

Badania nad zastosowaniem lizozymu i octanu sodu w celu przedłużenia trwałości mięsa drobiowego

ADAM MALICKI, TADEUSZ TRZISZKA*, MACIEJ SZPAK, JOLANTA ŻRÓDŁOWSKA-DANEK

Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP,
ul. Norwida 31, 50-345 Wrocław

*Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością Wydziału Nauk o Żywności UP,
ul. Norwida 25/27, 50-345 Wrocław

Malicki A., Trziszka T., Szpak M., Źródłowska-Danek J.

Research using lysozyme and sodium acetate in order to extend the durability of poultry meat

Summary

The aim of the study was to examine the influence of lysozyme and sodium acetate on the durability of fresh vacuum-packed poultry meat stored under refrigeration. The entire study was conducted on 90 samples of breast muscles of broiler chickens. Samples of poultry meat were treated with a solution of lysozyme or sodium acetate. The first option included the usage of a 5% solution of lysozyme for samples of poultry meat. In the second variant, the research material was treated with a 2.5% solution of lysozyme and 2.5% sodium acetate solution. Solutions of lysozyme and sodium acetate were deposited on poultry meat in the form of spray. Samples of poultry meat were vacuum packed and stored at $3(\pm 1)^{\circ}\text{C}$. Control samples were pectoral muscles without the addition of lysozyme and sodium acetate. The authors' results confirm the effectiveness of solutions of lysozyme and sodium acetate in protecting the microbiological stability of raw poultry meat after its production and during storage. Samples of meat with the substances used in the experiment were less microbiologically polluted compared to control samples. Solutions of lysozyme and sodium acetate used in the pectoral muscles of broiler chickens caused a significant reduction of microbial growth in the first 2 weeks of storage.

Keywords: lysozyme, sodium acetate, poultry meat, storage

Bezpieczeństwo konsumenta wymaga badań nad czynnikami biologicznie konserwantami, np. naturalnymi składnikami zwierzęcych tkanek, które skutecznie chroniłyby żywność przed zepsuciem i wzrostem drobnoustrojów patogennych (10). Lizozym, jako peptyd stanowiący jeden z mechanizmów nieswoistej odpowiedzi immunologicznej, wydaje się posiadać właściwości biokonserwujące, co z powodzeniem może być wykorzystywane w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym (1). Lizozym jest czynnikiem szeroko rozpowszechnionym w ludzkich i zwierzęcych tkankach i płynach ustrojowych. Występuje w ślinie, łzach, mleku oraz jajach kurzych (1). Produkowany jest również przez bakterie i rośliny. Jego działanie polega na hydrolizie wiązań beta-glikozydowych pomiędzy kwasem N-acetylmuraminowym a N-acetyloglukozaminą w ścianach komórek bakterii Gram-dodatnich, czego rezultatem jest rozpad komórki bakteryjnej (6, 9, 11, 22, 26). Bakterie Gram-ujemne ze względu na budowę struktur ściennych są bardziej odporne na działanie lizozymu. Dodatek czynników chelatujących, dezintegrujących lipopolisacharydową strukturę błony komórkowej, pozwala na skuteczne działanie lizozymu

także wobec komórek bakterii Gram-ujemnych (15). Udowodniono również przeciwgrzybiczą aktywność lizozymu wobec *Candida albicans*, co może stanowić alternatywę dla innych środków przeciwgrzybiczych (24, 27). Wydaje się, że lizozym, w połączeniu z innymi czynnikami przeciwbakteryjnymi, może być wykorzystywany jako naturalny środek konserwujący żywność (12). Dostępne piśmiennictwo przedstawia liczne wyniki badań nad wpływem lizozymu na trwałość żywności (4, 13, 14). Na skalę masową lizozym jest uzyskiwany z białka jaja kurzego, w którym stanowi około 0,5% frakcji albumin (11, 22, 26). Lizozym jest szeroko stosowany w Japonii, gdzie wykorzystuje się go do konserwacji mięsa i produktów mięsnych, ryb i ich przetworów, mleka i produktów mleczarskich, świeżych owoców i warzyw, owoców morza, wina i sake (2, 3, 5, 11, 22, 25). Prowadzone są również badania nad zwiększeniem skuteczności przeciwbakteryjnej lizozymu, poprzez jego zastosowanie w połączeniu z innymi metodami konserwacji żywności. Synergistyczne działanie lizozymu z wysokim ciśnieniem hydrostatycznym (HHP), pulsacyjnym polem elektrycznym (PEF), nizyną czy glukozaminą,

skutkowały przedłużeniem trwałości produktów spożywczych poddanych ich działaniu (23, 28, 29). Komercyjny preparat mieszaniny lizozymu i glicyny w stężeniu 1,5% znalazł zastosowanie w przedłużeniu trwałości sałatki ziemniaczanej do 45 godzin w temperaturze 35-37°C (25). Lizozym znalazł także zastosowanie w biokonserwacji salami, kiełbas parzonych, mięsa mielonego i serów. Podjęto również próby zastosowania lizozymu jako naturalnego środka konserwującego w aktywnych opakowaniach żywności (7). Roztwory lizozymu najczęściej stosuje się w formie natrysków tworzących film antibakteryjny na powierzchni produktu. Jakkolwiek lizozym stanowi aktualnie popularny środek konserwujący naturalnego pochodzenia, nie stosuje się go powszechnie w konserwacji świeżego mięsa drobiowego. Wzrastające zainteresowanie lizozymem jako naturalną metodą konserwacji żywności wydaje się ciekawą alternatywą dla konwencjonalnych metod utrwalania żywności.

Celem badań było określenie wpływu lizozymu oraz octanu sodu na trwałość świeżego mięsa drobiowego pakowanego próżniowo i przechowywanego w warunkach chłodniczych.

Materiał i metody

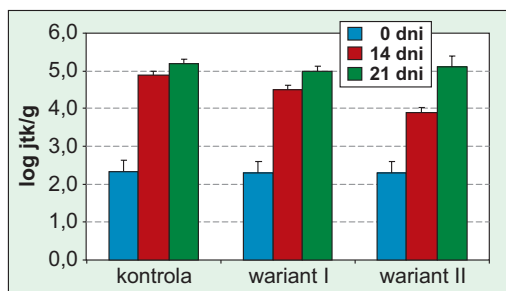
Wszystkie badania przeprowadzono na 90 próbkach mięśni piersiowych kurcząt brojlerów. Próbki mięsa drobiowego poddano działaniu roztworu lizozymu o stężeniu 5% i 2,5% oraz octanu sodu o stężeniu 2,5% w różnych wariantach. Wariant pierwszy obejmował zastosowanie 5% roztworu lizozymu wobec próbek mięsa drobiowego. W drugim wariantcie materiał badawczy poddano skojarzonemu działaniu 2,5% roztworu lizozymu oraz 2,5% roztworu octanu sodu. Próbki mięsa drobiowego potraktowano podanymi związkami w formie rozpyłowej, a następnie zapakowano próżniowo i przechowywano w temperaturze +3 (\pm 1)°C. Próbki kontrolne stanowiły mięśnie piersiowe bez dodatku lizozymu i octanu sodu.

W doświadczeniu dokonano oceny organoleptycznej i mikrobiologicznej mięsa drobiowego. Ocena mikrobiologiczną badanego materiału przeprowadzono: w dniu 0, za który przyjęto dzień otrzymania świeżego mięsa drobiowego, a także po 14 i 21 dniach przechowywania próbek mięsa w warunkach chłodniczych. Oznaczenia ogólnej liczby bakterii tlenowych mezofilnych, liczby bakterii z grupy *coli*, liczby bakterii *Clostridium perfringens*, obecności pałeczek *Salmonella*, liczby gronkowców koagulazo-do-

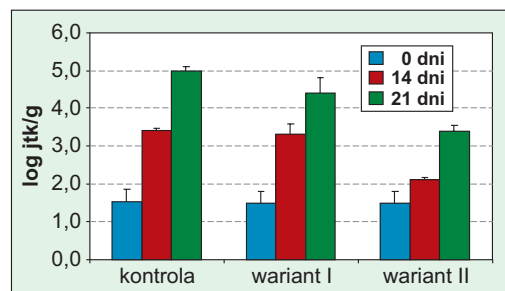
datnich oraz liczby pleśni i drożdży wykonano wg odpowiednich PN (16-21). Oznaczono również pH mięsa drobiowego pehametrem InoLab 720 z zespoloną elektrodą kombinowaną SenTix 81. Pomiaru wartości pH dokonywano na powierzchni mięśni piersiowych dla każdego wariantu badawczego i próbek kontrolnych w trzech miejscach w 0., 14. i 21. dniu przechowywania. Oceny sensorycznej dokonał 4-osobowy zespół oceniający. Określono: smak, zapach, soczystość oraz kruchość stosując skalę 5-punktową.

Wyniki i omówienie

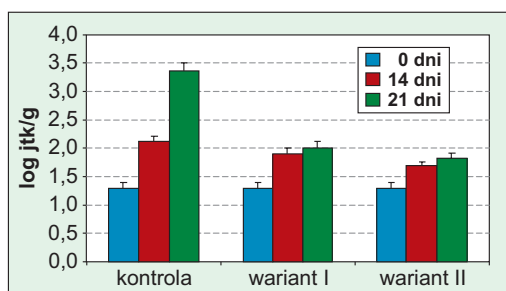
W świeżych filetach drobiowych bez dodatków wartość pH wynosiła 5,80. Po dwóch tygodniach przechowywania w warunkach chłodniczych wartość pH była podobna i wyniosła 5,84, a po upływie kolejnych 7 dni nie uległa zmianie. W próbkach, gdzie stosowany był 5% roztwór lizozymu oraz mieszanina 2,5% roztworów lizozymu i octanu sodu, w czasie przechowywania nastąpił minimalny spadek pH w porównaniu z próbkami kontrolnymi. Przeprowadzona ocena sensoryczna próbek mięsa w obu wariantach, w porównaniu z próbkami kontrolnymi, nie wykazała istotnych różnic w jakości badanych parametrów. Z przeprowadzonych badań wynika, że 5% roztwór lizozymu wykazuje mniejszą skuteczność w ograniczaniu rozwoju drobnoustrojów w mięsie drobiowym niż roztwór zawierający 2,5% lizozymu i 2,5% octanu sodu. Uzyskane wyniki badań potwierdzają skuteczność roztworów lizozymu i octanu sodu w ochronie surowego mięsa drobiowego przed zepsuciem podczas jego przechowywania. Wszystkie próbki mięsa potraktowane preparatami użytymi w drugim wariantcie doświadcze-



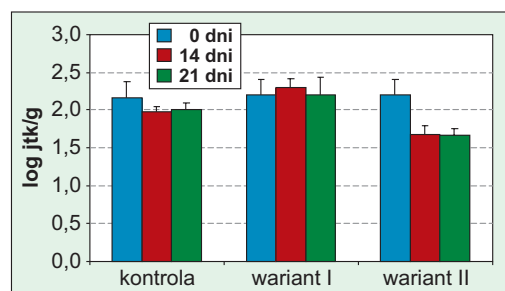
Ryc. 1. Ogólna liczba bakterii tlenowych mezofilnych w mięśniach piersiowych brojlerów drobiowych poddanych działaniu preparatów zawierających lizozym i octan sodu



Ryc. 2. Liczba bakterii z grupy *coli* w mięśniach piersiowych brojlerów drobiowych poddanych działaniu preparatów zawierających lizozym i octan sodu



Ryc. 3. Liczba *Escherichia coli* w mięśniach piersiowych brojlerów drobiowych poddanych działaniu preparatów zawierających lizozym i octan sodu



Ryc. 4. Liczba pleśni i drożdży w mięśniach piersiowych brojlerów drobiowych poddanych działaniu preparatów zawierających lizozym i octan sodu

nia charakteryzowały się mniejszą liczbą drobnoustrojów w porównaniu z próbkami kontrolnymi. W wariancie pierwszym nie stwierdzono zahamowania wzrostu pleśni i drożdży, a ich liczba była nieznacznie wyższa niż w próbkach kontrolnych. Z jednej próbki kontrolnej w dniu 0 wyizolowano pałeczki *Salmonella*. W badanych próbkach nie stwierdzono obecności *C. perfringens* i gronkowców koagulazo-dodatnich.

Traktowanie roztworem lizozymu i octanu sodu mięśni piersiowych brojlerów kurzych spowodowało istotne ograniczenie dynamiki wzrostu mikroflory w pierwszych 2 tygodniach badania. Także bakterie z grupy *coli* wykazały większą wrażliwość na roztwór zawierający mieszaninę lizozymu i octanu sodu, podczas gdy 5% roztwór lizozymu nie wpłynął znacząco na redukcję tej grupy bakterii. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że zastosowanie mieszaniny roztworów lizozymu i octanu sodu skutecznie ogranicza rozwój drobnoustrojów w mięsie drobiowym. Przedstawione wyniki potwierdzają wcześniejsze badania wskazujące na lizozym jako istotny czynnik przeciwdrobnoustrojowy, który z powodzeniem można stosować wspólnie z innymi metodami utrwalania żywności (1). W niniejszym badaniu potwierdzono skuteczność roztworów lizozymu jako środka konserwującego, ograniczającego rozwój bakterii Gram-ujemnych, w szczególności bakterii z grupy *coli* oraz *Escherichia coli*. Oba preparaty wykazały dobrą skuteczność w przeciwdziałaniu rozwojowi tych bakterii, jakkolwiek większą efektywność wykazała mieszanina lizozymu i octanu sodu. Należy przypuszczać, że lepsze efekty uzyskano by wykorzystując metodę zanurzenia całych mięśni piersiowych w roztworach lizozymu i octanu sodu. Reasumując, wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że zastosowanie mieszaniny roztworów lizozymu i octanu sodu skutecznie ogranicza rozwój drobnoustrojów w próbkach mięsa drobiowego w czasie jego przechowywania w warunkach chłodniczych.

Wnioski

W oparciu o uzyskane wyniki można sformułować następujące wnioski:

1. Roztwór lizozymu i octanu sodu jest skutecznym biologicznie czynnym środkiem konserwującym redukującym liczbę bakterii z grupy *coli* i *Escherichia coli*.

2. Zastosowanie lizozymu i octanu sodu na świeże mięso drobiowe powoduje przedłużenie jego trwałości pod względem mikrobiologicznym i organoleptycznym.

Piśmiennictwo

1. Corbo M. R., Bevilacqua A., Campaniello D., D'Amato D., Speranza B., Sinigaglia M.: Prolonging microbial shelf life of foods through the use of natural compounds and non thermal approaches – A review. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 2009, 44, 223-241.
2. Cunningham F. E.: Egg-white lysozyme as food preservative. *Wld's Poult. Sci. J.* 1991, 47, 141-163.
3. 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. Prot.* 2000, 63, 1338-1346.

4. Hughey V. L., Johnson E. A.: Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. *Appl. Environ. Microbiol.* 1987, 53, 2165-2170.
5. Hughey V. L., Wilger P. A., Johnson E. A.: Antibacterial activity of hen egg white lysozyme against *Listeria monocytogenes* Scott A in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 1989, 55, 631-638.
6. Ibrahim H. R., Matsuzaki T., Aoki T.: Genetic evidence that antibacterial activity of lysozyme is independent of its catalytic function. *FEBS Lett.* 2001, 506, 27-32.
7. Kandemir N., Yemencioğlu A., Mecitoglu C., Elmaci Z., Arslanoglu A., Goksungur Y., Baysal T.: Production of antimicrobial films by incorporation partially purified lysozyme into biodegradable films of crude exopolysaccharides obtained from *aureobasidium pullulans* fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 2005, 43, 343-350.
8. Kondratowicz J., Chwastem I.: Zmiany mikrobiologiczne mięsa chłodzonego i mrożonego. *Chłodnictwo* 2005, 1-2, 67-70.
9. Kowalska M.: Właściwości immunologiczne lizozymu. *Medycyna Wet.* 1989, 45, 323-327.
10. Kreyenschmidt J., Lohmeyer K., Stahl N.: Charakterisierung des Verderbs von Frischfleisch. *Fleischwirtschaft* 2002, 82, 108-111.
11. Malicki A., Jarmoluk A., Brużewicz S.: Effect of sodium lactate used alone or in combination with lysozyme on the physico-chemical and microbiological properties of steamed sausage stored under refrigeration. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2004, 48, 47-51.
12. Malinowska-Pańczyk E., Kołodziejka I.: Wpływ połączonego działania wysokiego ciśnienia i innych czynników na mikroorganizmy. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 515-518.
13. Mangalassary S., Han I., Rieck J., Acton J., Jiang X., Sheldon B., Dawson P.: Effect of combining nisin and/or lysozyme with in-package pasteurization on thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat turkey bologna. *J. Food Prot.* 2007, 70, 2503-2511.
14. Nattress F. M., Baker L. P.: Effects of treatment with lysozyme and nisin on the microflora and sensory properties of commercial pork. *Internat. J. Food Microbiol.* 2003, 85, 259-267.
15. Pellegrini A., Thomas U., Von Fallenberg R., Wild P.: Bacterial activities of lysozyme and aprotinin against Gram-negative and Gram-positive bacteria related to their basic character. *J. Appl. Bacteriol.* 1992, 72, 180-187.
16. Polska Norma: PN-EN ISO 4833:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
17. Polska Norma: PN-EN ISO 6579:2003. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.
18. Polska Norma: PN-EN ISO 6888-1:2001. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków). Część 1: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej Baird-Parkera.
19. Polska Norma: PN-EN ISO 7937:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby *Clostridium perfringens*. Metoda liczenia kolonii.
20. Polska Norma: PN-ISO 21527-1:2009. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni. Część 1: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody wyższej niż 0,95.
21. Polska Norma: PN-ISO 4832:2007. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania bakterii z grupy *coli*. Metoda płytkowa.
22. Proctor V. A., Cunningham F. E.: The chemistry of lysozyme and its use as food preservative and a pharmaceutical. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1988, 26, 359-395.
23. Rao M. S., Chander R., Sharma A.: Synergistic effect of chitooligosaccharides and lysozyme for meat preservation. *LWT – Food Sci. Technol.* 2008, 41, 1995-2001.
24. Samaranyake Y. H., Cheung B. P. K., Parahitiyawa N., Seneviratne C. J., Yau J. Y. Y., Yeung K. W. S., Samaranyake L. P.: Synergistic activity of lysozyme and antifungal agents against *Candida albicans* biofilms on denture acrylic surfaces. *Arch. Oral Biol.* 2009, 54, 115-126.
25. Trziszka T.: Jajczarstwo, Nauka Technologia Praktyka. Wyd. Akademii Rolniczej, Wrocław 2000.
26. Trziszka T., Kopeć W.: Lizozym i jego charakterystyka. Cz. I. Właściwości biologiczne i fizykochemiczne. *Przem. Spoż.* 1997, 51, 41-43.
27. Węsierska E.: Czynniki jakości mikrobiologicznej spożywczych jaj kurzych. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 1222-1228.
28. Yin Y.-G., Zhang T.-H., Liu J.-B., Zhuang H., Yan H.-Y., Chen Y.-J., Zhang T.: Effect on antibacterial activity of lysozyme in high-intensity pulsed electric fields (PEF). *Jilin Daxue Xuebao (Gongxueban)/J. Jilin University (Engineering and Technology Edition)* 2008, 38, 1485-1488.
29. Yuste J., Mor-Mur M., Guamis B., Pla R.: Combination of high pressure with nisin or lysozyme to further process mechanically recovered poultry meat. *High Pressure Res.* 2000, 19, 85-90.