

Gıdalarda Laktoperoksidaz Sistemin Kullanımı

Hilal Yıldız^{1*}, Selahattin Sert¹

¹Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240 Erzurum
*yildizh@atauni.edu.tr

Giriş

Gıdaların korunmasında kimyasal koruyucu kullanımının tüketici tarafından istenmemesi sebebiyle, dikkatler doğal antimikrobiyal sistemlere yönelmiş ve bu sistemlerden biri olan laktoperoksidaz sistemi (LP) bu amaca yönelik olarak her geçen gün önem kazanmaya başlamıştır. Laktoperoksidaz, tiyosiyanat iyonu (SCN⁻) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) olmak üzere üç komponentten oluşan LP sistemi, sadece bu komponentlerin tümünün varlığında aktiftir. Laktoperoksidaz, H₂O₂ varlığında tiyosiyanatın oksidasyonunu katalizlemekte ve antimikrobiyal özelliklere sahip ara ürünler üretmektedir. Bu ürünler ise bakteri, küf ve virüslere karşı geniş bir antimikrobiyal etki göstermektedir. Bu derleme çalışmasının amacı, LP sistemin antimikrobiyal etki spektrumunu ve bu sistemin süt endüstrisi ve diğer gıda sistemlerinde kullanımını ilgili literatürler ile değerlendirmektir.

Anahtar Kelimeler: Laktoperoksidaz, Doğal antimikrobiyaller, Gıda kaynaklı patojenler, Süt

Giriş

LP Sistemin Bileşenleri

Laktoperoksidaz (LP) sistemi; laktoperoksidaz, tiyosiyanat iyonu (SCN⁻) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) olmak üzere üç komponentten oluşmaktadır (1, 2). Bu komponentlerden biri olan laktoperoksidaz (LP), doğal bir enzim grubu olan peroksidaz ailesinin bir üyesidir. LP sütte bulunan bir oksidoredüktaz olup, patojen mikroorganizmalara karşı yeni doğan yavrunun bağırsak sistemlerini ve meme bezlerini korumada önemli bir role sahiptir. LP enzimi inek ve insan sütünün normal bir bileşenidir ve şimdiye kadar test edilen tüm memelilerin sütünde rastlanmıştır (2). Memelilerin meme, tükürük ve gözyaşı bezleri ile bunlara ait salgılarda bulunmakta ve hem kimyasal hem de immünolojik olarak benzer özellikler göstermektedir. (2, 3). LP, 608 aminoasit rezidüsü içeren tek bir polipeptit zincir ihtiva eder ve molekül ağırlığı 78 kDa'dur. Yüksek bir izoelektrik noktaya sahip bir glikoprotein olup en az 10 fraksiyonu bilinmektedir (2, 4). LP'nin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özelliği ve buna ek olarak farklı karsinogenleri parçalama ve hayvan hücrelerini peroksidatif etkilere karşı koruması onun biyolojik önemini göstermektedir. LP sistemin antioksidan olarak da rol oynadığı ve bu nedenle memeli hücrelerini koruduğu da bildirilmiştir (2).

LP'nin antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu olan tiyosiyanat anyonu (SCN^-) ise, hayvan dokuları ve salgılarında bulunmaktadır. Özellikle meme, tükürük, tiroid bezleri ve onların salgılarında bulunmakta ve konsantrasyonu hayvanın türüne, yemleme şekline, laktasyon dönemine, yem kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Tiyosiyanat konsantrasyonu, inek sütünde kan serum seviyesi, cins, tür, meme sağlığı ve yem tipindeki farklılıklara göre değişir. Tüm bu özellikler dikkate alındığında miktarı 1-15 ppm arasında değişmekle beraber taze inek sütünde 1-10 mg/l arasındadır (2, 3). LP'nin antibakteriyal aktivitesinden sorumlu olan tiyosiyanatın en önemli ara oksidasyon ürünü fizyolojik pH'da hipotiyosiyanat (OSCN^-)'dır ve OSCN^- , H_2O_2 'nin 1 mol/mol sitokiyometrik oranında üretilir. Antimikrobiyal aktiviteden sorumlu diğer ürünler ise, siyanosülfüroz ve siyanosülfirik asittir. Bu bileşenler bakteriyal proteinlerin sülfhidril gruplarını okside edebilirler. Hipotiyosiyanat anyonunun bakterileri yok etmede arabulucu olduğu düşünülmektedir (2,5). Tiyosiyanatın glikozinolat ve siyanojenik glikozitler olmak üzere iki önemli diyetel kaynağı vardır. Lahana, karalahana, Brüksel lahanası, karnabahar, şalgam gibi sebzeler glikozinolatlarca zengin besinlerken, siyanojenik glikozitler ise, patates, darı, mısır, şeker kamışı, bezelye ve fasulyede bulunmaktadır (2).

H_2O_2 , LP sistemin 3. bileşenidir ve normalde çiğ sütte bulunmaz. Polimorfonükleer lökositler ve bazı mikroorganizmalar tarafından üretilir. Ayrıca askorbik asidin, glikoz oksidazın, ksantin oksidaz tarafından hipoksantin oksidasyonları yoluyla da üretilebilir (1, 2, 3). Çoğu laktobasil, laktokok ve streptokoklar aerobik şartlarda LP sistemi aktive etmek için yeterli miktarda H_2O_2 üretirler. H_2O_2 sisteme dışarıdan ilave edildiği gibi, sodyum perkarbonat, glikoz oksidaz gibi H_2O_2 üreten sistemlerin ilavesiyle de sağlanabilir (2).

LP Sistemin Çiğ Sütün Korunması Amacıyla Kullanımı

Gıda ürünlerinde LP sistemin en yaygın kullanımı, depolama ve taşınma süresince çiğ sütün korunması amacıyla süt endüstrisinde uygulanmaktadır. Sütte mevcut LP sistemin antimikrobiyal ajanları, bozucu ve patojen birçok mikroorganizmanın inhibisyonunu sağlamakta ve böylece sütün mikrobiyolojik kalitesi artmaktadır. Sütten izole edilen G(-) çubuk bakteriler LP sisteme maruz bırakıldıklarında, bu mikroorganizmaların en az %91'nin 30°C 'de 4 saat içerisinde öldüğü belirlenmiştir. LP sistemin bozucu mezofil bakterileri kontrol altına alması konusunda da çalışmalar yapılmış ve bu sistemin manda sütlerini hem çevre hem de buzdolabı sıcaklığında koruduğu rapor edilmiştir. LP sistem ile ulaşılan antibakteriyal etkinin süresinin sütün depolama sıcaklığı ile ters orantılı olduğu, 30°C , 25°C , 20°C ve 15°C 'de depolanan sütlerde LP sistemin antibakteriyal etkisinin sırayla 7-8, 11-12, 16-17 ve 24-26 saat devam ettiği belirtilmiştir. Araştırmalar, LP sistem sayesinde çiğ sütün toplanma ve naklinde hijyenik kalitesinin önemli ölçüde

korunduğunu ve aynı şekilde çiğ manda sütlerinin de 30 °C'de dahi kalitesinin korunduğunu göstermiştir (2). 0.25 mM sodyum tiyosiyanat ve 0.25 mM hidrojen peroksit eklenerek buzdolabı sıcaklıklarında depolanan çiğ sütte LP sistemin, 4 ve 8°C'de *L. monocytogenes*'e karşı bakterisidal bir etki gösterdiği ve bu aktivitenin sıcaklığa, inkübasyon süresine ve test edilen *L. monocytogenes* suşuna bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir (6). Keçi sütünde LP sistemin aktivasyonu üzerine yapılan bir çalışmada 8°C'de 5 gün depolanan keçi sütündeki *E. coli* sayısının kontrole göre daha düşük olduğu bulunmuştur. LP sistemin *Pseudomonas fluorescens*'a karşı ise bakteriyosidal olduğu ve *P. fluorescens*'in seviyesinde ilk 24 saat içerisinde 4 °C'de 1.69 log unit ve 8°C'de 1.85 log unit seviyelerinde azalma gösterdiği rapor edilmiştir (7).

Fermente Süt Ürünlerinin Üretimi Üzerine LP Sisteminin Etkisi

LP sistem tarafından oluşturulan antimikrobiyal bileşenlerin, starter aktivitesini engelleyerek son ürünün kalitesini etkilediği ve fermente süt ürünlerinin üretimi süresince LP sistemin reaktivasyonunun üretim problemlerine yol açtığı belirtilmiştir (2). LP ile aktifleştirilmiş sütte üretilen OSCN⁻ ise starter kültürler tarafından laktik asit üretimini azaltmaktadır (8). Peynir yapımında yaygın olarak kullanılan termofilik laktik starter kültürler üzerine LP sistemin etkisi araştırılmış ve bu kültürlerin LP sisteme karşı oldukça hassas olduğu ve aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Ancak bu hassasiyetin kullanılan suşa göre değiştiği, karışık starter kültür suşlarının tek suşlu kültürlerle oranla LP sisteme daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (2). Fermente süt ürünlerinin imalinde LP ile muamele edilmiş süttün başarılı bir şekilde kullanımını etkileyen faktörler arasında; kullanılan süttün çeşidi, kullanılan starter kültürün türü ve suşu, sütteki LP sistemi aktifleştirmek için kullanılan tiyosiyanat ve H₂O₂'nin miktarı, tiyosiyanat ve H₂O₂'nin sütteki doğal seviyesi, LP ile aktifleştirilmiş süttün sıcaklığı, oluşan antibakteriyal bileşenler, inkübasyon süre ve sıcaklığı, starterlerin inokülasyon oranlarının olduğu belirtilmiştir (2).

LP ile muamele edilmiş inek süttünden çeşitli sert ve yumuşak peynir yapma imkanları araştırılmış ve LP ile işlenmiş inek süttünden yapılan taze peynirlerin veriminin, kontrol süttlerden yapılan peynirlere oranla önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür. İşlem görmemiş süttten yapılan peynirlerde yağ geçişi %85 oranındayken, LP ile aktifleştirilen süttlerde yağın peynire geçişinin tam olduğu saptanmıştır. LP sistem muamelesinin, peynirlerin pH seviyelerini ve duyuşal özelliklerini etkilemediği, mikrobiyolojik yük ve pH seviyesinin daha uygun olduğu ifade edilmiştir (9,10). Koyun süttündeki LP sistem aktivitesinin bu süttlerden elde edilen bazı peynir çeşitlerinde, G(-) psikrotrofların proteinaz aktivitesinden ileri gelen yumuşama ve aşırı proteolizi önlemede yararlı olduğu ve taze peynirlerin imalinde kullanılan pastörize koyun süttündeki LP sistem

aktivasyonunun, sıcaklığa toleranslı mikroorganizmaların neden olduğu istenmeyen etkileri kontrol etmede yarar sağladığı da çeşitli çalışmalardan rapor edilmiştir (2).

LP Sistemin Potansiyel Uygulamaları

Süt endüstrisinin yanı sıra LP sistemin farklı uygulamaları da yer almaktadır. Termal prosesler öncesi LP sistemin aktifleştirilmesi durumunda yüksek sıcaklık yerine daha düşük sıcaklık uygulamalarına imkan sağlandığından enerji tasarrufu söz konusu olmaktadır. Bu duruma ek olarak LP ve düşük sıcaklık uygulamaları salata sosu, meşrubat ve tatlı çeşitleri gibi yüksek sıcaklığa hassas gıdaların besin ve kalite özelliklerinin korunmasına da yardımcı olmaktadır. LP sistem taze balık bifteklerinin ve etlerin yüzeyindeki *Listeria monocytogenes*'in inhibisyonu ve bebekler için hazırlanan sütlerdeki *E.coli* ve *S. typhimurium*'un gelişimini geciktirmesi amacıyla da kullanılmaktadır. LP sistemin ayrıca kozmetiklerin korunmasında da etkili olduğu rapor edilmiş ve ağız ve diş sağlığının korunmasında uygun peroksidad preparasyonlarının son derece etkili olduğu ifade edilmiştir (2).

Sonuç

Sonuç olarak LP sistem hem gıdalarda hem de farmakolojik uygulamalarda koruyucu olarak kullanılabilen ve diğer koruyucularla da sinerjistik bir etki sergileyebilmesi bakımından oldukça önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- 1.Nicholette EB, Alistair SG, Michael JL. 1999. Contribution of the lactoperoxidase system to the keeping quality of pasteurized milk. *Journal of Dairy Research*, 66: 73-80.
- 2.Seifu E, Buys, EM, Donkin, EF. 2005. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 137-154.
- 3.Madureira AR, Pereira CI, Gomes AMP, Pintado ME, Malcata FX. 2007. Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Research International*, 40:1197–1211.
- 4.Boots JW, Floris R. 2006. Lactoperoxidase:From catalytic mechanism to practical applications. *International Dairy Journal* 16: 1272-1276.
- 5.Siragusa GR, Johnson MG. 1989. Inhibition of *Listeria monocytogenes* Growth by the Lactoperoxidase-Thiocyanate-H₂O₂ Antimicrobial System. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (11) 2802-2805.
- 6.Gaya P, Medina M, Nuñez M. 1991. Effect of the Lactoperoxidase System on *Listeria monocytogenes* Behavior in Raw Milk at Refrigeration Temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 57 (11) 3355-3360.
- 7.Zapico P, Gaya P, Nuñez M, Medina M. 1995. Activity of Goats' Milk Lactoperoxidase System on *Pseudomonas fluorescens* and *Escherichia coli* at Refrigeration Temperatures. *Journal of Food Protection*, 58 (10) 1136-1138.
- 8.Roginski H, Broome MC, Hickey MW. 1984. Non-phage inhibition of group N streptococci in milk. 1. The incidence of inhibition in bulk milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, 39 (1) 23-26.
- 9.Zall RR, Chen JH, Dzurec DJ. 1983. Effect of thiocyanate-lactoperoxidase-hydrogen peroxide system and farm hea treatment on the manufacturing of Cottage cheese and Cheddar cheese. *Milchwissenschaft*, 38: 203-206.
10. Lara R, Mendoza A, de la Cruz I, Garcia HS. 1987. Effect of the lactoperoxidase system on yield and characteristics of fresh type cheese. *Milchwissenschaft*, 42: 773-775.