

Porównanie jakości białka jaj kaczek K-2, P-9 i LsA pod względem zawartości i aktywności lizozymu

Lidia Lewko, Ewa Gornowicz

*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy,
Zakład Doświadczalny Kołuda Wielka, Stacja Zasobów Genetycznych
Drobieu Wodnego, Dworzyska, 62-035 Kórnik*

Wstęp

Lizozym (E.C.3.2.1.17) to najlepiej rozpoznany enzym w klasie N-acetyl-muramylglikanohydrolaz, który występuje jako pojedynczy łańcuch polipeptydowy, składający się ze 129 aminokwasów (Panfil-Kuncewicz, 1988). Proteina ta stanowi naturalną barierę ochronną treści jaja przed drobnoustrojami. Jej antybakteryjne działanie polega na hydrolizie wiązań $\beta(1-4)$ glikozydowych pomiędzy kwasem N-acetylmuraminowym a N-acetyloglukozaminą polisacharydu, budującego ścianę komórkową bakterii (Cunningham i in., 1991).

Poziom lizozymu uzależniony jest od gatunku i rasy zwierząt. Enzym ten występuje w dwóch formach, różniących się znacznie pod względem molekularnym, strukturalnym, katalitycznym, a także pochodzeniem gatunkowym (Trziszka, 2000). Wyodrębniono lizozym typu c (od angielskiego słowa „chicken”), tzw. „lizozym kurzy”, charakterystyczny dla jaj kurzych, indyczych, perliczych, bażancich i kaczek oraz lizozym typu g (od angielskiego słowa „goose”), tzw. „lizozym gęsi”, występujący w jajach gęsi, innych ptaków wodnych oraz dzikiego ptactwa. Obecność lizozymu wykazano również u niektórych gatunków ssaków (Ito i in., 1993), gadów (Araki i in., 1998), ryb (Dautigny i in., 1991) i owadów (Lee i Brey, 1995). W jajach czarnych łabędzi (*Cygnus cygnus*) występują obie formy lizozymu: c i g (Burley i Vadehra, 1989).

Instytut Zootechniki PIB zgromadził

w Stacji Zasobów Genetycznych Drobieu Wodnego w Dworzyskach k. Kórnik (woj. wielkopolskie) sześć stad zachowawczych kaczek pochodzenia krajowego i zagranicznego, a także wytworzone z ich udziałem stada syntetyczne (Krupiński, 2007). Stada te mają istotne znaczenie dla nauki. Wyróżniają się wieloma cennymi właściwościami, w tym m.in. odpornością na choroby, dobrą jakością skorup jaj oraz wartościowym mięsem o drobnowłóknistej tkance.



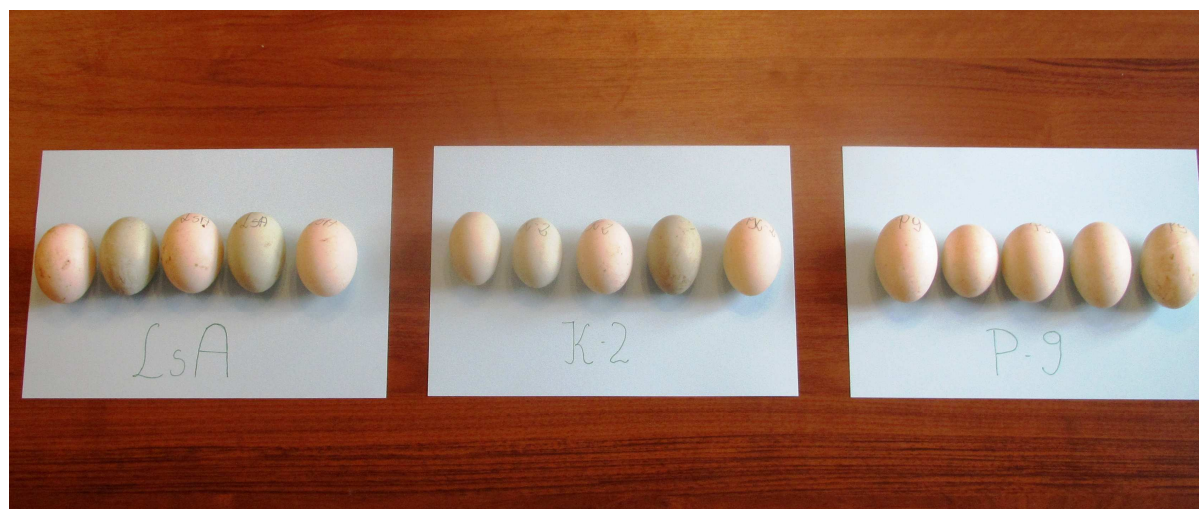
Fot. 1. Pisklęta LsA
Photo. 1. LsA ducklings



Fot. 2. Pisklę K-2
Photo 2. K-2 duckling



Fot. 3. Pisklęta P-9
Photo 3. P-9 ducklings



Fot. 4. Jaja kaczki pozyskane do badań (LsA, K-2 i P-9)
Photo 4. Duck eggs obtained for the tests (LsA, K-2 and P-9)

Z uwagi na stosunkowo małą liczebność tych stad, sprawą priorytetową jest nie tylko ich ochrona i rozwój, ale również utrzymanie istniejącej zmienności genetycznej (Książkiewicz, 2006). Prowadzono wiele badań, których celem było szersze poznanie, a także określenie walorów poszczególnych populacji kaczek – m.in. badania składu chemicznego, cech morfologicznych i jakościowych jaj (Książkiewicz i Kisiel, 2002 a,b; Kuźniacka i in., 2004; Mazanowski i in., 2005; Kokoszyński i in., 2007), zmienności międzyrasowej gatunku (Książkiewicz i Bednarczyk, 1996), a także określenie ich przydatności w przemyśle spożywczym (Pikul, 1998). Niemniej jednak, w literaturze naukowej niewiele jest wyników badań dotyczących tak szczegółowej oceny jakości białka jaj kaczek pod kątem zawartości czynnych substancji, np. lizozymu, szczególnie pochodzących od ptaków ze stad objętych ochroną gatunkową przed wyginieciem. Lizozym jest jedną z najcenniejszych naturalnych substancji, której możliwości są przypuszczalnie większe od poznanych, dlatego wydaje się niezbędne określenie jego poziomu i aktywności w jajach kaczek stad zachowawczych. Celem pracy było oszacowanie kształtowania się masy jaja oraz poziomu i aktywności hydrolytycznej lizozymu białka jaj kaczek, pochodzących od trzech wybranych stad zachowawczych: P-9, mini kaczka K-2 oraz LsA, będących w końcowym okresie nieśności (21–22 tydzień).

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły jaja kaczki pochodzące od trzech wybranych stad zachowawczych: P-9, mini kaczka K-2 oraz LsA, będących w końcowym okresie nieśności (21–22 tydzień). Ptaki przeznaczone do doświadczenia w okresie wychowu do 3. tygodnia życia były utrzymywane w pomieszczeniu zamkniętym, bez okien, na słomie.

W okresie od 3. do 4. tygodnia ptaki przebywały na hali z dostępem do wybiegu, a od 4. tygodnia wyłącznie na wybiegu. Kaczki żywione były do woli jednakowymi mieszankami paszowymi o znanej wartości pokarmowej, odpowiedniej dla danego okresu wzrostu. W celu szczegółowej analizy substancji czynnej we frakcjach białka jaja, tj. lizozymu (aktywność hydrolytyczna, procentowa zawartość) pobrano losowo po 30 sztuk jaj z każdego badanego stada.

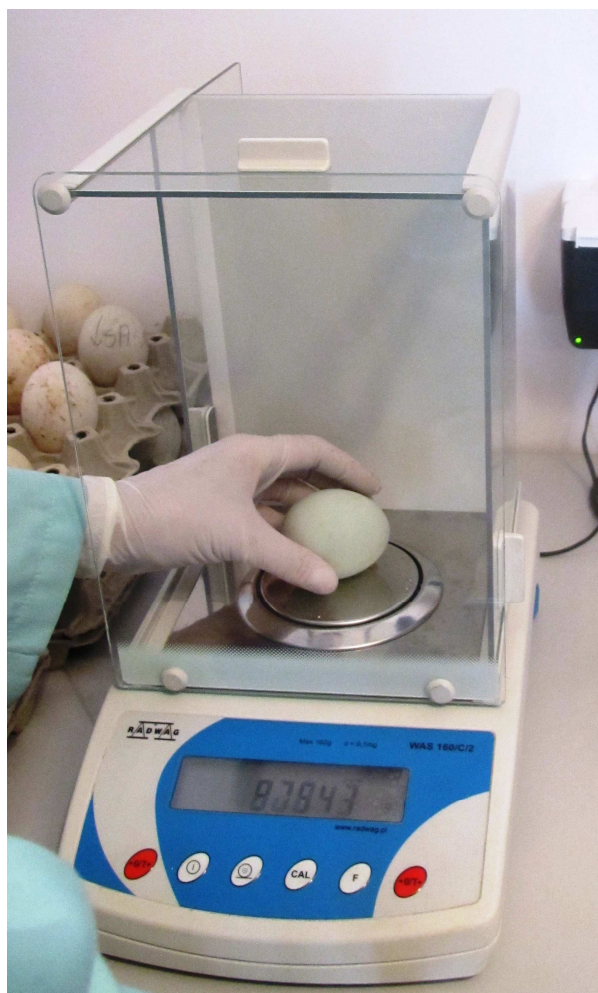
Pozyskane jaja zważono i rozbito, a ich treść rozdzielono na białko i żółtko. Białko jaja rozfrakcjonowano na białko gęste i rzadkie do jednorazowych, sterylnych pojemników. Z tak przygotowanych prób białka jaj zostały sporządzone odpowiednie preparaty w celu określenia zawartości oraz aktywności hydrolytycznej lizozymu we frakcjach białka (Leśnierowski i Kijowski, 1995).

Uzyskane wyniki poddano szczegółowym analizom statystycznym (pakiet *Statistica*).

Badania poziomu oraz aktywności hydrolitycznej lizozymu przeprowadzono w pracowni Stacji Zasobów Genetycznych Drobiu Wodnego w Dworzyskach.

Wyniki i ich omówienie

Kaczki pochodzące z rodu syntetycznego LsA wyróżniały się najcięższymi jajami (88,51 g), których masa w stosunku do jaj kaczek typu ogólnoużytkowego była większa średnio o 2,6 g (P-9) oraz 18,61 g (K-2). Minikaczki znosiły jaja istotnie najlżejsze (wykres 1). Uzyskane dane potwierdzają wyniki wcześniejszych badań Książkiewicza (2002) oraz Książkiewicza i Krawczyk (2007).



Fot. 5. Pomiary masy jaj kaczek (LsA)
Photo 5. Measurements of duck eggs (LsA)

Białka jaj ptaków pochodzących ze stada zachowawczego K-2 charakteryzowały się największą procentową zawartością lizozymu w białku rzadkim, ukształtowaną na poziomie 0,20% oraz jego najwyższą aktywnością hydrolityczną (41 782 U/ml).

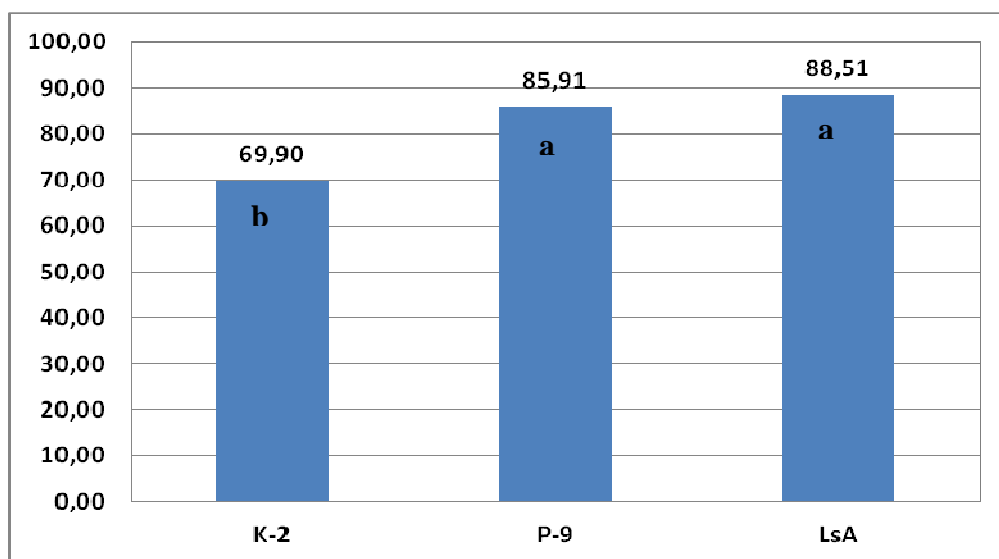
Podobną tendencję wykazano w przypadku analizy białka strukturalnego tego stada, w którym odnotowano największy procentowy udział (0,14%) i aktywność hydrolityczną (68 368 U/ml) badanego enzymu. Z kolei, najniższe wartości szacowanych parametrów lizozymu zaobserwowano w przypadku białek jaj kaczek pochodzących ze stada LsA. W przypadku białka rzadkiego wartości te były średnio o 0,05% i o 9201 U/ml niższe, natomiast w białku strukturalnym – odpowiednio o 0,05% i o 12 780 U/ml.

Na podstawie przeprowadzonych szczegółowych analiz lizozymu frakcji białek jaj kaczek z badanych stad zachowawczych wykazano, że poziom oraz aktywność hydrolityczna lizozymu były zróżnicowane i zależne od pochodzenia ptaków. Stwierdzono różnice statystycznie istotne ($P \leq 0,05$) (wykr. 2 i 3).

Z przeglądu literatury międzynarodowej wynika, że stosunkowo mało prac poświęcono określeniu poziomu oraz aktywności hydrolitycznej tego enzymu w jajach kaczek. Według Wellmana-Labadie i in. (2008), Araki i Torikata (1999) oraz Kawamura i in. (2002), poziom badanych parametrów lizozymu uwarunkowany jest m.in. pochodzeniem ptaka.

Przeprowadzone w Polsce badania autorstwa Okruszka i in. (2008), dotyczące wpływu pochodzenia kaczek z różnych stad zachowawczych na wybrane cechy jakościowe jaj, wykazały zróżnicowanie analizowanych parametrów przy jednoczesnym zachowaniu tych samych warunków odchowu, poziomu żywienia i wieku zwierząt.

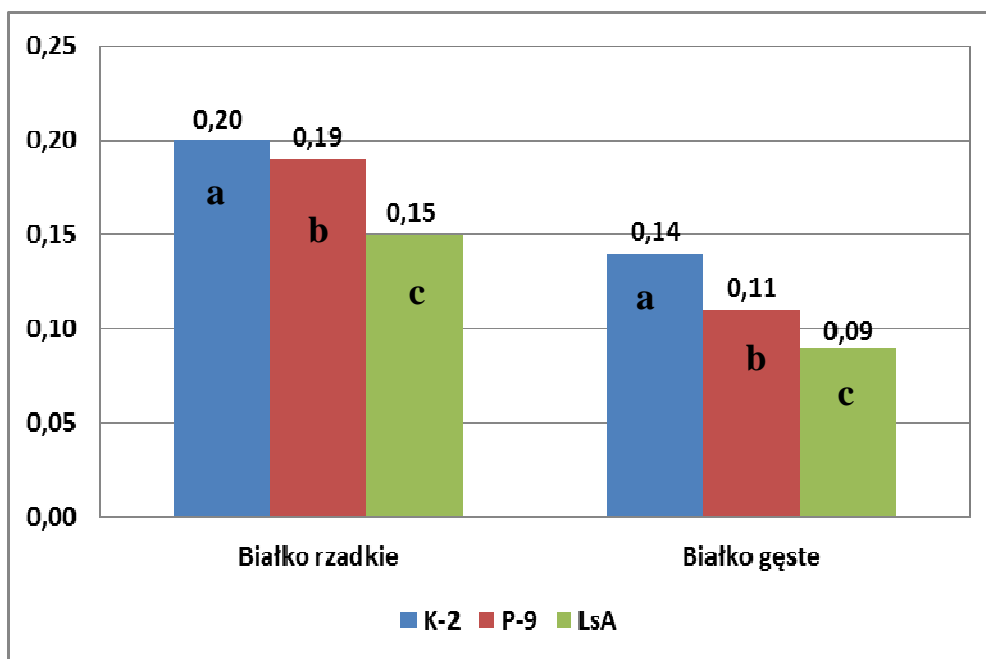
Podobnie, prace m.in. zespołu Książkiewicza (1999), Mazanowskiego (2005), Książkiewicza i Krawczyk (2007) potwierdziły, że genotyp ptaka jest istotnym czynnikiem, wpływającym nie tylko na zróżnicowanie morfologicznych, ale również jakościowych cech jaj.



Objaśnienie: a,b – różne litery w wierszach oznaczają statystyczną istotność różnic ($P \leq 0,05$).

Note: a,b – different letters in rows designate significant differences ($P \leq 0,05$).

Wykres 1. Masa jaj kaczek wybranych stad zachowawczych w końcowym okresie nieśności
Fig. 1. Body weight of end-of-lay ducks from selected conservation flocks

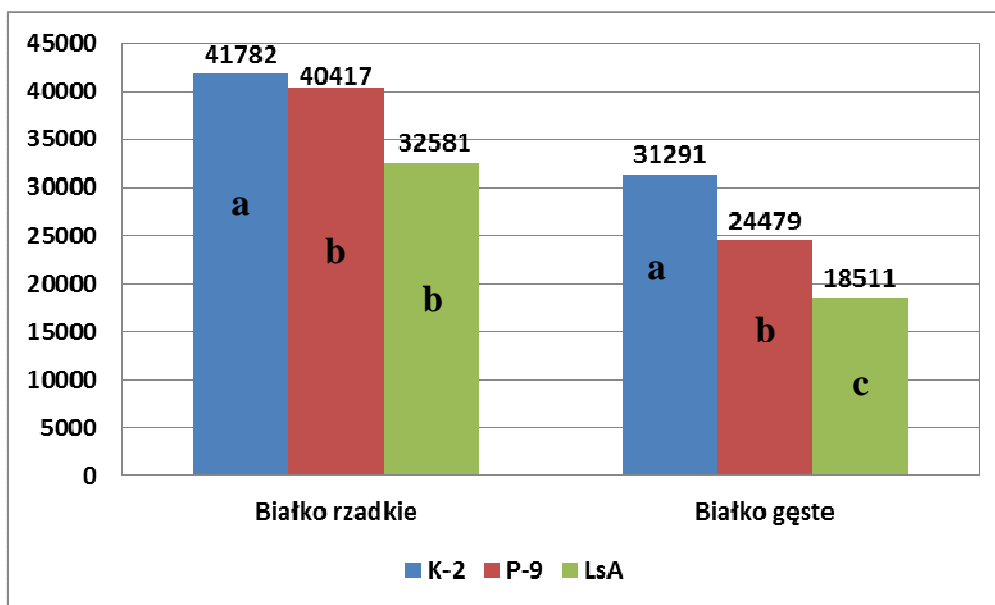


Objaśnienie: a,b – różne litery w wierszach oznaczają statystyczną istotność różnic ($P \leq 0,05$).

Note: a,b – different letters in rows designate significant differences ($P \leq 0,05$).

Białko rzadkie – thin albumen; białko gęste – thick albumen.

Wykres 2. Zawartość lizozymu we frakcjach białka jaj kaczek wybranych stad zachowawczych w końcowym okresie nieśności
Fig. 2. Lysozyme content of egg albumen fractions of end-of-lay ducks from selected conservation flocks



Objaśnienie: a,b – różne litery w wierszach oznaczają statystyczną istotność różnic ($P \leq 0,05$).

Note: a,b – different letters in rows designate significant differences ($P \leq 0.05$).

Białko rzadkie – thin albumen; białko gęste – thick albumen.

Wykres 3. Aktywność hydrolityczna lizozymu we frakcjach białka jaj kaczek wybranych stad zachowawczych w końcowym okresie nieśności

Fig. 3. Hydrolytic lysozyme activity in egg albumen fractions of end-of-lay ducks from selected conservation flocks



Fot. 6. Pomiar aktywności hydrolitycznej lizozymu
Photo 6. Measurements of lysozyme hydrolytic activity

Podsumowanie i wnioski

Reasumując stwierdzono, że jaja ptaków linii syntetycznej LsA w porównaniu do jaj minikaczek oraz pochodzących ze stada ogólnoużytkowego P-9 charakteryzowały się większą masą. Statystycznie istotną różnicę potwierdzono w stosunku do masy jaj kaczek K-2. Najkorzystniejszymi cechami jakościowymi białka jaja pod kątem zawartości bioaktywnych związków, tj. lizozymu (procentowa zawartość i aktywność hydrolytyczna), wyróżniały się białka jaj minikaczek.

Przeprowadzone badania wzbogacają cha-

rakterystykę analizowanych stad zachowawczych kaczek pod kątem zawartości i aktywności czynnych substancji, tj. lizozymu w poszczególnych frakcjach białka jaja.

Ponadto, analizy te pozwolą określić różnice, zwłaszcza w populacjach objętych krajowym programem ochrony przed wyginięciem, między poszczególnymi stadami zachowawczymi w celu wskazania ich bioróżnorodności. Umożliwi to podjęcie prac nad doskonaleniem wybranych cech jakości jaj, dając w efekcie m.in. produkt – jaja o wysokiej zawartości czynnych substancji w białku jaja, tj. lizozymu.

Literatura

- Araki T., Torikata T. (1999). The amino acid sequence of wood duck lysozyme. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63 (1): 220–222.
- Araki T., Yamamoto T., Torikata T. (1998). Reptile lysozyme: The complete amino acid sequence of softshelled turtle lysozyme and its activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62: 316–324.
- Burley R.W., Vadehra D.V. (1989). The avian egg: Chemistry and Biology. John Wiley and Sons, New York, pp. 68–71, 372.
- Cunningham F.E., Proctor V.A., Goetsch S.J. (1991). Egg-white lysozyme as a food preservative: A world overview. *World's Poultry Sci. J.*, 47: 141–163.
- Dautigny A., Prager E.M., Pham-Dinh D., Jolles J., Pakdel F., Grinde B., Jolles P. (1991). cDNA and amino acid sequences of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) lysozymes and their implications for the evaluation of lysozyme and lactalbumin. *J. Mol. Evol.*, 32: 187–198.
- Ito Y., Yamada H., Nakamura M., Yoshikawa A., Ueda T., Imoto T. (1993). The primary structures and properties of non-stomach lysozymes of sheep and cow, and implication for functional divergence of lysozyme. *Eur. J. Biochem.*, 213: 649–658.
- Kawamura S., Toshima G., Imoto T., Araki T., Torikata T. (2002). Amino acid residues in subsites e and f responsible for the characteristic enzymatic activity of duck egg-white lysozyme. *J. Biochem.*, 131 (5): 663–670.
- Kokoszyński D., Korytkowska H., Korytkowski B. (2007). Ocena cech fizycznych i składu morfologicznego jaj kaczek Pekin ze stada rezerwowego P44. *Acta Sci. Pol., Zoot.*, 6 (2): 21–28.
- Krupiński J. (red.) (2007). Polskie rasy zachowawcze. Atlas zwierząt gospodarskich objętych programem ochrony w Polsce. IZ PIB Kraków, ss. 88–94.
- Książkiewicz J. (2002). Reproductive and meat characteristics of Polish ducks threatened with extinction. *Czech J. Anim. Sci.*, 47, 10: 401–410.
- Książkiewicz J. (2006). Rola i znaczenie rodzimych odmian kaczek objętych programem ochrony zasobów genetycznych. *Wiad. Zoot.*, 4: 39–43.
- Książkiewicz J., Bednarczyk M. (1996). Wpływ pochodzenia kaczek z dwunastu grup zachowawczych na wartość niektórych cech fizycznych jaj. *Pr. Mat. Zoot.*, 49: 101–108.
- Książkiewicz J., Kisiel T. (2002 a). Charakterystyka wybranych cech morfologicznych i biochemicznych jaj oraz współzależności pomiędzy tymi cechami u różnych kaczek typu Pekin. *Folia Univ. Agr. Stetin., Zoot.*, 227, 44: 69–76.
- Książkiewicz J., Kisiel T. (2002 b). Niektóre cechy fizyczne i biochemiczne jaj oraz współzależności między tymi cechami u kaczek typu lekkiego. *Folia Univ. Agr. Stetin., Zoot.*, 227, 44: 77–82.
- Książkiewicz J., Krawczyk J. (2007). Porównanie

- cech morfologicznych i biochemicznych jaj kaczek z krajowych stad zachowawczych. Roczn. Nauk. Zoot., 34: 111–120.
- Książkiewicz J., Stępińska M., Kisiel T., Riedel J. (1999). Cechy fizyczne jaj i lipidy żółtek w stadach zachowawczych kaczek typu pekin i Cayuga. Roczn. Nauk. Zoot., 26, 3: 99–110.
- Kuźniacka J., Adamski M., Bernacki Z. (2004). Porównanie składu morfologicznego i cech fizycznych jaj różnych gatunków ptaków gospodarskich. Pr. Kom. Nauk Rol. Biol. BTN, 53: 139–144.
- Lee W.J., Brey P.T. (1995). Isolation and characterization of the lysozyme – encoding gene from the silkworm *Bombyx mori*. Gene, 161: 199–203.
- Leśniewski G., Kijowski J. (1995). Metody badania aktywności enzymatycznej oraz oznaczenie ilościowe lizozymu z białka jaja kurzego. Przem. Spoż., 49 (12): 476–479.
- Mazanowski A., Bernacki Z., Kisiel Z. (2005). Comparing the structure and chemical composition of duck eggs. Ann. Anim. Sci., 5 (1): 53–66.
- Okruszek A., Książkiewicz J., Haraf G., Biernat J. (2008). Wpływ pochodzenia kaczek z różnych stad zachowawczych na wybrane cechy jakościowe jaj. Pr. Nauk. UE Wrocław, seria Technologia, 13, 30: 43–50.
- Panfil-Kuncewicz H. (1988). Charakterystyka lizozymu i możliwości jego zastosowania w przemyśle spożywczym. Żyw. Człow. Metab., 15, 3: 218–225.
- Pikul J. (1998). Characteristics of duck eggs and the quality of duck eggs products, Arch. Gelflügel., 62: 72–82.
- Trziszka T. (2000). Jajczarstwo. Wyd. AR Wrocław, ss. 7–19.
- Wellman-Labadie O., Picman J., Hincke M.T. (2008). Enhanced C-type lysozyme content of wood duck (*Aix sponsa*) egg white: an adaptation to cavity nesting? Physiol. Biochem. Zool., 81 (2): 235–245.

COMPARISON OF ALBUMEN QUALITY IN EGGS FROM K-2, P-9 AND LsA DUCKS FOR LYSOZYME CONTENT AND ACTIVITY

Summary

Lysozyme is a hydrolytic enzyme characterized by high enzymatic activity and strong antibacterial and antiviral properties. This protein is not homogenous as it is found in two forms that differ considerably in molecular, structural and catalytic terms, and also in origin.

The aim of the study was to estimate egg weights and the level and hydrolytic activity of lysozyme in end-of-lay ducks (21–22 weeks) from three selected conservation flocks (P-9, Mini Duck K-2, LsA).

It was found that the eggs from the synthetic line LsA had higher weights compared to the eggs from Mini Ducks and the P-9 multipurpose ducks. A statistically significant difference was confirmed for the weight of eggs from K-2 ducks.

The albumen of eggs from K-2 birds was characterized by the most favourable quality traits in terms of the content of bioactive compounds, i.e. lysozyme (thin albumen 0.20%, thick albumen 0.14%) and hydrolytic activity (thin albumen 41782 U/ml, thick albumen 31291).

Fot. w pracy: L. Lewko