6</b>	<b>22.6</b>
Птица, потребляемая без кожи	на душу	10.5	23.9
	на потребителя	11.3	26.6

Среднее потребление кожи домашней птицы составляет 9,6 г/человек/день, тогда как 90<sup>-ая</sup> перцентиль потребления равнялась бы 22,6 г/человек/день. Используя информацию о потреблении домашней птицы, были выполнены следующие вычисления по определению расчетного суточного потребления (EDI) вещества СРС.

Расчетное суточное потребление (EDI) вещества СРС для среднего потребителя домашней птицы составляет:

$$EDI_{\text{mean}} = (9.6 \text{ г/день}) \times (1.32 \times 10^{-6} \text{ г СРС/г птицы}) \\ = 1.3 \times 10^{-5} \text{ г СРС/день или } 0.013 \text{ мг/день}$$

EDI может выражаться в виде концентрации в общем рационе, в частях на миллиард, принимая за основу средний общий суточный рацион 3 килограмма на человек в день. На этой основе  $EDI = 0,013 \text{ мг/день (13 мкг/день)}$  эквивалентно 4,3 мкг/кг пищевого продукта или 4,3 ppb.

Аналогично, EDI для 90<sup>-й</sup> перцентили потребления домашней птицы может вычисляться так:

$$EDI_{90\text{th}\%} = (22.6 \text{ г/день}) \times (1.32 \times 10^{-6} \text{ г СРС/к птицы}) \\ = 3,0 \times 10^{-5} \text{ г СРС/день или } 0,03 \text{ мг/день}$$

Это EDI эквивалентно концентрации в рационе приблизительно 10 ppb (т.е., 0,03 мг/день или 30 мкг/день, ÷ 3 кг/день = 10 мкг/кг или 10 ppb).

В заключении скажем, что среднее расчетное суточное потребление (EDI) для потребителя домашней птицы было определено как 4,3 ppb, а EDI для 90-й перцентили потребления было определено как 10 ppb.

<sup>1</sup> Poultry consumption figures are presented as both “per capita” values and “per consumer” values. The per-capita intake values represent total population consumption rates, while the per-consumer values represent intake by those who consumed poultry during the survey, or “eaters only” consumption.

## Токсикологические данные

Следующие токсикологические исследования были представлены на рассмотрение USFDA и составляют базис для прошения одобрения на использование в США.

Исследования острой токсичности, включающие прием СРС в рот крысами, мышами, кроликами, гвинейскими свиньями, собаками и кошками, показали, что показатель LD<sub>50</sub> колебался в диапазоне 195-5080 мг/кг. Данные о краткосрочной токсичности при 14-дневном небном исследовании на крысах показали, что Уровень ненаблюдаемого эффекта (NOEL) равен 100 ppm СРС и Уровень ненаблюдаемого неблагоприятного эффекта (NOAEL) равен 500 ppm СРС. Аналогично, два независимых 28-дневных небных исследования на крысах не выявили общих патологических изменений при 10 и 100 мг/кг СРС и NOAEL, равном 1000 ppm СРС.

Исследование дохронической токсичности, проведенное армией США, не выявило общих влияний на внутренние органы, такие как печень, почки, легкие и селезенка, после орального приема 125 ppm СРС. Эта доза составляла приблизительно 6,25 мг/кг/день. Структурный аналог СРС, хлорид мирипириниума (миристил-гамма-пиколина хлорид) испытывался на дохроническую токсичность на крысах и собаках. Нормальный рост наблюдался у крыс при приеме хлорида мирипириниума в питьевой воде при  $\leq 0.1\%$ . Собаки не проявляли токсических эффектов при максимальной дозе 20 мг/кг.

СРС также оценивался на мутагенное действие в четырех штаммах *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli*. Испытательный раствор готовился посредством разбавления концентрированного Secure™ в воде до конечной концентрации 1%. В этом исследовании не было замечено мутагенного действия в любом из пяти штаммов. Аналогичные исследования с помощью теста на канцерогенность по частоте мутаций показали, что СРС не оказывает мутагенного действия на *Salmonella typhimurium*. Кроме того, клетки яичников китайских хомячков не оказывали кластогенного действия в присутствии 1% раствора СРС.

Канцерогенность не отмечалась и в двух долгосрочных исследованиях по кормлению крыс. В течение одного года крысы потребляли СРС в количестве 7 или 35 мг/кг/день. Оба исследования пришли к выводу об отсутствии признаков канцерогенности.

Репродуктивная токсичность и токсичность развития не отмечались в двух исследованиях по кормлению крыс, где дозы колебались от 7 до 35 мг/кг. Более того, не были выявлены тератогенные эффекты, когда беременные крысы вдыхали вплоть до 1,2 г/м<sup>3</sup> тонирующей пудры, содержащей 2% СРС.

С момента подачи Ходатайства о пищевой добавке Просителем, дополнительные и более исчерпывающие токсикологические данные, поддерживающие безопасность СРС, были представлены компанией Procter and Gamble, всемирным лидером на рынке различных средств гигиены полости рта, содержащих СРС. Выводы соответствующего подкомитета USFDA публикуются в монографии (*Федеральный регистр*, том 68, No. 103, четверг, 29 мая 2003, заголовок “Лечебные средства ухода за полостью рта для безрецептного использования”). Стоит отметить одно замечание, сделанное USFDA в этой

монографии, “55-летняя история маркетинга в США крайне важна, когда речь идет о безопасности [CPC’s].” Ниже приводятся краткие данные, представленные в этом отчете.

#### А. Острая оральная токсичность CPC

##### А.1 Отчеты об острой оральной токсичности (LD<sub>50</sub>) из литературы (Ссылка #1,2,3 и 4)

Виды	Оральный	Подкожный	Внутрибрюшинный	Внутривенный
Кролик	400	250	20	34
Гвинейская свинья	n.d.	n.d.	10	n.d.
Крыса	200- 428	250	5-25	30
Мышь	195	n.d.	5-10	10
Собака	n.d.	n.d.	n.d.	50-100

n.d. = не определено

## А. Острая оральная токсичность (продолжение)

Исследование # (Дата)	Место исследования	Виды	Путь	Результаты
A.2 Неопубликованные данные (9/70)	Миланский университет Италия	Крыса (Уистар)	оральный	LD <sub>50</sub> =681 мг/кг
A.3 TGSE-529-1 <sup>a</sup> (2/70)	P&G	Крыса (Чарльз Ривер-CD)	оральный	LD <sub>50</sub> =359 мг/кг; при вскрытии не отмечено аномалий
A.4 Ссылка #5 (8/91)	Хегох Согр.	Крыса (Спрег Доули)	вдыхание	LD <sub>50</sub> =0.09 мг/л; животные подвергались распылению порошка CPC (4 час/день) в камерах на все тело в течение 14 дней. При вскрытии не было отмечено общих поражений. Все животные испытывали обратимое глазное раздражение. (См. G.1 для подробностей)

## В. Дохроническая оральная токсичность CPC

Исследование #, место и (дата)	Виды	Суточная доза	Исследование, описание и результаты
B.1 HPCR-0563, IRDC <sup>b</sup> , (7/94)	Собака (гончая)	5, 25, 125, 250 и 500 мг/кг	CPC принимался раз в день в виде порошка в желатиновых капсулах гончими собаками (N=3/пол/доза) в течение 28 дней. Общие и микроскопические изменения с признаками раздражения отмечались на всем протяжении желудочно-кишечного тракта у обоих полов, и прежде всего в группах с дозами 125, 250 и 500 мг/кг. Хотя уровень NOEL не определялся, отсутствуют гистологические свидетельства токсичности помимо раздражения ЖКТ при любых дозах.
B.2 HPCR- 0562, HL <sup>c</sup> , (8/94)	Крыса (Спрег Доули)	25, 50, 100, 200, и 400 мг/кг	Водный раствор CPC принимался крысами в течение 28 дней (n=8/пол/доза). Хотя уровень NOEL равен 25 мг/кг, не было гистологических свидетельств системной токсичности при дозах вплоть до 100 мг/кг. (Животные, получавшие 200 и 400 мг/кг, не прошли полного гистологического обследования.)
B.3 TGSE-529 P&G <sup>a</sup> (8/70)	Крыса (Чарльз Ривер-CD)	CPC принимали в рационе при 0.125%. Уровни дозы не сообщаются (см. B.4 для расчетных уровней	Крысы (n=20/пол) получали испытуемое вещество в своем рационе в течение 13 недель. Ни одно животное не умерло при исследовании и не было обнаружено необычных поражений при вскрытии или после гистопатологического обследования. Изменения, наблюдаемые в весе некоторых органов или показателях клинической химии, были либо минимальными по биологической важности, либо не поддерживались изменениями в гистопатологии и не различались по полам.

## В. Дохроническая оральная токсичность (продолжение)

Исследование #, место и (дата)		Виды	Суточная доза	Исследование, описание и результаты
В.4	TGSE-529-1 НТ <sup>d</sup> , (5/70)	Крыса (Чарльз Ривер-CD)	СРС принимался в рационе при 0.125% приводя к уровням доз 60-130 мг/кг	Крысы (n=20/пол) принимали испытуемое вещество в своем рационе в течение 13 недель. Ни одно животное не умерло при исследовании и не было выявлено необычных поражений при вскрытии или после гистопатологического обследования. Не отмечались изменения в абсолютном или относительном весе органов.
В.5	TGSE 20 And 43, P&G <sup>a</sup> , (10/63)	Крыса (Чарльз Ривер-CD)	0.45% СРС 0.05% ДВ <sup>e</sup> разбавлены в воде до состава 5 или 25 мг %. Это привело к уровням доз 4-14 и 20-70 мг/кг по ходу исследования.	Испытуемое вещество давалось по желанию в воде в течение 13 недель (n=10/пол/доза). Хотя оценивалось несколько параметров, единственным изменением было снижение потребления корма при высоких дозах.
В.6	Ссылка # 6, 1949	Крыса	2.5 мг/кг/день; sc или ip	Единственным отмечаемым эффектом после 3-недельного воздействия было снижение темпов роста.
		Собака	1 и 4 мг/кг/день; sc и iv	Не отмечалось эффектов после 3-недельного воздействия при 4 мг/кг/день в нераздражающем 0.1% растворе. Концентрация 2% СРС, получаемая в течение 1 недели, вызывала образование локальных абсцессов и изменение крови, печени и почек. Аналогичные изменения отмечались у собак, имеющих периваскулярное повреждение после 3-недельного воздействия дозы 4 мг/кг/день в 0,5% и 2%-растворах.
В.7	Ссылка #1 1942	Кролик	0, 10, и 100 мг/кг водного СРС	СРС принимался в течение 28 дней группами животных по 6, 12 и 10 голов при каждом уровне дозы. При вскрытии не было выявлено общих аномалий. Вакуолизация печени и почек отмечалась во всех группах, но была более очевидной при высоких дозах. Также отмечалось зернистое набухание в почечных канальцах.

## С. Хроническая оральная токсичность СРС

Исследование #, место и (дата)		Виды	Суточная доза	Исследование, описание и результаты
С.1	НРСР-0593, НЛ <sup>c</sup>	Крыса (Спрег Доули)	0, 5, 15, 40, и 75 мг/кг/день	СРС принимался раз в день в течение 6 месяцев (n=20/пол/доза). Уровень NOEL для этого исследования составлял 5 мг/кг. Однако, важно отметить, что не было гистологических свидетельств токсичности помимо раздражения ЖКТ, отмечаемого при любых дозах.
С.2	Неопублик. данные, Миланский университет,	Крыса (Уистар)	0, 7 и 35 мг/кг/день	СРС принимался в виниловом сополимере в рационе на протяжении 1 года (n=10/пол/доза СРС, 5/пол контрольная). Не отмечалось никаких изменений при любом уровне дозы для многочисленных параметров или тканей.

Италия  
(9/70)

#### D. Тератологические и репродуктивные исследования

Исследование #,  
место и

(дата)	Виды	Суточная доза	Исследование, описание и результаты
D.1 HPCR-0573, IRDC <sup>b</sup> , (7/94)	Крыса	0, 5, 15, и 60 мг/кг/день	Тератологическое исследование: Крысы (n=30) получали СРС раз в день в период беременности с 6 по 15, а на 20-ый день беременности выполнялось кесарево сечение. При любой дозе не отмечалось признаков токсичности развития. Таким образом, уровень NOEL в отношении материнской токсичности равнялся 15 мг/кг и 60 мг/кг в отношении токсичности развития.
D.2 TGSE-1575, P&G <sup>a</sup> (10/79)	Кролик (Новозеландский белый)	а.) СРС при 0, 2.5, 12.0, и 100 мг/кг  б.) СРС сверх уровней зозы плюс DB <sup>e</sup> в пропорции 9:1	Тератологическое исследование: Кролики (n=15/дозовая группа) получали водный раствор СРС в дни беременности с 7 по 18. Уровни доз 12 мг/кг были матерински токсичными. Единственными влияниями на плод, замеченными при самых высоких дозах, были сниженный вес плода и увеличение постимплантационной потери. При любой дозе не отмечалось тератогенности. Уровень NOEL развития равнялся 12 мг/кг.
D.3 Unpublished Data, Univ. Of Milan, Italy (9/70)	Крыса (Уистар)	0, 7, и 35 мг/кг/день	Исследование репродуктивности с нескольких поколений: СРС принимался в рационе (n=10/пол/доза СРС, 5/пол контрольная) в течение 3 месяцев до спаривания. Животные постоянно держались на такой диете в течение беременности, а их первое потомство отнималось от груди также на этой диете и спаривалось в возрасте 91 день. Так повторялось до рождения третьего поколения. Не отмечалось никаких изменений в плодовитости и жизнеспособности любого поколения. Не было неблагоприятных влияний на другие физиологические параметры или ткани, исследуемые при любом уровне дозы.

#### Расшифровка обозначений

- Procter & Gamble (PG)
- International Research & Development Corp. (IRDC)
- Hazelton Laboratories, Inc. (HL)
- Hill Top Research Inc. (HT)
- Домифен бромид (DB)

#### **Ссылки, цитируемые в тексте резюме:**

- Warren, M.R., Becker, T. J., Marsh, D. G., and Shelton, R. S. (1942) Pharmacological and toxicological studies on cetylpyridinium chloride, a new germicide *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 74, 401-8.
- Nelson, J. W., and Lyster, S. C. (1946) The toxicity of myristyl-gamma-picolinium chloride. *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.* 35, 89-94.

3. Rosen, H., Blumenthal, A., Panasevich, R., and McCallum, J. (1965) Dimethyl Sulfoxide (DMSO) as a solvent in acute toxicity determinations. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120(2) 511-514.
4. Arro, L. and Salenstedt C. R. (1973) Evaluation of Toxicity of some quarternary ammonium compounds. *J. Biol. Standardization* 1, 11-22.
5. Law, G. H. Y., Voss, K. A., and Davidson, T. J. (1991) Acute inhalation toxicity of cetylpyridinium chloride. *Fd. Chem. Toxic.* 29(12)
6. Thompson, C. R., and Werner, H. W. (1949) Toxic effects of parenterally administered cetylpyridinium chloride. *Fed Proc.* 8, 338.

Эти токсикологические данные ясно демонстрируют, что расчетное суточное потребление домашней СРС вместе с обработанной домашней птицей вполне покрывается широким запасом безопасности при коммерческом использовании Противомикробного раствора Secure™.

#### IV. Отчеты об исследовании продуктов

##### Безопасность

Многочисленные исследовательские отчеты в отношении безопасности СРС и Противомикробного раствора, выполненные Просителем и другими авторами, цитируются в разделе III выше.

##### Противомикробная эффективность

Как упоминалось во введении, СРС способен предоставить средство для лучшего удовлетворения микробиологических стандартов на птицефабриках и позволит переработчикам домашней птицы снабжать потребителя сырыми птицепродуктами, представляющими гораздо меньший риск с точки зрения пищевой безопасности. Secure™ может использоваться для сокращения следующих микроорганизмов: *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* (включая O157:H7) и колиформы.

Несколько исследований доказали противомикробную эффективность СРС против *Salmonella typhimurium*, *E. coli* (включая O157:H7), колиформ и *Campylobacter*. Следующая таблица суммирует известные испытания.

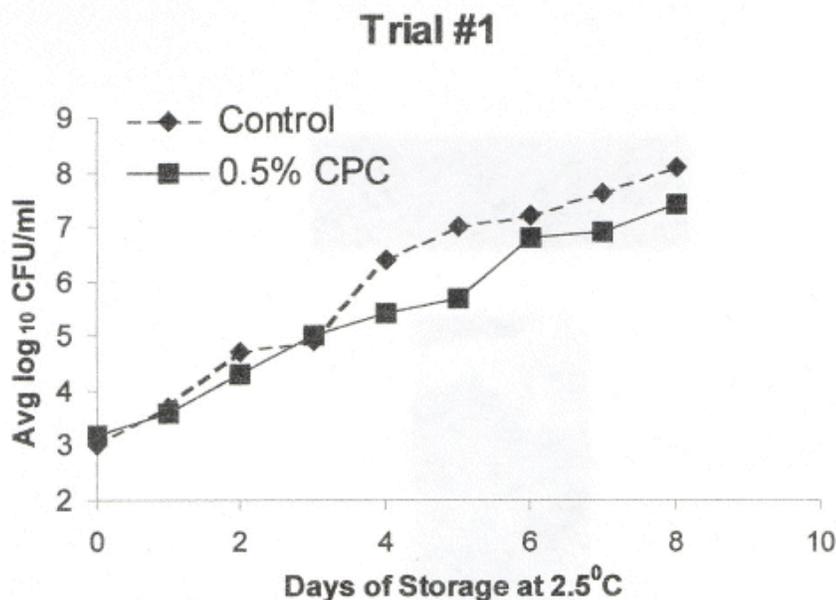
Авторы	Концентрация СРС	Исследование, описание и результаты
Breen и др. 1995	0.1%	Нанесение на кожу птицы - 10-минутная обработка при 25°C 0.1% раствором СРС в забуференной соли с pH=7,2. "Полностью разрушает присоединение организмов <i>Salmonella typhimurium</i> ."
Breen и др. 1997	0.4% СРС 0.5% глицерин	3-минутная обработка забуференным 0.4% раствором СРС плюс 5% глицерин для кожи цыплят, привитых против <i>Salmonella</i> , приводила к 4,8 логарифмической редукции <i>S. typhimurium</i>
Kim и Slavik, 1996	0.1%	опыление образцов кожи цыплят 0.1% раствором СРС в течение 1 минуты при 15°C или 50°C приводило к сокращению уровней сальмонеллы от 87 до 98%
Waldroup и др., 1999	0.2% или 0.5%	Жидкость распылялась в течение 3 секунд при комнатной температуре. Опыт показал, что нанесение 0.2 - 0.5% раствора СРС перед охлаждением тушек значительно сокращает уровни АРС, <i>E. coli</i> , другие колиформы и <i>Campylobacter</i> на птичьих тушках.
Waldroup и др., 1999	0.2% or 0.5%	Уровни <i>E. coli</i> , колиформ и общих аэробов существенно сокращались более чем на 99% при распылении Secure™. В обоих опытах появление <i>Salmonella</i> существенно сокращалось до менее чем 5% позитива, тогда как темпы появления <i>Salmonella</i> на контрольных тушках в некоторых случаях превышали 60%.

##### Отсутствие непрерывного технического эффекта

СРС оценивался с точки зрения непрерывного противомикробного действия во время хранения обработанной сырой домашней птицы (*Влияние х цетилпиридиния лорида (СРС) на организмы гниения, патогенные заражения и сенсорные качества пищевых продуктов*, (Вai 2000)).

Эти исследования показывают, что даже при применении СРС в виде 1% раствора к предварительно охлажденным частям домашней птицы (Сесиге™ наносится перед охлаждением), темпы бактериального роста не изменяются. Во многих случаях имело место первоначальное сокращение аэробного чашечного подсчета после обработки СРС, но последующие темпы роста для обработанных и необработанных групп были одинаковыми. Следующие графики представляют результаты этих испытаний.

Рисунок 1. Влияние СРС на аэробные бактерии на бедрышках цыплят без костей и без кожи, хранящиеся при 2,5°C.



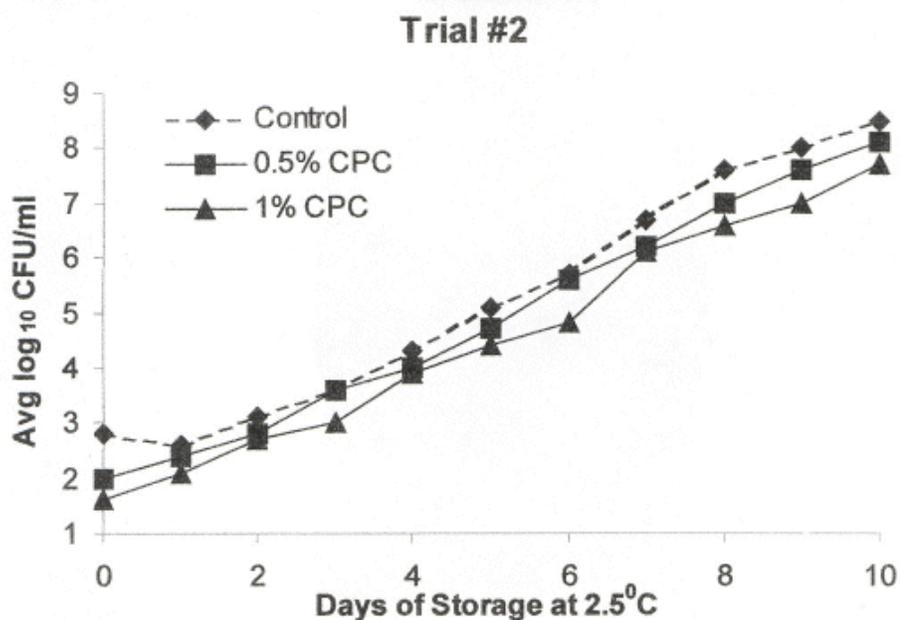
Trial # 1 = Испытание №1

Days of storage = Дни хранения при 2,5 С

Avg log = Средняя логарифмическая редукция, CFU/мл

Control = Контрольная группа

Рисунок 2. Влияние СРС на аэробных бактерий на бедрышках цыплят без костей и без кожи, хранящихся при 2.5°C



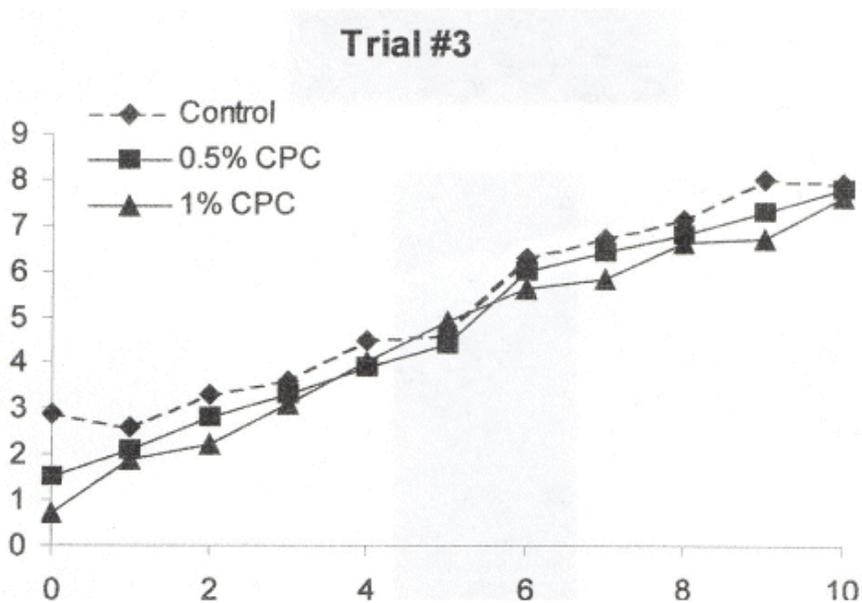
Trial # 2 = Испытание №2

Days of storage = Дни хранения при 2,5 С

Avg log = Средняя логарифмическая редукция, CFU/мл

Control = Контрольная группа

Рисунок 3. Влияние CPC на аэробных бактерий на бедрышках цыплят без костей и без кожи, хранящихся при 2.5°C



Trial # 3 = Испытание №2

Эти результаты показывают, что противомикробные влияния CPC являются кратковременными и не делятся при хранении продукта.

### Отсутствие органолептического воздействия

Сырая домашняя птица обрабатывалась концентрациями вплоть до 1.5% раствора СРС, которые не оказывали органолептического воздействия (Вai, 2000). Не наблюдалось различий в цвете, запахе или текстуре между обработанной и необработанной птицей в течение 10-дневного срока хранения.

## V. Технологические инструкции

### Методы применения

Метод нанесения Cecure™ на птичьей тушке подразумевает специально спроектированную камеру по нанесению Cecure™, герметизирующую коммерческую линию потрошения после последней мойки тушки внутри и снаружи (IOBW). Камера содержит от 8 до 12 химических форсунок, которые точно доставляют СРС в диапазоне от 0.4% до 1.0% в соответствии с нормой 0.12 - 0.30 г СРС/фунт обработанной птицы. Тушки будут проходить через распылительную камеру при нормальной скорости линии для нанесения распыленного раствора Cecure™.

Испытание, проведенное компанией Safe Foods, продемонстрировало, что лишь небольшое количество СРС, распыленное в камере Cecure™, попадет на тушку. Большинство продукта будет выливаться из камеры в рециркуляционный бак, а оттуда возвращаться в распылительный шкаф для повторного использования. Вычисления баланса материала показывают, что примерно **99.9%** СРС будет захватываться и возвращаться в систему.

Кроме того, система нанесения Cecure™ имеет лоток для капель. По мере того как тушки поступают в распылительную камеру на своем пути в охлаждающий бак, они будут проходить над этим лотком, который собирает всю содержащую СРС жидкость, капающую с мокрых тушек. Лоток будет простираться на расстояние, покрытое тушками в первую минуту после выхода из распылительной камеры, что примерно равно половине расстояния до охладителя. Жидкость, капающая в этот лоток, будет смешиваться с жидкостью, выливающейся из распылительного шкафа, а потом подаваться обратно в распылительную систему.

На остальной дистанции до охладителя (т.е. вторая минута времени движения из распылительной камеры), любая жидкость, капающая с тушек, будет поступать в существующую фабричную систему сбора потрохов на полу и в конечном итоге будет собираться вместе с потрохами.

## Методы проверки остатков

Остаточное испытание на наличие Сесуре™ проводилось по следующему протоколу.

### Необработанные тушки

1. Убедитесь в том, что распылительная камера выключена.
2. Подвесьте соответствующее количество тушек на вертлюжную линию.
3. При выключенной распылительной камере пропустите тушки через промывку и через распылительную камеру, после чего дайте им стечь в течение 2 минут над поддоном для капель.
4. После 2-минутного капежа поместите тушки в контейнер с охлаждающей водой.
5. Охлаждайте тушки в течение 60 минут с приблизительным переполнением контейнера 0,5 гал/мин/тушка.
6. После охлаждения выньте тушки и поместите на вертлюжную линию.
7. С помощью ножниц удалите всю кожу с грудки, боков, спинки и бедрашек. Поместите кожу на предварительно взвешенный сменный противень. Запишите вес.
8. Предварительно прогрейте печь до 375°F. Подвергните образцы кожи термической обработке в течение 30 минут. Охладите до комнатной температуры.
9. Для выделения СРС опустошите содержимое противня в пластиковый контейнер. Добавьте 200 мл 95% этанола и выделяйте вещество со взбалтыванием в течение 20 минут.
10. Перенесите приблизительно 40 мл экстракта в коническую пробирку объемом 50 мл на хранение. Поместите 1 мл экстракта из 50 мл конической пробирки в мирофужную пробирку и вращайте в течение 15 минут при перегрузке 15,000 g.
11. Плавающую на поверхности часть поместите в ампулу прибора для автоматического взятия проб HPLC и проведите количественный анализ на СРС посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC).

### Тушки, обработанные раствором СРС

1. Повесьте соответствующее количество тушек на вертлюжную линию.
2. Распылительную камеру установите в режим подачи 1% раствора Сесуре™ при 1 унция/фунт или 0,3г СРС на фунт тушки. Включите распылительную камеру и позвольте системе произвести распыление не менее 2 минут.
3. При включенной распылительной камере пропустите тушки через промывку, через распылительную камеру и дайте тушкам стечь над поддоном в течение 2 минут.
4. Повторите операции 4-11, описанные для необработанных тушек выше.

## **Методология анализа HPLC**

Введение:

Принцип – Раствор СРС распыляется на тушки цыплят а затем экстрагируется из кожи грудки с 95% этанолом. Экстракт центрифугируется и загружается непосредственно в ампулы прибора для автоматического взятия проб HPLC. СРС обнаруживается посредством ультрафиолетовой абсорбции при 260 нм.

Сфера применения – Разработанные при этом исследовании методы применимы к коже и мясу цыпленка.

Ограничения – Этот метод специфичен для СРС, и какие-либо мешающие вещества не встречались.

Материалы и реагенты:

- a) хлорид цетилпиридина (СРС) – Zeeland Chemicals, Зиилэнд, Мичиган, США.
- b) Метанол – HPLC класса
- c) Этанол- 95%
- d) Пропиленгликоль
- e) Мобильная фаза HPLC – (65% метанол/ 35% 0,14 молярная уксусная кислота, содержащая 8,0 миллимолей гидроксида тетраметиламмония, ТМАН) 1) В однолитровую мерную колбу добавьте приблизительно 500 мл воды 18 мега-ом, 8,4 мл ледяной уксусной кислоты и 1,45 г ТМАН, хорошенько перемешайте. Разбавьте до метки, несколько раз переверните колбу и пропустите содержимое через 0,45-микронный фильтр. 2) В другой однолитровой мерной колбе соедините 650 мл метанола класса HPLC и 350 мл раствора уксусная кислота/ТМАН. Несколько раз переверните колбу и затем произведите вакуумное дегазирование перед использованием для HPLC.
- f) HPLC – пробы анализировались на СРС с помощью системы Waters 626 HPLC, состоящей из насоса и контроллера 626, прибора для автоматического взятия проб 717-плюс, ультрафиолетового детектора с изменяемой длины волны 486 и колонного нагревателя. Эта система управлялась, включая взятие проб и анализ данных, с помощью программного обеспечения Millennium<sup>32</sup> на базе Waters.
- g) Хроматографическая колонна и предколонка - 1) колонна – Alltech Alltima 250 x 4.6 мм упакована цианом 100 А, 5 мкм. 2) предколонка – кассетная система Alltech Alltima 15x 4,6 мм упакована цианом 100А, 5 мкм.

Стандартные и эталонные растворы:

Калибровочные стандарты – 1) основной раствор = 1 мг/мл СРС в 95% этанол. С помощью аналитических весов отвесьте приблизительно 25 мг СРС прямо в стеклянную мерную колбу объемом 25 мл. Примечание: чтобы избежать вдыхания пыли СРС, добавляйте вещество в мерную колбу под вытяжным колпаком после чего перенесите колбу обратно на аналитические весы. Разбавьте до объема с помощью того же самого 95% этанола, который будет использоваться для экстрагирования СРС, и несколько раз переверните колбу. 2) Для калибровочных стандартов разбавьте основной раствор с помощью стандартных лабораторных микропипеток, как показано ниже, в стеклянной мерной колбе объемом 25 мл (предполагая, что основной раствор = 1 мг/мл).

<u>Калибровочный стандарт</u>	<u>основной раствор в микролитрах</u>
25.0 мкг/мл	625.0
10.0 мкг/мл	250.0
5.0 мкг/мл	125.0
2.0 мкг/мл	50.0
0.5 мкг/мл	12.5

Калибровка и настройка оборудования:

С помощью Water HPLC, описанной в разделе Материалы и реагенты, система уравнивалась посредством настройки расхода мобильной фазы на 0,5 мл/мин и колонного нагревателя на 27 ° С. Примерно через 30 минут расход постепенно увеличивается до 1 мл/мин, и система готова к анализу. Калибровочные стандарты загружались в ампулы прибора для автоматического взятия проб и помещались в карусельный механизм прибора 717-плюс. 50 мкл каждого калибровочного стандарта вводилось в дубликат со строгим соблюдением концентрации 0,5мкг/мл.

Аналитические параметры HPLC были следующими:

Вводимый объем – 50 мкл  
Температура колонны – 27° С  
Расход – 1,0 мл/мин  
Примерное противодавление колонны – 2000 фунт/кв. дюйм  
Ультрафиолетовая длина волны – 260 нм

Пределы обнаружения и количественного анализа:

Используя метод среднеквадратического отклонения, пределы обнаружения и количественный анализ проб СРС являются таковыми:

Предел обнаружения проб СРС = 0.07 мкг/мл  
Предел количественного анализа проб СРС = 0.22 мкг/мл

Подтверждение:

Метод анализа СРС с помощью HPLC, используемый при этом исследовании, является модификацией метода, описанного Handie (1996) и (Zhou and Handie, 1999; Cutter et al., 2000), за исключением иного оборудования HPLC. Методы, используемые для выделения СРС из проб цыпленка, базировались на методах Handie (1996). В случае выделения СРС из проб цыпленка, Handie (1996) отмечал, что СРС, наносимый на цельную тушку цыпленка, экстрагировался вместе с этанолом в диапазоне 90%. Пиковые пробы не готовились и не анализировались из-за методов нанесения СРС.

**Представлено на рассмотрение корпорацией:  
SAFE FOODS CORPORATION**



**Представил:**

---

**Альберт Давлеев  
Совет США по экспорту домашней птицы и  
яиц  
Москва, Россия**

**Rush B. Deacon  
Раш Дикон**