

## Laktoperoxidázový komplex v mlieku

FRIDRICH GÖRNER — MARTIN ANTAL

**Súhrn.** Bakteriostatické a baktericídne pôsobenie laktoperoxidázo-peroxido-tiokyanátového komplexu v mlieku je založené na vzniku krátkotrvajúceho medzi-produktu oxidácie tiokyanátu na hypotiokyanát so silne oxidačným účinkom. Tento medziprodukt devitalizuje gramnegatívne bunky, grampozitívne bunky inhibuje dočasne a na spóry pôsobí iba málo.

V surovom mlieku je nadbytočná laktoperoxidáza oproti tiokyanátu a peroxidu vodíka. Pridávať sa musí tiokyanát v množstve  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  a peroxid vodíka  $7,5 \text{ mg.l}^{-1}$ .

Pri používaní samého peroxidu vodíka na rovnaký účel, čo sa výnimočne povoľuje, je potrebná jeho koncentrácia  $300\text{—}500 \text{ mg.l}^{-1}$  mlieka, s príslušnými negatívnymi vplyvmi na vlastnosti mlieka a jeho technologickú spracovateľnosť.

Inhibícia rozmnožovania baktérií v mlieku po jeho nadojení a zamedzenie jeho mikrobiálneho rozkladu, najmä kysnutia sa v hospodársky vyspelých krajinách uskutočňuje účinným chladením. Tento pomerne nákladný technologický proces sa ale zväčša z technických a ekonomických dôvodov nedá realizovať práve tam, kde je chladenie mlieka najpotrebnejšie, v menej vyvinutých subtropických a tropických krajinách.

V týchto krajinách sa preto výnimočne povoľuje prídavok konzervačnej látky peroxid vodíka ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), v množstve  $300\text{—}500 \text{ mg.l}^{-1}$ . Prídavok peroxidu vodíka (PV) spôsobuje určité zmeny v bielkovinách mlieka, ktoré sa neskôr negatívne prejavujú pri výrobe syrov. Otázne sú aj prípadné rezíduá PV v mlieku a ich ďalší osud alebo pôsobenie v mlieku, prípadne v organizme.

---

Prof. Ing. Dr. Fridrich Görner, DrSc., Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Doc. MUDr. Martin Antal, CSc., Výskumný ústav preventívneho lekárstva, Limbová 14, 833 01 Bratislava.

Prijateľnejšie sa zdá využitie laktoperoxidázo-peroxido-tiokyanátového (LP—H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>—SCN) komplexu v mlieku. Jeho účinok je podľa údajov, ktoré zozbieral Grün [1, 2], založený na tvorbe komplexnej zlúčeniny z laktoperoxidázy prítomnej v mlieku s pridaným PV a —SCN, pričom vzniká krátkotrvajúci medziprodukt oxidácie —OSCN (hypotiokyanát) s bakteriostatickým až baktericídnym účinkom. Táto látka sa v literatúre pôvodne označovala ako „zlúčenina 235“ (absorbuje pri 235 nm), neskôr bola identifikovaná ako hypotiokyanát [3, 4].

V baktériách —OSCN svojím silným oxidačným účinkom spôsobuje poškodenie vitálnych enzýmov obsahujúcich sulfhydrylové skupiny (—SH). Toto poškodenie má za následok okamžité zabrzdenie až zastavenie respirácie a iných procesov látkovej premeny bakteriálnej bunky. Ide napr. o inhibíciu prechodu aminokyselín a glukózy do bunky a zastavenie proteosyntézy v nej. V závislosti od vlastností bakteriálnej bunky sa tento účinok navonok manifestuje dočasným zastavením rastu (bakteriostatický účinok) alebo jej devitalizáciou (baktericídny efekt). Miestom pôsobenia prechodne vznikajúcej oxidačnej látky (—OSCN) je bunková stena baktérií. Preto sa oxidácia prejavuje odlišne pri gramnegatívnych bunkách, ktoré sú devitalizované, pri grampozitívnych bunkách dochádza iba k dočasnej inhibícii a na spóry pôsobí iba málo [5].

Nadbytok prechodne vzniknutého oxidačného činidla (—OSCN), ktoré sa nespotrebuje na reakcie s bakteriálnou bunkou, sa spontánne rozloží, pričom sa —SCN regeneruje a vznikajú pri látkovej premene využiteľné terminálne produkty, síran (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), oxid uhlíka (CO<sub>2</sub>) a amóniový ión (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Pri aktivácii laktoperoxidázového komplexu (LPK) mlieka exogénnym prídavkom —SCN a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nemajú preto v mlieku ostávať nijaké reziduá. Zvyšok vlastného alebo pridaného tiokyanátu je v mlieku nižší ako v slinách a žalúdočnej šťave človeka, preto nie sú opodstatnené obavy z ohrozenia zdravia ľudí [1, 2].

Pre antibakteriálny účinok minimálne potrebná koncentrácia enzýmu laktoperoxidáza v mlieku je 0,5—1,0 mg.l<sup>-1</sup>, čo je menej ako desatina jej normálneho obsahu v surovom mlieku [6]. Pre účinnosť LPK sú preto limitujúce koncentrácie tiokyanátu a PV. Jeho antibakteriálny účinok je úmerný koncentrácii tiokyanátu, pričom sa maximum dosahuje pri ekvimolárnom množstve tiokyanátu a PV.

Obsah tiokyanátu v mlieku podlieha značným výkyvom. Pri koncentrácii 0,2—0,25 mmol.l<sup>-1</sup> sa zaznamenáva silný mikrobiocídny účinok. Tieto koncentrácie sú ale skôr až pri hornej hranici jeho prirodzeného výskytu v mlieku. Preto je v praxi potrebné tiokyanát pridávať alebo jeho koncentráciu v mlieku zvyšovať krmovinami obsahujúcimi tiokyanáty (*Brassicae* a *Raphanaseae*) [7].

Z komplexu LP, tiokyanát a PV ostáva preto obsah PV v mlieku najviac limitujúcim faktorom antibakteriálnej účinnosti LPK. Prídavok tiokyanátu

a PV do mlieka na konečnú ekvimolárnu koncentráciu asi  $0,25 \text{ mmol.l}^{-1}$  ( $8,5 \text{ mg H}_2\text{O}_2.\text{l}^{-1}$ ) vyvoláva v surovom mlieku pre prax potrebnú antibakteriálnu aktivitu LPK. Prí vysoké koncentrácie PV v mlieku ( $300\text{--}500 \text{ mg.l}^{-1}$ ) inaktivujú laktoperoxidázu mlieka [8].

Účinok LPK mlieka závisí pochopiteľne od jeho teploty. Účinnější je pri vyššej teplote ( $30^\circ\text{C}$ ), ale pri takejto aj rýchlejšie zaniká. Antibakteriálny, účinok trvá najdlhšie pri nízkych teplotách ( $5^\circ\text{C}$ ). Za tropických podmienok po prídavku  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  tiokyanátu a  $7,5 \text{ mg.l}^{-1}$  PV do surového mlieka, bolo možné dosiahnuť významnú začiatočnú redukciu viacerých baktérií a predĺžiť jeho trvanlivosť pri  $30^\circ\text{C}$  na 7—8 hodín, pri  $25^\circ\text{C}$  na 11—12 hodín a pri  $20^\circ\text{C}$  až na 16 hodín [9].

Podľa ďalších publikovaných prác [10—12] možno usudzovať, že antibakteriálna účinnosť LPK je vysoká a značne špecifická. Pôsobí prevažne proti psychrotrofným baktériám, ktoré sú zvyčajne gramnegatívne. LPK nespôsobuje ich rezistenciu.

Technicky doteraz úplne nevyriešeným problémom ostáva správne dózovanie tiokyanátu a PV a ich dôkladné a rýchle homogénne zamiešanie do mlieka.

Podľa Björcka [9] sú prednosti využitia LPK oproti jednoduchému pridávaniu PV do surového mlieka v tom, že sú pri ňom potrebné iba malé množstvá tiokyanátu a PV, ktoré sú počas ich pôsobenia v mlieku do značnej miery rozložené. Preto by tento spôsob konzervácie mlieka nemal narážať na námietky hygienikov. Z technologického hľadiska nedochádza k porušeniu vlastností mliečnych bielkovín alebo k zmene fyzikálnych a chemických, ako aj fyzikálnochemických vlastností mlieka. Toto sa prejavuje v jeho nezmenenej syritelnosti a nezmenenom obsahu voľných mastných kyselín. Výťažnosť a organoleptické vlastnosti syrov vyrobených z takto konzervovaného mlieka majú byť rovnaké ako z tepelne upraveného. Zrenie je na začiatku o niečo spomalené v dôsledku pôsobenia rezíduí LPK na baktérie použitých kyskových baktérií.

Podľa doterajších poznatkov nemožno uzatvárať, že by sa tento síce priateľnejší, ale pre rozvojové krajiny predsa len zložitý postup širšie uplatnil v praxi. V technicky vyspelých krajinách s dobrými technickými podmienkami by ale mohol nadobudnúť určité uplatnenie pri viac dní skladovanom pasterizovanom mlieku. V tomto prípade by sa však musela do neho pridávať aj laktoperoxidáza, lebo táto sa pri vysokej pasterizácii inaktivuje. Význam takéhoto spôsobu predlžovania trvanlivosti pasterizovaného mlieka by bol v potlačaní gramnegatívnych psychrotrofných baktérií, ktoré sú v mliekárenskom priemysle problémom. Tu by mohli účinne synergisticky pôsobiť LPK a nízka skladovacia teplota.

## Literatúra

1. GRÜN, E., Mh. Vet.-Med., 39, 1984, s. 693.
2. GRÜN, E., Mh. Vet.-Med., 39, 1984, s. 698.
3. REITER, B., International Dairy Federation, Annual Sessions, Praha, 1984.
4. KORHONEN, H.: World Anim. Rev., 35, 1980, s. 23.
5. ZAJAK, M. — BJÖRCK, L. — VLAESSON, O., Milchwissenschaft, 36, 1981, s. 417.
6. KIERMEIER, F. — KULMANN, H., Münch. med. Wschr., 114, 1972, s. 2144.
7. SHAHANI, K. M. — HARPER, W. J. — JENSEN, R. G. — PARRY, R. H. — ZIT-TLE, C. A., J. Dairy Sci., 56, 1973, s. 531.
8. REITER, B., In: Inhibitoin and Inactivation of Vegetative Microbe. F. A. Shinner, W. B. Hugo, Eds. London, Academic Press 1976, s. 31.
9. BJÖRCK, L., J. Dairy Res., 45, 1978, s. 109.
10. BJÖRCK, L. — CLAEISSON, O. — SCHULTHESS, W., Milchwissenschaft, 34, 1979, s. 726.
11. BJÖRCK, L. — CLAEISSON, O., J. Dairy Sci., 63, 1980, s. 919.
12. BJÖRCK, L., International Dairy Federation, Annual Sessions, Praha, 1984.

### Лактопероксидазовый комплекс в молоке

#### Резюме

Бактериостатическое и бактерицидное влияние лактопероксидазо-перекисно-тиоцианатового комплекса в молоке заключается в появлении кратковременного промежуточного продукта окисления тиоцианата на гипотиоцианат ( $-OSCN$ ) с большим окислительным действием. Этот промежуточный продукт умертвляет клетки грамм-негативные, грамм-позитивные ингибирует только временно а на споры действует лишь слабо.

В сыром (несогретом) молоке в избытке лактопероксидаза (ЛПК) по отношению к тиоцианату и перекиси водорода. Необходимо добавлять тиоцианат в количестве  $10 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$  и перекись водорода  $7,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ .

В применении перекиси водорода для той же цели, что дозволено в виде исключения, необходима его концентрация  $300-500 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$  молока, с соответствующими отрицательными действиями на свойства молока и его технологическую обрабатываемость.

### The lactoperoxidase complex in milk

#### Summary

The bacteriostatic and bactericide effects of lactoperoxidase-peroxide-thiocyanate complex in milk are based on the formation of the short-time intermediate of the thiocyanate oxidation to hypocyanate ( $-OSCN$ ) with the intensive oxidizing effect. This intermediate kills the Gram-negative cells, the Gram-positive cells are inhibited only temporarily and the spores are affected only slightly.

Lactoperoxidase is an excessive substance in comparison with thiocyanate and hydrogen peroxide contained in raw milk. It is necessary to add  $10 \text{ mg l}^{-1}$  of thiocyanate and  $7.5 \text{ mg l}^{-1}$  of hydrogen peroxide. Hydrogen peroxide concentration should be  $300-500 \text{ mg l}^{-1}$  milk if only hydrogen peroxide is used for the same purpose (permitted only exceptionally) with the respetive negative influences upon the milk proteins and the technological processing of milk.