

*Anna Marietta Salejda, Grażyna Krasnowska*

## BIOAKTYWNE SKŁADNIKI JAJA KURZEGO – MOŻLIWOŚCI APLIKACYJNE W BIOKONSERWACJI MIĘSA ORAZ JEGO PRZETWORÓW

Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością  
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu  
Kierownik: prof. dr hab. *T.Trziszka*

Słowa kluczowe: biokonserwacja, białka jaja kurzego, lizozym, cystatyna, mięso.  
Key words: biopreservation, hen egg proteins, lysozyme, cystatin, meat.

Utrwalanie żywności za pomocą substancji pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego jest przedmiotem zainteresowań zarówno producentów żywności, jak i jej konsumentów. Obserwuje się bowiem przyjęcie ogólnego kierunku badań związanego z poszukiwaniem nowych metod przedłużania trwałości produktów spożywczych, będących alternatywą dla powszechnie stosowanych syntetycznych dodatków do żywności. W branży mięsnej również poszukuje się nowych źródeł związków hamujących rozwój bakterii odpowiedzialnych za psucie się mięsa i jego przetworów. Jednym ze sposobów przedłużania trwałości żywności jest wykorzystanie bioaktywnych składników wyizolowanych z jaja. Mechanizm działania niektórych z nich w układach mięsno-tłuszczowych, jest już dobrze poznany, inne są przedmiotem badań.

Jaja kurze są doskonałym źródłem białek o różnorodnych właściwościach biologicznych, fizykochemicznych czy technologicznych (1). Ich aktywność przeciwdrobnoustrojowa może być wykorzystana w utrwalaniu mięsa i jego przetworów. Działanie bakteriobójcze i/lub bakteriostyczne białek wyizolowanych z surowca jajczarskiego związane jest z lizą ściany komórkowej patogennych bakterii (np. lizozym), inhibicją bakteryjnych proteaz (np. owomukoid, owoinhibitor, cystatyna i owostatyna) czy też ze zdolnością do chelatowania jonów metali (np. foswityna, owotransferyna) (1, 2, 3).

### **Lizozym**

Lizozym jaja ma pożądane właściwości jako substancja konserwująca żywność i jest uważany za jej bezpieczny składnik. Wykazano, iż wyizolowany czysty enzym może wydłużyć termin przydatności do spożycia różnorodnych produktów żywnościowych (4). Największą liczbę patentów, dotyczących praktycznego wykorzystania lizozymu, opracowano w Japonii, gdzie stosuje się go do konserwowania wielu produktów spożywczych, w tym między innymi mięsa i produktów mięsnych, ryb i ich przetworów, mleka i produktów mleczarskich, świeżych warzyw, owoców, wina i sake. W krajach Unii Europejskiej, zgodnie z wykazem dopuszczonych dodatków

do żywności, może być wykorzystywany w ilości *quantum satis* tylko w produkcji serów dojrzewających (5).

Lizozym jest enzymem bakteriolitycznym, występującym powszechnie w przyrodzie w postaci monomeru. Białko jaja stanowi bogate i łatwo dostępne jego źródło. W białku jaja kurzego lizozym stanowi 3,5% jego białek (6, 7). Lizozym (muramidaza) jest zasadowym białkiem globularnym, o masie cząsteczkowej 14,4 kDa. Łańcuch polipeptydowy zbudowany z 129 aminokwasów. Jego układ przestrzenny warunkowany jest 4 wiązaniami disiarczkowymi. Wykazuje aktywność w szerokim zakresie pH w żywności, jakkolwiek optimum występuje przy pH 5,3 do 6,4. Enzym ten jest stabilny termicznie w środowisku kwaśnym, natomiast przy wyższych wartościach pH następuje jego inaktywacja. Czynnikiem stymulującym aktywność lizozymu przy wyższych wartościach pH jest bufor fosforanowy. Posiada zdolność hydrolizy wiązań  $\beta$ -glikozydowych pomiędzy kwasem N-acetylmuraminowym i N-acetyloglukozaminą ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich (1, 4, 6, 8, 9). W przypadku bakterii Gram-ujemnych, dodatkową barierę dla lizozymu bakteryjnego stanowi błona zewnętrzna, składająca się z białka, fosfolipidów i lipopolisacharydów (10).

Istnieje możliwość rozszerzenia zakresu działania lizozymu o bakterie Gram-ujemne poprzez jego termiczną modyfikację, zmiany pH lub poprzez działanie wysokim ciśnieniem. Stwierdzono, że denaturacja cieplna lizozymu spowodowana wzrostem temperatury, powoduje postępującą utratę aktywności enzymatycznej, podczas gdy jego działanie przeciwbakteryjne wobec bakterii Gram-ujemnych jest znacznie zwiększone. Aktywność lizozymu może być też zwiększona obecnością środków konserwujących, zwłaszcza nizinny, azotanów (III) i mleczanu sodu, lub substancji, takich jak kwas wersenowy (EDTA), ester butylowy kwasu 4-hydroksybenzoesowego (butylparaben), fosforan trisodowy i chlorek sodu. Inną z metod prowadzących do zwiększenia aktywności enzymu w stosunku do bakterii Gram-ujemnych jest stworzenie koniugatów lizozymu z substancjami czynnymi. Badania przeprowadzone do tej pory dotyczyły tworzenia kompleksów z kwasem palmitynowym, dekstranem, pięciopeptydem Phe–Phe–Val–Ala–Pro czy galaktomannanem (9, 11, 12, 13, 14).

Lizozym wydaje się spełniać kryteria biologicznej substancji utrwalającej z możliwością aplikacji w mięsie oraz jego przetworach. *Malicki* i współpr. (9) określili jego wpływ na trwałość i bezpieczeństwo mikrobiologiczne kielbasy drobiowej parzonej, zabezpieczonej osłonką barierową, do której przed obróbką termiczną dodano 200 ppm lizozymu w postaci solanki nastrzykowej. Kielbasy przechowywano przez okres 28 dni w temp. 4°C. Przez cały okres przechowywania, ogólna liczba bakterii tlenowych w kielbasach z dodatkiem lizozymu była o 2–3 log jtk  $\times$  g<sup>-1</sup> niższa niż w próbkach kontrolnych. W próbce kontrolnej granica zepsucia mikrobiologicznego (5 log jtk  $\times$  g<sup>-1</sup>) została przekroczona już w 14. dniu przechowywania, co wskazuje, że pod wpływem dodatku lizozymu trwałość produktu wydłużyła się co najmniej dwukrotnie. Dodatek lizozymu skutecznie hamował przez 3 tygodnie wzrost bakterii fermentacji mlekowej. Z uzyskanych rezultatów wynika, że dodatek lizozymu wpływa korzystnie na stan mikrobiologiczny produktów mięsnych i znacznie wydłuża ich trwałość podczas chłodniczego przechowywania. Można wywnioskować, że lizozym dodany do surowca, nie stracił swoich właściwości nawet po obróbce termicznej w temp. 69°C (temperatura wewnątrz batonu kielbasy).

W pracy *Kijowskiego* i współprac. (15) oceniano wpływ lizozymu o różnej aktywności na mikrobiologiczną trwałość i cechy sensoryczne mięśni piersiowych kurcząt. Powierzchnię mięśni spryskano roztworem lizozymu o aktywności 2400, 6000 i 12000 U/cm<sup>3</sup>, a następnie mięso pakowano w styropianowe tacki z wkładkami absorbującymi i owinięto je przepuszczalną folią polietylenową. Przeprowadzono analizę mikrobiologiczną w dniu produkcji, po 48, 72, 120 i 144 godz. przechowywania w temp. 4°C. Z badań tych wynika, że lizozym wykazał działanie inhibujące w stosunku do bakterii tlenowych i wskaźnikowych. Szczególnie skuteczne okazało się zastosowanie roztworu lizozymu o aktywności 12000 U/cm<sup>3</sup>, pozwalające dwudziestokrotnie zredukować liczbę bakterii tlenowych. Uzyskane wyniki oceny sensorycznej wykazały, że lizozym może być również skutecznym środkiem przedłużającym przydatność konsumpcyjną porcjowanego mięsa drobiowego. Jakkolwiek w kilku próbkach (bez dodatku lizozymu, jak też z obecnym enzymem) wyizolowano bakterie *Salmonella*. Oznacza to, że lizozym nie zahamował skutecznie jej rozwoju. Wobec tego, istotnego znaczenia nabiera rozszerzenie spektrum działania lizozymu, na przykład poprzez jego modyfikację z wykorzystaniem EDTA – obejmujące działanie również na Gram-ujemne bakterie *Salmonella* (15).

Natrysk lizozymem o wyższej aktywności zastosował zespół *Kijowskiego* (16) w badaniach nad jego wpływem na jakość i czystość mikrobiologiczną chłodzonych nóg drobiowych. W badaniach dowiedziono, że zastosowanie lizozymu znacząco ograniczyło wzrost bakterii tlenowych, tym samym ograniczając niekorzystne zmiany cech sensorycznych. W próbkach zabezpieczonych roztworem o najwyższej aktywności, tj. 48000 U/cm<sup>3</sup>, odnotowano 20-krotnie niższą liczbę bakterii tlenowych w porównaniu do prób kontrolnych. Rezultaty badań wskazują na możliwość wykorzystania lizozymu, jako substancji przedłużającej trwałość przechowalniczą porcjowanego mięsa drobiowego, przy zachowaniu jego cech sensorycznych, podczas 5. dniowego przechowywania w warunkach chłodniczych.

*Gill* i *Holley* (17) badali, jak powierzchniowa aplikacja lizozymu w roztworze żelatyny z EDTA i niziną, wpłynie na rozwój bakterii powodujących psucie oraz patogenicznych w szynce i kiełbasie bolońskiej. W próbkach z zaaplikowanym powierzchniowo roztworem żelatyny z badanymi substancjami nastąpiła redukcja (aż do 4 log jtk/cm<sup>2</sup>) liczby czterech testowanych bakterii Gram-dodatnich: *Bacillus thermospectra*, *Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc mesenteroides* i *Listeria monocytogenes* oraz zahamowanie ich wzrostu podczas 4. tygodniowego okresu przechowywania. W tym badaniu dodatek żelatyny zawierającej lizozym, nizinę i EDTA wywarł również bakteriobójczy efekt na rozwój *Salmonella typhimurium*. Natomiast liczba *Escherichia coli* O157:H7 w szynce z żelatynową powłoką, jak też w szynce z powłoką uzupełnioną w badane substancje, została zredukowana o 2 log jtk/cm<sup>2</sup> podczas całego okresu przechowywania. Oznacza to, iż sama tylko obecność żelatynowej powłoki spowodowała ograniczenie rozwoju bakterii. W kiełbasie bolońskiej natomiast w ogóle nie zaobserwowano wpływu zastosowanych powłok na wzrost *Escherichia coli* O157:H7.

Synergistyczny efekt lizozymu i substancji wspomagającej w utrwalaniu mięsa odnotowali również *Rao* i współprac. (18). W badaniach wykazano, że połączenie chitooligosacharydów z lizozymem jest bardziej efektywne w utrwalaniu rozdrobnionej jagnięciny, niż działanie tych substancji osobno. W próbkach zaszczepionych kom-

binacją chitoooligosacharydów i lizozymu nie zaobserwowano wzrostu *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* i *Bacillus cereus*. Substancje te, skutecznie zahamowały wzrost *Staphylococcus aureus*, co skutkowało przedłużeniem trwałości mięsa przechowanego chłodniczo do 15 dni.

Kolejną możliwością zastosowania lizozymu jako biokonserwanta jest włączenie go w opakowanie produktu żywnościowego. *Mecitiglu* i współpr. (19) badali jak częściowo oczyszczony lizozym, obecny w filmach zeinowych, wpływa na hamowanie rozwoju bakterii *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* i *Escherichia coli*. Efekt hamowania rozwoju Gram-ujemnych *Escherichia coli* uzyskano wykorzystując synergiczne działanie lizozymu z EDTA. Ze względu na duży koszt lizozymu o wysokim stopniu czystości, badacze użyli enzymu tylko częściowo oczyszczonego z innych białek, który następnie poddano liofilizacji i włączono w filmy zeinowe. Okazało się, iż w tak sporządzonym potencjalnym opakowaniu lizozym był stabilny i nie tracił aktywności podczas przechowywania przez osiem miesięcy w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  lub przez cztery miesiące w temp.  $4^{\circ}\text{C}$ . Lizozym włączony w filmy zeinowe wykazał bakteriobójczy efekt w przypadku bakterii *Bacillus subtilis* i *Lactobacillus plantarum*, natomiast rozwój *Escherichia coli* był hamowany po włączeniu w filmy również EDTA. Wyniki sugerują, iż częściowo oczyszczony lizozym w filmach zeinowych mógłby być skutecznym sposobem pakowania żywności, z uwzględnieniem opakowań dla przemysłu mięsnego.

Również biopolimerowe biokompozyty, opatentowane przez *Jarmoluka* i *Zimoch* (20), zawierające w swoim składzie lizozym i/lub cystatynę mogą znaleźć zastosowanie jako powłoka ochronna o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej w utrwalaniu mięsa i jego przetworów.

Lizozym może wykazywać działanie bójcze dla bakterii Gram-ujemnych, jeżeli wniknie do warstwy lipidowej, a następnie zaburzy jej potencjał elektrochemiczny poprzez wytworzenie kanałów jonowych w błonie komórkowej. Działanie przeciwbakteryjne lizozymu jaja może być niezależne od jego enzymatycznej funkcji, gdyż enzym, który utracił aktywność katalityczną nadal zachowuje swoje właściwości bakteriobójcze. W tym przypadku przeciwdrobnoustrojowe działanie lizozymu wiąże się z czynnikami strukturalnymi i specyficzną bakteriobójczą domeną. Z tego powodu celem badania *Cegielskiej-Radziejewskiej* i współpr. (2) było określenie właściwości antibakteryjnych preparatów lizozymu, zmodyfikowanych przez zastosowanie metody termochemicznej, w odniesieniu do wybranych szczepów bakterii, zwłaszcza bakterii Gram-ujemnych. Chemiczną modyfikację z użyciem  $\text{H}_2\text{O}_2$  o stężeniu od 10% do 20% prowadzono przez okres od 24 h do 4 dni i roztwór lizozymu ( $10 \text{ mg/cm}^3$ ) ogrzewano 20 min w temp. pomiędzy  $60$ – $75^{\circ}\text{C}$ . Po modyfikacji, otrzymane preparaty lizozymu suszono rozpyłowo. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badane preparaty lizozymu wykazywały różne stopnie aktywności antibakteryjnej wobec wybranych szczepów bakterii, w zależności od rodzaju bakterii i zastosowanego preparatu lizozymu. Przykładowo, w przypadku *Pseudomonas fluorescens*, większość analizowanych preparatów lizozymu wykazała się efektywnym działaniem bakteriostatycznym, podczas gdy monomer lizozymu wywarł nieznaczny efekt na zmniejszenie liczby tych bakterii. Wszystkie zastosowane zmodyfikowane termochemicznie preparaty lizozymu wykazywały wyższą skuteczność antibakteryjną przeciwko *Escherichia coli* niż monomer lizozymu.

Przeprowadzane badania dowodzą, że antybakteryjna aktywność wobec bakterii Gram-ujemnych zwiększa się wraz ze zmianą konformacji lizozymu. Zdecydowanie wyższą skuteczność modyfikowanego lizozymu w porównaniu z monomerem wobec bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, z rodzaju *Pseudomonas* i bakterii fermentacji mlekowej wykazał również ten sam zespół badaczy w swoich badaniach na rozdrobnionym mięsie wieprzowym przechowywanym chłodniczo (7).

## Cystatyna

Cystatyna stanowi ochronę przed bakteryjnymi lub wirusowymi peptydazami cysteinowymi. Cystatyna białka jaja kurzego, należąca do drugiej podrodziny cystatyn, jest silnym inhibitorem papainy i ficyny, katepsyn B, H, L oraz peptydaz papainopodobnych. Pozbawiona jest węglowodanów i cechuje się niską masą cząsteczkową wynoszącą 12,7 kDa, składa się z pojedynczego łańcucha polipeptydowego zbudowanego z 116 reszt aminokwasowych. Występuje w dwóch postaciach: ufosforylowanej o pI 5,6 i nieufosforylowanej o pI 6,5. Białko to jest bardziej termostabilne niż inhibitory proteaz otrzymywane z surowca jajczarskiego, jak owoinhibitor czy owomukoid – poddana krótkotrwałemu działaniu wysokiej temperatury (115°C) nie wykazuje spadku aktywności. Nie traci również stabilności nawet w ekstremalnych warunkach pH (1, 3, 10, 21).

Celem badania *Kopcia* i współpr. (22) było wydłużenie okresu przydatności do spożycia filetów z piersi kurczaka, przechowywanych 15 dni w warunkach chłodniczych w temp. 2°C, z wykorzystaniem roztworów lizozymu, cystatyny lub cystatyny zmieszanej z octanem sodu. Preparaty te nanoszono na powierzchnię mięsa poprzez zanurzanie filetów lub nasączenie podkładek absorpcyjnych, następnie mięso owijano w folię lub pakowano próżniowo. Stwierdzono, że zanurzanie mięsa drobiowego w roztworach substancji bioaktywnych zahamowało rozwój powierzchniowej mikroflory. Najefektywniejszy okazał się roztwór cystatyny i octanu sodu. Nasączenie podkładek absorpcyjnych również opóźniło rozwój mikroflory. Filety zanurzone w roztworze cystatyny lub cystatyny z octanem sodu zostały ocenione wyżej pod względem cech sensorycznych, szczególnie kiedy zastosowano pakowanie próżniowe, i zachowywały pożądaną jakość nawet po 10 dniach chłodniczego przechowywania. Porównując sposoby aplikacji bioaktywnych substancji, bardziej efektywną metodą okazało się zanurzanie drobiowych filetów w badanych roztworach.

Badanie nad bakteriobójczą aktywnością cystatyny przeprowadzili także *Węsierska* i współpr. (23). Uzyskane wyniki wskazały, że nawet niskie stężenie tego inhibitora proteaz działało bakteriobójczo na takie mikroorganizmy jak *Escherichia* i *Pseudomonas aeruginosa*. Zwiększając stężenie cystatyny uzyskano efekt hamowania wzrostu bakterii *Staphylococcus aureus*.

*Trziszka* i współpr. (24) opracowali preparat (o nazwie NPA) do kontaktu z żywnością, zawierający biologicznie aktywne substancje izolowane z białka jaja o działaniu antydróbnooustrojowym, w tym mieszaninę lizozymu, cystatyny, owoinhibitora i owomukoidu. Jest on naturalnym preparatem, działającym przeciwko mikroorganizmom patogennym i wykazujący szerokie spektrum aktywności wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz pleśni i drożdży. W patencie zaproponowano użycie NPA w systemach opakowań żywności, na przykład w antydróbnooustrojowo-

wych wkładkach absorbujących wyciek z produktów spożywczych, w tym z mięsa. Autorzy podają konkretne przykłady zastosowania tego preparatu w odniesieniu do surowca mięsnego. NPA zastosowano na powierzchni wkładek absorbujących wyciek mięsa i stwierdzono, iż mięso wieprzowe w kawałku o masie 0,5 kg może być przechowywane chłodniczo na wkładce przez 7 dni, zachowując świeżość. Innym sposobem wykorzystania preparatu jest stworzenie mieszaniny zawierającej NPA, lizozym, octan sodu oraz urotropinę i zanurzanie w niej elementów kulinarnych, takich jak udo lub pierś z kurczaka. W porównaniu do grupy kontrolnej (bez zastosowania NPA) stwierdzono, iż tego typu aplikacja pozwoliła na zmniejszenie ogólnej liczby drobnoustrojów o dwa rzędy logarytmiczne po 7 dniach chłodniczego przechowywania. Preparat można także zaaplikować poprzez bezpośredni dodatek do mięsa. W podanym przykładzie twórcy wynalazku dodali NPA do mięsa wołowego, uzyskując redukcję wzrostu pałeczek *Salmonella*, gronkowców, *Escherichia coli* i innych bakterii grupy coli, a także drożdży i pleśni.

Z opisu patentowego PL 212125 (20) wynika, że zol lub film zawierający cystatynę w ilości od 0,01 do 20% wagowych może działać przeciwdrobnoustrojowo po naniesieniu na produkty przemysłu mięsnego.

## Owotransferyna

Owotransferyna (konalbumina) jest glikoproteidem o masie cząsteczkowej 76,6 kDa, posiadającym aż 15 mostków dwusiarczkowych, który nie zawiera reszt kwasu fosforowego oraz wolnych grup SH. W białku jaja kurzego znajduje się 12–13% owotransferyny, która jest białkiem wysoce termolabilnym i koaguluje już w temp. 57°C. Stwierdzono, że wiąże jony żelaza i innych metali, takich jak miedź i glin. Zdolność wiązania jonów żelaza jest ważną cechą biologiczną owotransferyny sprawiającą, że pełni ona funkcję bakteriostatyczną. Skompleksowane żelazo nie może być wykorzystywane przez drobnoustroje, dla których jest ono niezbędnym czynnikiem wzrostowym. Największe powinowactwo do jonów żelaza konalbumina wykazuje w środowisku o pH ok. 6,0. Dysocjacja kompleksu konalbuminy z żelazem następuje dopiero przy pH poniżej 5,5. Owotransferyna wykazuje *in vitro* antydrobnoustrojową aktywność przeciwko różnym bakteriom Gram-ujemnym i Gram-dodatnim. Zbadano, iż do najbardziej wrażliwych gatunków należą: *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, a do najbardziej opornych *Proteus* spp. i *Klebsiella* spp. Istnieją dowody na posiadanie przez owotransferynę odrębnych mechanizmów działania bakteriostatycznego. Pierwszy, wyżej opisany, opiera się na chelatowaniu żelaza. Drugi jest oparty na niszczeniu biologicznych funkcji bakteryjnej błony cytoplazmatycznej – zarówno bakterii Gram-dodatnich, jak również Gram-ujemnych. Obydwa mechanizmy zależą od dostępności żelaza w środowisku (10, 21, 25).

Wiele prowadzonych badań dotyczy określenia zdolności owotransferyny do wiązania jonów metali i jej biologicznej aktywności. Większość z nich dotyczyła właściwości antibakteryjnych, opartych na wymiataniu i pozbywaniu się żelaza jako czynnika wpływającego pozytywnie na rozwój mikroorganizmów. Z drugiej strony, niewiele badań zostało poświęconych właściwościom przeciwutleniającym owotransferyny. Jakkolwiek, wiązanie żelaza przez owotransferynę może pośrednio

wpływać na zapobieganie utlenieniu lipidów (3). Co wskazuje na możliwość zastosowania tego białka w utrwalaniu mięsa i jego przetworów.

W badaniach Ko i współpr. (26) wykazano wzrost skuteczności przeciwdrobnoustrojowej owotransferyny wobec szczepów *L. monocytogenes* w wyniku dodania EDTA i/lub lizozymu. Jednakże aktywność *in vitro* nie miała odzwierciedlenia *in situ*, bowiem nie zaobserwowano zahamowania wzrostu badanych szczepów w mięśniach szynki pokrytych doświadczalną mieszaniną. Autorzy za przyczyny zaistniałego zjawiska podają m.in.: możliwość indukowania wzrostu mikroorganizmów przez składniki mięsa, nieznaną stabilność owotransferyny na powierzchni mięsa, możliwą penetrację składników mieszaniny do wnętrza próby czy niewłaściwe rozrowadzenie roztworu.

### **Pozostałe biologicznie aktywne składniki jaja kurzego**

W jaju głównymi składnikami białka, uczestniczącymi w oddziaływaniu przeciwko drobnoustrojom, są owotransferyna, owomucyna, awidyna oraz lizozym. Poza tym przeciwdrobnoustrojowe działanie wykazuje cała grupa inhibitorów bakteryjnych proteaz, takich jak owostatyna, owomukoid, owoinhibitor i cystatyna. Proteazy bakterii odgrywają ważną rolę w namnażaniu tych mikroorganizmów, dlatego ważne jest ich unieczynnienie.

W białku jaja kurzego owomucyna stanowi 1,5–3,5% wszystkich białek. Jej stężenie jest ok. czterokrotnie większe w białku gęstym niż w rzadkim. Wytrąca się podczas rozcieńczania białka jaja wodą lub po obniżeniu pH do 4,0. Odpowiada za lepkość białka jaja i utrzymanie prawidłowej struktury. Jest dużym białkiem o masie rzędu  $5,5\text{--}8,3 \cdot 10^6$  Da (1). W poprzednich latach owomucynę badano głównie z powodu jej roli w rozrzedzaniu białka jaja, jednak w ostatnim czasie wiele badań skupiło się na jej bioaktywnych właściwościach. Owomucyna może działać jako czynnik przeciwbakteryjny, silnie dezaktywując bakterie powodujące psucie żywności (27).

Awidyna, stanowiąca jedynie 0,05% zawartości białka jaja, jest przedmiotem zainteresowania naukowców w związku ze zdolnością wiązania biotyny, niezbędnej do wzrostu wielu drobnoustrojów. Nie dotyczy to jednak bakterii, które mogą syntetyzować tę witaminę. Stąd też traktuje się ją jako naturalny czynnik przeciwbakteryjny. Jest glikoproteiną z jednym mostkiem disiarczkowym, ma masę równą 63300 Da i silnie zasadowy charakter. Jest zbudowana z czterech podjednostek, z których każda ma pojedyncze miejsce wiążące biotynę. Powstający kompleks jest bardzo trwały w szerokim zakresie pH, w obecności różnych czynników denaturujących, enzymów proteolitycznych i rozpuszczalników organicznych (1, 21, 28).

Owostatyna jest antyproteazą o szerokim spektrum działania. Ta antyproteaza hamuje kilka metaloproteaz, takich jak kolagenaza, termolizyna, stromelizyna oraz z mniejszą skutecznością proteazy serynowe, włączając chymotrypsynę, trypsynę, elastazę neutrofilową, lecz również proteazy cysteinowe (papaina) i proteazy aspartylowe (pepsynę i reninę) (29).

Owomukoid występuje w białku jaja kurzego w ilości 11% wszystkich białek, jego masa cząsteczkowa jest równa 28 kDa. Owomukoid należy do białek o charakterze kwaśnym, zawiera w swoim składzie najwięcej cukrowców w porównaniu do pozostałych białek, co warunkuje doskonałą termostabilność, jednak nie ma wpływu na

jego biologiczną aktywność. Posiada właściwości unieczynniania trypsyny. Stwierdzono ponadto, że owomukoid nie traci swoich właściwości podczas ogrzewania, gdy pH nie przekracza wartości 7,0. Natomiast przy pH 9,0 w temp. 80°C owomukoid traci aktywność jako inhibitor trypsyny już po 3 min. Składnik ten, podobnie jak owoinhibitor, hamuje proteazy wg „standarowego” mechanizmu. Obydwa związki posiadają na swojej powierzchni wiązanie peptydowe, tak zwane „centra aktywne”, które specyficznie reagują z aktywnym miejscem pokrewnej proteazy. Ta interakcja skutkuje hydrolizą wiązania peptydowego i uformowaniem kompleksu enzym–inhibitor. Reakcja jest odwracalna i dysocjacja pozwala na uwolnienie aktywnej proteazy i rozdzielonego nieaktywnego inhibitora (1, 10, 29).

W białku jaja kurzego znajduje się również ok. 1,5% owoinhibitora, którego masa cząsteczkowa wynosi 49 kDa. Owoinhibitor zachowuje swoją aktywność przy pH 8,0 w temp. 100°C przez 30 min. Natomiast przy wzroście pH jego aktywność maleje. Hamuje proteazy serynowe, takie jak trypsyna i chymotrypsyna, ale też elastazę i bakteryjną protezę F. Mało jeszcze wiadomo o mechanizmie jego działania jako inhibitora wymienionych enzymów proteolitycznych (10, 29). Jednakże zastosowany jako składnik preparatu NPA (24), razem z lizozymem, cystatyną i owomukoidem, może wykazywać szerokie spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz pleśni i drożdży i może być wykorzystany do utrwalania mięsa i jego przetworów.

Spośród znanych białek jaja kurzego, dwa posiadają właściwości wiązania jonów metali: owotransferyna występująca w białku jaja (omówiona poprzednio), oraz foswityna będąca elementem żółtka. Zdolność wiązania jonów metali powoduje, iż białka te działają jako naturalne środki antybakteryjne i przeciwutleniające (3, 14, 21). Ze względu na antyoksydacyjne działanie foswityny można ją zastosować jako naturalny antyutleniacz w żywności, z tym że niewiele jest doniesień o jej szerszym zastosowaniu w przemyśle. W Polsce podjęto próby jej wykorzystania do przedłużenia trwałości margaryn mlecznych i masła (10).

Foswityna jest białkiem bogatym w fosfor składającym się z dwóch frakcji o masie cząsteczkowej odpowiednio 160 i 190 kDa. Frakcje te mogą dysocjować na mniejsze jednostki o masach cząsteczkowych w przedziale 37–45 kDa. Foswityna zawiera 12–13% azotu i ok. 10% fosforu. W składzie aminokwasowym foswityny znajduje się ok. 31% seryny, z którą głównie związany jest fosfor. Nie traci zdolności antyoksydacyjnych po pasteryzacji w temp. 61°C przez 3,5 min. Białko to jest skutecznym przeciwutleniaczem w przedziale wartości pH od 5,6 do 7,8, natomiast obniżenie pH do 3,8 powoduje zmniejszenie właściwości przeciwutleniających (30). Foswityna jest jednym z najsilniejszych chelatorów jonów metali. Aż 95% żelaza występującego w jajku znajduje się w żółtku i całe jest związane przez foswitynę. Po wyizolowaniu z jaja, jedna cząsteczka foswityny wiąże 2–3 atomy żelaza, natomiast potencjalnie może związać dużo więcej (nawet 60 atomów żelaza). Aktywność antyoksydacyjną foswityny można podnieść poprzez zastosowanie chemicznej modyfikacji, na przykład w wyniku połączenia foswityny z galaktomannanem poprzez kontrolowaną reakcję Maillarda (31). Badania Eckert i wspóln. (32) wykazały, że hydrolizaty foswityny otrzymane na drodze enzymatycznej hydrolizy z wykorzystaniem termolizyny z *B. thermoproteolyticus* Rokko cechują się wysoką zdolnością chelatowania jonów żelaza. Jednakże zastosowana modyfikacja enzy-

matyczna skutkowała obniżeniem aktywności przeciwdrobnoustrojowej otrzymanych hydrolizatów.

## Podsumowanie

Spośród bioaktywnych składników jaja kurzego, lizozym, jako jedyny, znajduje się na liście dozwolonych dodatków do żywności. Odnacza się pożądanymi właściwościami jako substancja konserwująca żywność i jest uważany za jej bezpieczny składnik. Wykazano, iż wyizolowany czysty enzym może wydłużyć termin do spożycia różnorodnych produktów żywnościowych. W celu rozszerzenia spektrum jego działania również na bakterie Gram-ujemne, niezbędne jest stosowanie różnorodnych modyfikacji lizozymu i tworzenie kombinacji z innymi substancjami. W przytoczonych badaniach przedstawiono możliwości aplikacyjne lizozymu do mięsa lub przetworów mięsnych w postaci solanki nastrzykowej, powierzchniowo poprzez natrysk lub powierzchniowo w formie zolu lub filmu.

Bioaktywnym składnikiem jaja kurzego jest także bakteriobójcza cystatyna, która po przeprowadzeniu szczegółowych badań, ma szansę stać się substancją konserwującą żywność w tym mięsa i przetworów mięsnych.

Podobnie w przypadku innych biologicznie aktywnych składników jaja kurzego, takich jak użyte w preparacie NPA owoinhibitor i owomukoid, czy badane: owotranferyna, owomucyna, awidyna, owostatyna czy foswityna. Szczególnie obiecujące jest działanie bakteriobójcze i przeciwutleniające, takich składników jaja jak owotranferyna i foswityna.

A.M. Salejda, G. Krasnowska

BIOACTIVE COMPOUNDS OF HEN EGG - POSSIBILITIES OF APPLICATION IN  
BIOPRESERVATION OF MEAT AND MEAT PRODUCTS

## PIŚMIENNICTWO

1. *Goląb K., Warwas M.*: Białka jaja kurzego – właściwości biochemiczne i zastosowania. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2005; 14(5): 1001-1010. – 2. *Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.*: Antibacterial activity of hen egg white lysozyme modified by thermochemical technique. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009; 228: 841-845. – 3. *Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R.*: (Eds.). *Bioactive Egg Compounds*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007. – 4. *Leśniewski G., Kijowski J.*: Egg white compounds. Lysozyme. W: *Bioactive Egg Compounds*. *Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R.* (Eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007, 33-40. – 5. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1129/2011 z dnia 11 listopada 2011 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1831/2003 poprzez ustanowienie unijnego wykazu dodatków do żywności, *Dz. U. L.* 295/1 z 12.11.2011. – 6. *Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Szablewski T., Kijowski J.*: Physico-chemical properties and antibacterial activity of modified egg-white lysozyme. *Eur. Food Res. Technol.*, 2010; 231: 959-964. – 7. *Cegielska-Radziejewska R., Szablewski T., Leśniewski G., Kijowski J.*: Przeciwbakteryjne działanie modyfikowanego lizozymu wobec mikroflory rozdrobnionego mięsa wieprzowego. *Zeszyty Naukowe UEP*, 2010; 205 – Towaroznawstwo w kształtowaniu jakości i cech prozdrowotnych żywności, dostępny: <http://www.e-wydawnictwo.eu/Document/DocumentPreview/2361>. – 8. *Leśniewski G., Kijowski J.*: Aktywność enzymatyczna lizozymu i jej wykorzystanie do utrwalania żywności. *Przem. Spoż.*, 1995; 4: 117-119. – 9. *Malicki A., Jarmoluk A., Brużewicz S.*: Wpływ dodatku

lizozymu na trwałość i bezpieczeństwo mikrobiologiczne kielbas w osłonce barierowej. *Acta Sci. Pol. Med. Vet.*: 2003; 2(2): 29-37. – 10. *Trziszka T.* (red): Jajczarstwo. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Wrocław, 2000.

11. *Cegielska-Radziejewska R., Leśnierowski G., Kijowski J.*: Properties and application of egg white lysozyme and its modified preparations – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008; 58 (1): 5-10. – 12. *Danyluk B., Kijowski J.*: Wpływ monomeru lizozymu na rozwój bakterii *Clostridium tyrobutyricum*. *Przem. Spoż.*, 2001; 12: 16-19. – 13. *Rosiak E., Kolożyn-Krajewska D.*: Zastosowanie metod prognozowania mikrobiologicznego do modelowania wzrostu mikroflory saprofitycznej w produktach mięsnych utrwalanych lizozymem w formie dimeru. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003; 4(37): 5-20. – 14. *Trziszka T., Kopeć W.*: Lizozym i jego charakterystyka. *Przem. Spoż.*, 1997; 1: 41-42. – 15. *Kijowski J., Marciszewska C., Cegielska-Radziejewska R.*: Quality and microbiological stability of chilled chicken breast muscles treated with a lysozyme solution. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002; 11(2): 47-54. – 16. *Kijowski J., Marciszewska C., Cegielska-Radziejewska, Popiół A.*: Effect of lysozyme treatment on quality and bacterial contamination of chilled chicken legs. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2013; 57: 79-84. – 17. *Gill A.O., Holley R.A.*: Surface application of lysozyme, nisin, and EDTA to inhibit spoilage and pathogenic bacteria on ham and bologna. *J. Food Protect.*, 2000; 63(10): 1338-1346. – 18. *Rao M.S., Chander R., Sharma A.*: Synergistic effect of chitooligosaccharides and lysozyme for meat preservation. *LWT - Food Science and Technology*, 2008; 41(10): 1995-2001. – 19. *Mecitoğlu C., Yemencioğlu A., Arslanoğlu A., Elmaci Z.S., Korel F., Çetin A.E.*: Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging. *Food Res. Int.*, 2006; 39: 12-21. – 20. *Jarmoluk A., Zimoch A.*: Biopolimerowy biokompozyt o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, Patent PL 212125, 31.08.2012, dostępny: <http://tech.money.pl/przemysl/patenty/pl-212125-641125.html>.

21. *Świerczewska E., Siennicka A.*: Znaczenie substancji biologicznie czynnych w jaju kurzym. *Polskie Drobiarstwo*, 2004; wrzesień, 20-22. – 22. *Kopeć W., Skiba T., Trziszka T.*: Storage ability of chicken breast muscles affected by addition of egg white lysozyme and cystatin preparations. *Materiały Kongresowe. WPSA, Brisbane Australia*, 2008. – 23. *Węsierska E., Saleh Y., Trziszka T., Kopeć W., Siewiński M., Korzekwa K.*: Antimicrobial activity of chicken egg white cystatin. *Word J. Microb. Biot.*, 2005; 21: 59-64. – 24. *Trziszka T., Malicki A., Polanowski A., Jarmoluk A., Leonkiewicz J.*: Naturalny preparat bakterio- i grzybobójczy do kontaktu z żywnością. Zgłoszenie patentowe z dn. 18.12.2007, nr P 384088. Biuletyn Urzędu Patentowego Nr 13 (926) Rok XXXVII. – 25. *Superti F, Ammendolia M.G., Berlutti F., Valenti P.*: Egg white compounds. Ovotransferrin. W: *Bioactive Egg Compounds*. Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R. (Eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007; 43-48. – 26. *Ko K.Y., Mendonca A.F., Ahn D.U.*: Effect of EDTA and lysozyme on the antimicrobial activity of antimicrobial activity of ovotransferrin against *Listeria monocytogenes*. *Animal Industry Report*: 2010; AS 656, ASL R2495. Dostępny: [http://lib.dr.iastate.edu/ans\\_air/vol656/iss1/16](http://lib.dr.iastate.edu/ans_air/vol656/iss1/16). – 27. *Hiidenhovi J.*: Egg white compounds. Ovomucin. W: *Bioactive Egg Compounds*. *Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R.* (Eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007; 61-66. – 28. *Nau F., Guérin-Dubiard C., Croguennec T.*: Egg white compounds. Avidin. W: *Bioactive Egg Compounds*. *Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R.* (Eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007; 75-78. – 29. *Réhault S.*: Egg white compounds. Antiproteases. W: *Bioactive Egg Compounds*. *Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R.* (Eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007; 85-89. – 30. *Trziszka T.*: Jaja – doskonały surowiec do przetworstwa w aspekcie możliwości produkcji żywności funkcjonalnej cz. II. *Polskie Drobiarstwo*, 2002; 5: 16-19.

31. *Anton M., Castellani O., Guérin-Dubiard C.*: Egg yolk compounds. Phosvitin. W: *Bioactive Egg Compounds*. *Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M., Schade R.* (Eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007; 17-23. – 32. *Eckert E., Zambrowicz A., Pokora M., Dąbrowska A., Szoltysik M., Chrzanoska J., Trziszka T.*: Application of microbial proteases to obtain egg yolk protein hydrolysates with antioxidant and antimicrobial activity. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013; 1(86): 105-118.