

**RADOSŁAW JÓZEFczyk\*, JANUSZ LENIART, KONRAD STRÓŻ,  
MARIA DROBA\***

\*Katedra Chemii i Toksykologii Żywności, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski  
e-mail: radekjfk@univ.rzeszow.pl

**BIOCHEMICZNA OCENA STOPNIA ŚWIEŻOŚCI JAJ  
POCHODZĄCYCH OD KUR POLSKICH  
ZACHOWAWCZYCH RODÓW NIEŚNYCH**

*Badano aktywność enzymu hydrolitycznego  $\beta$ -N-Acetyloglukozaminidazy ( $\beta$ -HEX) w białku jaj dwu zachowawczych rodów kur nieśnych: Leghorn H-22 i Żółtonóżka Ż-33 podczas krótkotrwałego przechowywania jaj w temperaturze pokojowej. Stwierdzono, że aktywność właściwa  $\beta$ -HEX u obydwu badanych rodów kształtuje się podobnie i nie różni istotnie pomiędzy rodami. Aktywność właściwa  $\beta$ -HEX w białku jaj kur rodu Leghorn H-22 wynosiła  $4,04 \pm 0,35$  mU/mg białka i zmniejszyła się do 5 % początkowej wartości po siedmiu dniach. Podobnie, w białku jaj kur rodu Żółtonóżka Ż-33 aktywność właściwa  $\beta$ -HEX wynosiła  $3,30 \pm 0,44$  mU/mg białka w pierwszym dniu po zniesieniu i zmniejszyła się do 1,8 % początkowej wartości po siedmiu dniach. Pomiar aktywności  $\beta$ -HEX w białku jaj krótkotrwałe przechowywanych może być wykorzystany jako test określający świeżość jaj u obu badanych rodów kur.*

**Słowa kluczowe:**  $\beta$ -N-Acetyloglukozaminidaza, białko jaja, kura, stopień świeżości

## I. WSTĘP

Podjęto próbę wykorzystania markera biochemicznego do pomiaru świeżości jaj kur. Do badań wybrano dwa rasy kur nieśnych utrzymywane w stadach zachowawczych jako reprezentujące cenną, choć marginalizowaną w warunkach intensyfikacji produkcji drobiarskiej część puli hodowlanej. Podyktowane to było chęcią wzbogacenia użytkowości marginalizowanych rodów kur, co wpisuje się w zachowanie różnorodności wśród użytkowanych w Polsce rodów kur, rozumiane jako podstawowe działanie pozwalające poprzez zrównoważony rozwój zachować istniejący zasób genetyczny.

Jako marker świeżości jaj zaproponowano jeden z enzymów hydrolitycznych obecnych w białku jaja -  $\beta$ -N-Acetyloglukozaminidazę ( $\beta$ -HEX) katalizującą rozszczepienie terminalnych reszt cukrowych z oligosacharydowych jednostek glikoprotein i glikolipidów [5]. Optymalne działanie tego enzymu przypada na obszar kwaśny (pH 3,5-5,5), co umożliwia mu działanie wewnątrz lizosomów.

$\beta$ -HEX występująca w białku jaja kurzego [8], została opisana i scharakteryzowana [6, 10]. Aktywność tego enzymu w białku jaj szybko zanika podczas ich przechowywania

---

\* *Pracę recenzował:* prof. dr hab. Janusz Rząsa, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

w temperaturze pokojowej, w związku z czym sugeruje się, że próba na aktywność  $\beta$ -HEX może być wykorzystywana jako test określenia świeżości jaj [1,11].

Celem pracy było zbadanie aktywności  $\beta$ -HEX w białku jaj pochodzących od dwóch polskich zachowawczych ras nieśnych kur (Leghorn H-22 i Żółtonóżka Ż-33) oraz prześledzenie zmian aktywności tego enzymu podczas przechowywania jaj przez 7 dni w temperaturze pokojowej.

## II. MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 70 jaj świeżo zniesionych, pochodzących od kur rasy Leghorn H-22 oraz Żółtonóżka Ż-33 utrzymywanych w Zootechnicznym Zakładzie Doświadczalnym w Chorzelowie. Jaja od obu ras były przechowywane w pomieszczeniu o temperaturze pokojowej (25 °C) przez okres 1 tygodnia. Próbkę białka do badań pobierano w pierwszym, drugim, trzecim, czwartym oraz siódmym dniu licząc od dnia zniesienia, codziennie z siedmiu jaj, po czym niezwłocznie oznaczano aktywność  $\beta$ -HEX w każdym jaju osobno. Białko przed oznaczeniem aktywności enzymatycznej homogenizowano (homogenizator Vir-Tis; 2000 obr/min) przez 1 min. Aktywność  $\beta$ -HEX oznaczano metodą spektrofotometryczną [2] z niewielkimi modyfikacjami: mieszanina inkubacyjna oprócz odpowiednio rozcieńczonej próbki białka za pomocą 0,9 % NaCl zawierała p-NP-glukoz-aminid (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) oraz 0,1 M bufor cytrynianowy o pH 4,0. Po inkubacji w 37 °C trwającej 10–30 min białko było wytrącane przez dodanie kwasu trichlorooctowego i odwirowywane, a w klarownym supernatancie mierzono absorbancję przy długości fali 400 nm. Zawartość białka w próbkach oznaczano wg metody Bradforda [3].

Za jednostkę aktywności enzymatycznej (U) przyjęto ilość enzymu, która katalizuje rozkład 1  $\mu$ mola substratu w ciągu 1 min w opisanych warunkach.

Istotność różnic między badanymi grupami ( $p < 0.05$ ) sprawdzano za pomocą jedno-czynnikowej analizy wariancji dostępnej w programie Statistica, Stat Soft Inc., Tulsa, OK., USA.

## III. WYNIKI

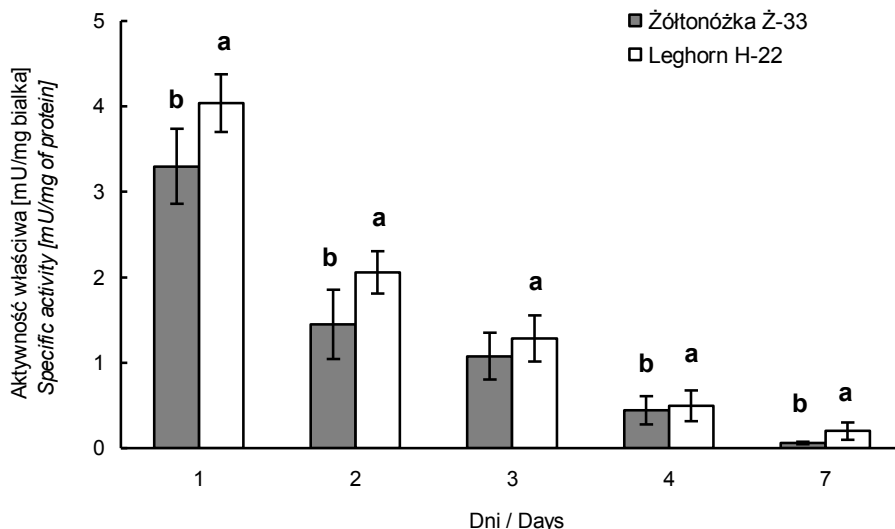
Na Rys. 1 podano aktywność właściwą  $\beta$ -HEX w białku jaj obu ras kur, podczas przechowywania jaj w temperaturze pokojowej przez okres jednego tygodnia.

Poniżej podano średnie aktywności właściwe  $\beta$ -HEX dla siedmiu prób i ich błędy standardowe ( $\pm$ SE) uzyskane podczas pomiarów w białku jaj.

U kur rasy Żółtonóżka Ż-33 w pierwszym dniu od zniesienia jaja aktywność właściwa  $\beta$ -HEX wynosiła  $3,3 \pm 0,44$  mU/mg białka. W drugim dniu aktywność wynosiła  $1,45 \pm 0,40$ ; w trzecim dniu  $1,08 \pm 0,27$ ; w czwartym  $0,44 \pm 0,16$ ; zaś w siódmym dniu od zniesienia jaja  $0,06 \pm 0,02$  mU/mg białka co stanowi odpowiednio: 43 %, 32 %, 13 % i 1,8 % aktywności wyjściowej.

Aktywność właściwa  $\beta$ -HEX w białku jaj kur rasy Leghorn H-22 w pierwszym dniu od zniesienia jaja wynosiła  $4,04 \pm 0,35$  mU/mg białka. W drugim dniu przechowywania aktywność enzymu wynosiła 50 % aktywności wyjściowej, w trzecim – 31 %, w czwartym 12 %, a w siódmym  $0,20 \pm 0,1$  mU/mg białka co stanowi 5 % aktywności wyjściowej.

Nie stwierdzono istotnych różnic w aktywności  $\beta$ -HEX pomiędzy badanymi rasami kur.



**Rys. 1.** Aktywność właściwa  $\beta$ -HEX w białku jaj pochodzących od dwóch rodów kur przechowywanych w temperaturze pokojowej. Podano wartości średnie  $\pm$ SE, ( $n = 7$ ). Wartości oznaczone tymi samymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

**Fig 1.** Specific activity of  $\beta$ -HEX in egg albumen from two hen breeds during storage of eggs in room temperature. Values are given as mean  $\pm$ SE ( $n = 7$ ). Appointed this same letters values are differ statistically ( $p < 0,05$ ).

#### IV. DYSKUSJA

Aktywność właściwa  $\beta$ -HEX w białku jaj pomiędzy dwoma badanymi w tej pracy rodami kur nie wykazywała istotnych statystycznie różnic. Przechowywanie jaj w temperaturze pokojowej powodowało obniżenie aktywności enzymu u obu rodów w podobnym stopniu, jedynie w siódmym dniu przechowywania zaznaczyła się różnica w reszkowej aktywności  $\beta$ -HEX w jajach badanych rodów. W jajach pochodzących od rodu Żółtonóżka Ż-33 pozostało 1,8 % aktywności wyjściowej enzymu, a w jajach rodu Leghorn H-22 – 5 %.

Aktywność  $\beta$ -HEX była mierzona w czterech warstwach białka jaj kurzych oraz błonie żółtkowej i błonach skorupowych podczas przechowywania jaj w temperaturze 25 °C przez 9 dni [12]. Spadkowi aktywności enzymu podczas przechowywania jaj towarzyszyła zmiana pH białka. Aktywność  $\beta$ -HEX pomiędzy 3 a 6 dniem przechowywania spadała niemal do zera, podczas gdy wartość pH białka wzrastała od początkowej około 8 (świeżo zniesione jaja) do 9,4.

Obserwowany szybki spadek aktywności  $\beta$ -HEX w białku jaj podczas przechowywania w temperaturze pokojowej jest proponowany jako test określania świeżości jaj [7,11].

Poziom aktywności  $\beta$ -HEX w białku krótkotrwale przechowywanych jaj może być zatem biochemicznym markerem ich świeżości. Ponadto, poziom aktywności  $\beta$ -HEX może sugerować różną podatność jaj na zakażenia bakteryjne podczas dalszego przechowywania, ponieważ enzym ten jak się przyjmuje [4,9] pełni rolę bariery opóźniającej penetrację drobnoustrojów do jaja.

## V. WNIOSKI

1. Aktywność właściwa  $\beta$ -HEX w białku jaj pochodzących od dwóch rodów nieśnych: Żółtonóżka Ż-33 i Leghorn H-22 nie różni się statystycznie istotnie pomiędzy rodami.
2. Aktywność  $\beta$ -HEX w białku obu badanych rodów kur spada w miarę przechowywania w temperaturze pokojowej.
3. Pomiar aktywności  $\beta$ -HEX w białku jaj krótkotrwale przechowywanych może być wykorzystany jako test określający świeżość jaj u obu badanych rodów kur.

## VI. LITERATURA

1. Ahn D.V., Sell J.L., Chmruspolert M., Jeffrey M.: Effect of dietary conjugated linoleic acid on the quality characteristics of chicken eggs during refrigerated storage. Poultry Sci. 78. s. 922-928. 1999.
2. Barrett A.J., Heath M.F.: Lysosomal enzymes. In: Dingle J.T. (ed.) Lysosomes: A Laboratory Handbook. Elsevier North-Holland. s. 19-145. 1977.
3. Bradford M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72. s. 248-254. 1976.
4. Burley R.W., Vadehra D.V.: The avian eggs chemistry and biology. A Wiley-Interscience publication. New York. 1989.
5. Czartoryska B.: Glikozydazy lizosomalne w katabolizmie heteropolisacharydów. Post. Biochem. 23. s. 229-266. 1977.
6. Droba M., Droba B., Błędniak D.: Acid glycosidases from hen oviduct and egg albumen. Comp. Biochem. Physiol. Part B. 142. s. 391-397. 2008.
7. FAO/WHO. Protein Quality Evaluation. Report Series 51. FAO/WHO. Rome. 1991.
8. Lush I.E., Conchie J.: Glycosidases in egg albumen of the hen, the turkey and the Japanese quail. Biochi. Biophys. Acta 130. s. 81-86. 1966.
9. Martin H.H., Kemper S.: Endo-N-acetylglucosaminidase from Clostridium perfringens, lytic for cell wall murein of gram-negative bacteria. J. Bact. 102. s. 347-350.
10. Ogawa Y., Nakamura R., Sato Y.: Purification of  $\beta$ -N-acetylhexosaminidase from egg white and the microsomal and lysosomal fractions of hen oviduct. Agric. Biol. Chem. 47. s. 2085-2089. 1983.
11. Trziszka T.: Jajczarstwo. Wyd. AR Wrocław. 2000.
12. Winn S.E., Ball H.R.:  $\beta$ -N-Acetylglucosaminidase activity in the albumen layers and membranes of the chicken's egg. Poultry Sci. 54. s. 799-805. 1975.

### BIOCHEMICAL EVALUATION OF THE DEGREE OF FRESHNESS OF HENS' EGGS OF POLISH CONSERVATIVE BREED

#### Summary

*$\beta$ -N-acetylglucosaminidase is found in hen's egg albumen. The activity of this enzyme quickly disappears during storage of eggs at room temperature. It was shown that specific activity of  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase in the albumen of eggs from two breeds of laying hens is similar and decreases in a similar manner during storage. During a week, the activity of this enzyme decreases to 5% of the initial activity in the eggs of Leghorn (H-22) hens and to 1.8% in the eggs of Yellowleg Partridge (Z-33) hens. The level of  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase activity in the albumen of eggs from the breeds studied is an indicator of egg freshness and can be used when evaluating the susceptibility of eggs to rotting during storage.*

**Keywords:** hen egg,  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase, egg albumen, hen