

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
Сайт компании: 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
Е-mail: albertdavleyev@yahoo.com

Дата представления:

Август 2004

СОДЕРЖАНИЕ

I.	Введение	стр 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.

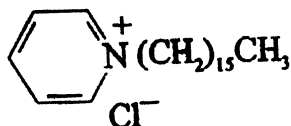
В 1999 г. была сформирована корпорация Safe Foods Corporation в North Little Rock, штат Арканзас, с целью лицензирования патентов Арканзасского университета на технологию противомикробной обработки пищевых продуктов посредством СРС и коммерциализации этой весьма многообещающей технологии пищевой безопасности. 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 *Федеральном регистре*, 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

СРС, 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 СРС, 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 СРС

Остаток СРС 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 СРС при 1.0 унция/фунт. Остаточный анализ показал, что СРС 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 СРС в коже оценивается на уровне 1,32 ppm.

Для вычисления количества СРС, 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 ¹		Среднее	90 ^{-ая} 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	9.6	22.6
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^{-ая} 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^{-й} 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.

¹ 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 LD₅₀ 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/м³ 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 (LD₅₀) 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 ₅₀ =681 мг/кг
A.3 TGSE-529-1 ^a (2/70)	P&G	Крыса (Чарльз Ривер-CD)	оральный	LD ₅₀ =359 мг/кг; при вскрытии не отмечено аномалий
A.4 Ссылка #5 (8/91)	Хегох Согр.	Крыса (Спрег Доули)	вдыхание	LD ₅₀ =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 ^b , (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 ^c , (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 ^a (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 ^d , (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 ^a , (10/63)	Крыса (Чарльз Ривер-CD)	0.45% СРС 0.05% ДВ ^e 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 ^c	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)

Д. Тератологические и репродуктивные исследования

Исследование #,
место и

(дата)	Виды	Суточная доза	Исследование, описание и результаты
D.1 HPCR-0573, IRDC ^b , (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 ^a (10/79)	Кролик (Новозеландский белый)	а.) СРС при 0, 2.5, 12.0, и 100 мг/кг б.) СРС сверх уровней зозы плюс DB ^e 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.

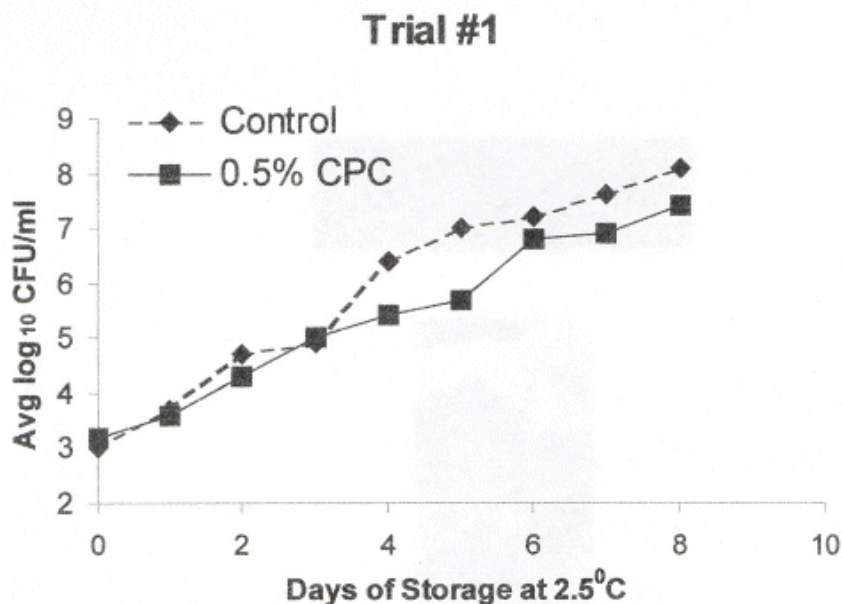
Авторы	Концентрация СРС	Исследование, описание и результаты
Breen и др. 1995	0.1%	Нанесение на кожу птицы - 10-минутная обработка при 25°C 0.1% раствором СРС в забуференной соли с pH=7,2. "Полностью разрушает присоединение организмов <i>Salmonella typhimurium</i> ."
Breen и др. 1997	0.4% СРС 0.5% глицерин	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.



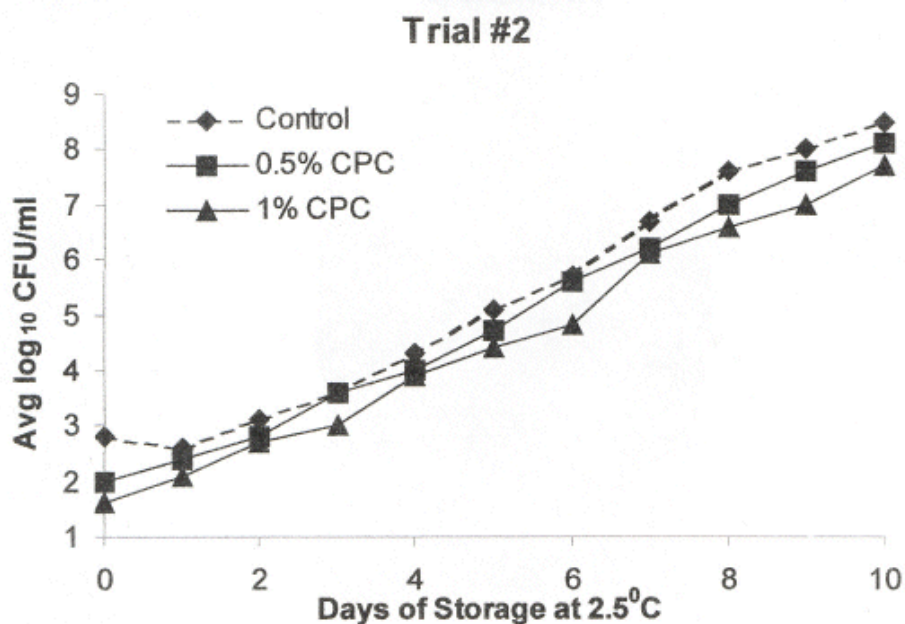
Trial # 1 = Испытание №1

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



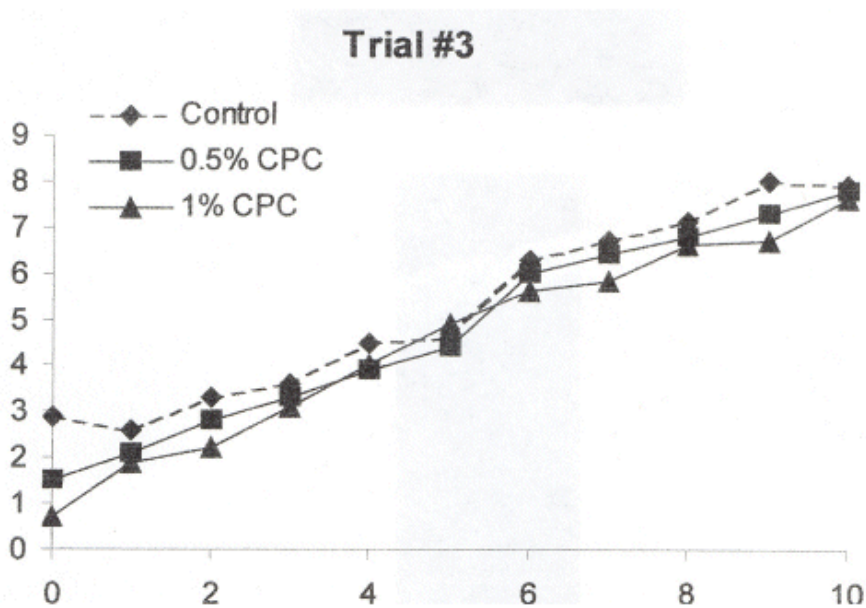
Trial # 2 = Испытание №2

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 Millennium³² 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**