

AKTYWNOŚĆ UKŁADU LAKTOPEROKSYDAZY W ASPEKCIE JEGO WYKORZYSTANIA DO MIKROBIOLOGICZNEJ STABILIZACJI MLEKA SUROWEGO

Mieczysław Zając

Instytut Hodowli Bydła i Produkcji Mleka SGGW-AR/CZSMI w Brwinowie

W ostatnich latach wykonano wiele prac doświadczalnych dotyczących aktywności przeciwbakteryjnej układu laktoperoksydazy /LP/ obecnego w mleku oraz ślinie. Badania te wykazały, że układ LP jest bardzo aktywny w stosunku do wielu bakterii gramujemnych, np. *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* [1, 11], bakterii zaliczanych do grupy psychrotrofów [1] oraz kilku bakterii gramodatnich, np. niektórych streptokoków [7, 10] i bakterii odpowiedzialnych za stany zapalne wymienia u krów [4, 5]. Aktywność układu LP względem licznych szczepów bakterii oraz duża łatwość jego wzbudzenia przyczyniły się do rozpoczęcia badań dotyczących możliwości wykorzystania omawianego układu do mikrobiologicznej stabilizacji mleka surowego [1] oraz podczas jego transportu [3], a także do poprawienia jakości higienicznej produkowanych serów [6].

Prezentowane badania dotyczą możliwości wykorzystania bioenzymatycznej metody w mikrobiologicznej stabilizacji mleka surowego w krajowych warunkach jego uzyskiwania i skupu.

MATERIAŁ I METODY

1. Schładzanie

Do zbadania wpływu chłodzenia i przechowywania mleka w niskiej temperaturze stosowano chłodziarkę typu CH-1400 /Alfa-Laval/. Końcową temperaturę przechowywania mleka, $+4^{\circ}\text{C}$, uzyskiwano w ciągu 40 min.

2. Ogrzewanie

Ogrzewanie mleka przeprowadzano w urządzeniu "Microtherm" /Alfa-Laval/ opartym na płytowych wymiennikach ciepła. Mleko o przepływie 600 l/godz ogrzewano do temperatury 72°C i przetrzymywano przez 15 s przed jego schłodzeniem w zbiorniku do 4°C .

3. Aktywacja układu LP

Mleko przechowywane w 4°C było stabilizowane dwukrotnie. Pierwszą aktywację układu LP przeprowadzano w 48 godzinie doświadczenia przez dodanie do mleka w zbiorniku 9,72 g rodanku sodu /NaSCN/ oraz 19,5 g nadwęglanu sodu. Natomiast drugą aktywację układu LP przeprowadzano po 96 godzinach przechowywania mleka przez dodanie 6,48 rodanku sodu oraz 32,5 g nadwęglanu sodu. Mleko przechowywane w 10°C przez 72 godz było stabilizowane trzykrotnie. Aktywację przeprowadzano każdorazowo po dodaniu świeżej porcji mleka. Pierwszego, drugiego oraz trzeciego dnia do mleka dodano po 3,24 g NaSCN oraz odpowiednio 6,5 g, 13,0 g i 19,5 g nadwęglanu sodu.

Mleko przechowywane w temperaturze 17°C przez 48 godz było stabilizowane dwukrotnie. Aktywację układu LP w tym przypadku wykonywano podobnie jak w temperaturze 10°C.

Wykonując kolejną aktywację zakładano, że cała ilość dodanego rodanku sodu pozostaje w mleku, natomiast cała ilość H_2O_2 , jako produkt hydrolizy nadwęglanu, zanika w całości.

4. Ogólny zarys doświadczeń

W każdym układzie doświadczalnym, dotyczącym aktywności układu LP, schładzania oraz ogrzewania, co 24 godz pobierano do badań 200 l mleka świeżego. Czas trwania cyklu doświadczalnego w 4°C wynosił 104 godz, w 10°C - 72 godz oraz 17°C - 48 godz. Objętość końcowa mleka w każdym układzie doświadczalnym wynosiła odpowiednio: 100 l dla 4°C, 600 l dla 10°C oraz 400 l dla 17°C. Każdy układ doświadczalny powtórzono trzy razy.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W prezentowanych doświadczeniach z mlekiem chłodzonym ogólna liczba bakterii w mleku pozostawała stała przez około cztery dni. Należy zaznaczyć, że każdorazowo /co 24 godz/ do zbiornika chłodzącego dodawano niewielkie, szybko schładzane ilości mleka świeżego.

Wyniki uzyskane w doświadczeniu /tab. 1, rys. 1/ wskazują, że ogrzanie mleka przed jego dodaniem do zbiornika chłodzącego eliminowało prawie zupełnie bakterie z grupy coli /ich liczba w mleku świeżym wahała się od 250 do 5700 /ml/ oraz istotnie zmniejszało liczbę bakterii psychrotrofowych. Podczas przechowywania w niskiej temperaturze mleka uprzednio ogrzanego liczba bakterii psychrotrofowych jednakże stopniowo wzrastała, natomiast ogólna liczba bakterii w tym mleku pozostawała na stałym poziomie w ciągu całego okresu obserwacyjnego. Obserwacja ta pozostaje w zgodzie z wynikami podanymi przez Zalla i Chena [12]. Na podstawie tych doświadczeń można wnioskować, że z mikrobiologicznego punktu widzenia przetrzymywanie uprzednio ogrzanego mleka w gospodarstwie nie może być dłuższe niż siedem dni.

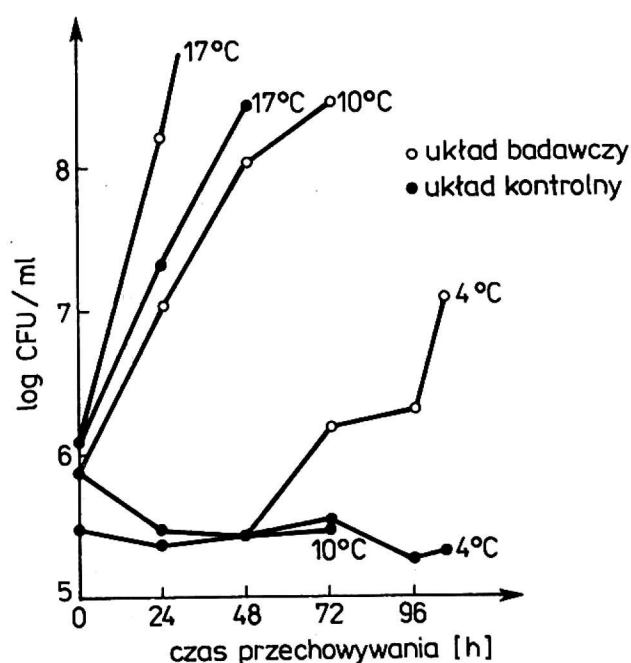
Tabela 1

Ilorazy liczby bakterii po 104 godz przechowywania mleka utwalonego oraz przeciętnej liczby bakterii mleka świeżego*

Bakterie	Metody utwalania jakości mleka		
	schładzanie	ogrzewanie + schładzanie	aktywacja LP
Ogólna liczba bakterii	22	0,28	0,48
Bakterie z grupy coli	7,2	0	0,38
Psychrotrofy	16	0,32	0,25

* Średnie wartości z doświadczeń z mlekiem o różnej początkowej jakości higienicznej.

Uzyskane wyniki wskazują na możliwość przechowywania mleka w temperaturze 4°C, przy kilkakrotnej jego stabilizacji, przez 104 godz. W tak przechowywanym mleku nie tylko ogólna liczba bakterii pozostaje na stałym poziomie, ale również liczba bakterii z grupy coli oraz liczba bakterii psychrotrofowych nie ulegają zmianie. Jakość higieniczna mleka surowego, przechowywanego w 10°C, uległa nie tylko stabilizacji, lecz nawet znacznej poprawie. Spostrzeżenia te są zgodne z informacjami podanymi przez Korhonena [8]. Mleko stabilizowane w temperaturze 17°C, aczkolwiek ma znacznie lepszą jakość higieniczną w porównaniu do mleka "kontrolnego", to nie może być przechowywane dłużej niż 24 godziny.



Rys. 1. Zmiany ogólnej liczby bakterii w mleku stabilizowanym układem LP oraz w mleku układu kontrolnego

Wyniki aktywacji układu LP w mleku przechowywanym w temperaturze 10°C świadczą o szczególnie dużej przydatności bioenzymatycznej metody konserwacji mleka. W związku z tym aktywacja układu LP w połączeniu z częściowym schładzaniem mleka w wodzie studziennej może być skuteczną metodą stabilizacji mleka surowego, oczywiście po uzyskaniu zgody na jej stosowanie.

Z praktycznego punktu widzenia, stosowanie bioenzymatycznej metody powinno być korzystniejsze w porównaniu do metody z użyciem czystego nadtlenu wodoru w stężeniu 800 ppm [9]. W omawianej w tej pracy metodzie niezbędne ilości stabilizatorów są minimalne i mogą być użyte w formie zestalanej, a tym samym mniej niebezpiecznej i wygodniejszej w użyciu. Na prośbę autora Instytut Chemii Przemysłowej w Warszawie opanował technologię zestalania nadtlenu wodoru /na podstawie węgla/ oraz wyprodukował w skali eksperymentalnej tabletki do mikrobiologicznej stabilizacji mleka surowego. Dwie tabletki, jedna o zawartości 2,0 mM rodan-ku sodu oraz druga o zawartości 2,5 mM H_2O_2 , łącznie podane do 10 l mleka świeżego, są w stanie zachować jego jakość mikrobiologiczną w czasie istotnym z praktycznego punktu widzenia. Należy jednakże mieć na uwadze, że ewentualne stosowanie w praktyce bioenzymatycznej metody nie zwalnia ani producentów, ani służby mleczarskiej z zasad higienicznego postępowania z mlekiem.

LITERATURA

1. Björck L.: Antibacterial effect of the lactoperoxidase system on psychrotrophic bacteria in milk. *J. Dairy Res.*, 45: 109-118, 1978.
2. Björck L., Rosen C.G., Marshall V., Reiter B.: The antibacterial activity of the lactoperoxidase system in milk against pseudomonas and other Gram-negative bacteria. *Appl. Microbiol.*, 30: 199-204, 1975.
3. Björck L., Claesson O., Schulthess.: The lactoperoxidase /thiocyanate/ hydrogen peroxide system as a temporary preservative for raw milk in developing countries. *Milchwissenschaft*, 34: 726-729, 1979.
4. Brown R. W.: Compounds affecting *Streptococcus agalactiae* growth in milk. *J. Dairy Sci.*, 17, 797-802, 1974.
5. Brown R. W., Mickelson M. N.: Lactoperoxidase, thiocyanate, and free cysteine in bovine mammary secretions in early dry period and at the start of lactation and their effect on *Streptococcus agalactiae* growth. *Am. J. Vet. Res.*, 40: 250-255, 1979.
6. Goos A.: Ph. D. Thesis. Federal Dairy Research Centre. Kiel, 1980.
7. Hogg O., Jago G. R.: The antibacterial action of lactoperoxidase. The nature of the antibacterial inhibitor. *Biochem. J.*, 117: 779-790, 1970.

8. Korhonen H.: A new method for preserving raw milk. The lactoperoxidase antibacterial system. *World Animal Review*, 35: 23-29, 1980.
9. Lück H.: Milk hygiene. FAO. WHO Monograph., 48, 1962.
10. Oram J. D., Reiter B.: The inhibition of Streptococci by lactoperoxidase, thiocyanate and hydrogen peroxide. The effect of the inhibitory system on susceptible and resistant strains of group N. Streptococci. *Biochem. J.*, 100: 337-381, 1966.
11. Reiter B., Marshall V., Björck L., Rosen C. G.: The nonspecific bacterial activity of the lactoperoxidase-thiocyanatehydrogen peroxide system of milk against *E. coli* and some Gram-negative pathogens. *Infect. Immunity*, 13; 800-807, 1976.
12. Zall R. R., Chen J. H.: Heating and storing milk on dairy farms before pasteurisation in milk plants. *J. Dairy Sci.*, 64: 1540-1544, 1981.

M. Zajac

THE ACTIVATION OF THE LACTOPEROXIDASE SYSTEM WITH REGARD TO ITS USE FOR MICROBIOLOGICAL STABILIZATION OF RAW MILK

Summary

Three following methods of the milk quality preservation were tested: cooling, heating+cooling and activation of the lactoperoxidase system /LP/.

In case of the cooled milk the results obtained prove that standard plate count /SPC/ increases after 3-4 days of storage. No such increase was observed with heated milk. The results show, that, at 4°C, the SPC in the LP-activated milk remained almost unchanged for a least 104 h, a at 10°C the activation resulted in a lag-phase of at least 72 h, but at 17°C this was reduced to less than 24 h.

It may be concluded that the freshness preservation of refrigerated farm milk may be extended by heating the milk prior to cooling or by the activation of the LP system.

М. Зайонц

АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ ЛАКТОПЕРОКСИДАЗЫ ОТНОСИТЕЛЬНО ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАБИЛИЗАЦИИ СЫРОГО МОЛОКА

Р е з ю м е

Исследовали три метода фиксации качества молока: охлаждение, подогревание + охлаждение и активирование системы лактопероксидазы (ЛП).

Результаты исследования охлажденного молока показывают, что общее количество бактерий (SPC) увеличивается в течение 3-4 суток его хранения. Такого увеличения не наблюдалось в подогретом, а затем охлажденном молоке или в молоке с активной системой ЛП. Результаты, полученные в температуре 4⁰С, показали отсутствие изменений общего числа бактерий в молоке, стабилизированном в течение всего периода наблюдений (104 часа). Замедление роста бактерий в стабилизированном молоке наблюдалось до 72 часов в температуре 10⁰С или до 24 часов в температуре 17⁰С. Полученные результаты показали, что свежесть молока в условиях молочной фермы можно продлить его подогревом и последующим охлаждением или активацией системы лактопероксидазы.