

# 10.6

The isolation of food lysozyme preparation from meaty industrial wastes and studying their properties.

P.E. PAVLOVSKY, N.S. DANILOVA.

Moscow Technological Institute of Meat and Dairy Industries. Moscow. The USSR.

With the view of isolation food lysozyme preparation hiweng antimicrobe activity from meaty industrial wastes there was made the wide research work concerning the contain of lysozyme in various organs of animals and there was the greatest content of enzyme in spleen of cattle. The autehors used the affinity chromatographic method on deaminated chitin. Physic-chemical properties have been studied: molecular weight, humidity, homogeneity. The influence of pH and ionic power on enzymatic activity of preparation carried out. Thermostability has been studied It has been found out that preparation is hamogeneous, thermostable in acid medium. It showes maximum activity at pH 6,4 and 1/8 ionic power. Aktivity of spleen lysozyme is 70% from activity of egg white lysozyme. The autors showed the possibility of using of food lysozyme preparation for biological preservation of meatproducts.

Die Gewinnung des Nahrungspräparates Lysozums aus der Abfallen der Fleischindustrie und das Studium seiner Eigenschaft.

P.E.PAWIOWSKI, N.S.DANILOWA

Moskauer Technologisches Instituts für Fleisch- und Milchindustrie, Moskau, UdSSR.

Die Autoren machten breiten Untersuchungen im Lysozymgehalt in den verschiedenen Organen der Tiere aus dem unnahrungslich Rohstoff, um Nahrungspräparat Lysozym zu bekommen, das antimikrobiische Eigenschaften hat. Bei dem haben Sie den meisten Fermentgehalt in der Milz des Rinders entgedeckt. Die Autoren haben das Lysozym mit Filre einer Methode der Affinierenchromatografie im Desaminierungchitin ausgeschieden. Die Autoren studierten die physikalisch-chemische Eigenschaften des Präparates: die relative Molekülmasse, der Aschegehalt, die Feuchte, zeigten die Homogenität des Präpates. Die Autoren untersuchten den EinfluB pH und der Ionenstärke auf die enzymatische Aktivität des Präparates, studierten die Thermostabilität Lysozums, Sie haben festgestellt, daß das Präparat ergibt sich gleichartig, daß es ist thermische Beständigkeit im sauer Medium, bezeigt eine maximal Wirsamkeit bei pH 6,4 und der Ionenstärke 1/8 M.

Die spezilische Aktivität Lysozums der Milz bildet 70% von der Aktivität Eilysozums.

Die Autoren zeigten die Möglichkeit der Verwendung des Nahrungspräparates Lysozums als biologisches Konservierungsmittels Fleischmittels.

## 10.6

L'obtention de la lysozyme à partir des déchets de l'industrie de boucherie et de laiterie  
L'étude de ses capacités.

P.E. PAVLOVSKY, N.S. DANILOVA.

L'Institut technologique de l'industrie de boucherie et de laitrie de Moscou. Moscou. URSS.

Pour obtenir la préparation alimentaire de la lysozyme qui possède des capacités antimicrobes, les auteurs de cet ouvrage ont fait de larges recherches afin de constater la présence de la lysozyme dans des différents organes des animaux. Ils ont constaté que la rate des races bovines en contient le plus.

Pour dégager la lysozyme les auteurs ont appliquée la méthode de la chromatographie dans la chitine désaminée.

Au cours de recherches les auteurs ont étudié également des capacités physico-chimiques de la préparation: poids moléculaire, cendres, humidité, homogénéité, stabilité thermique, influence de pH et de la force ionique sur l'activité enzymatique de la préparation. On a constaté que la préparation devient homogène et stable à la haute température dans un milieu acide et manifeste une activité maximale lorsque pH est de 6,4 et la force ionique est de 1/8 M. L'activité spécifique de la lysozyme dégradée à partir de la rate des animaux constitue 10% de l'activité de la lysome d'oeufs.

Les auteurs ont démontré que la lysozyme alimentaire peut être utilisé en qualité du produit conservant biologique des denrées de viande.

### ПОЛУЧЕНИЕ ПИЩЕВОГО ПРЕПАРАТА ЛИЗОЦИМА ИЗ ОТХОДОВ

### МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО СВОЙСТВ

П.Е.ПАВЛОВСКИЙ, Н.С.ДАНИЛОВА

Московский технологический институт мясной и молочной промышленности, г.Москва, СССР

С целью получения пищевого препарата лизоцима, обладающего антимикробными свойствами, из непищевого сырья авторами проведено широкое исследование по содержанию лизоцима в различных органах животных и обнаружено, что наибольшее содержание фермента в селезенке крупного рогатого скота. Для выделения лизоцима авторы использовали метод эффициентной хроматографии на дезаминированном хитине. Изучены физико-химические свойства препарата: молекулярный вес, зольность, влажность, показана гомогенность. Исследовано влияние pH и ионной силы на ферментативную активность препарата. Изучена термостабильность лизоцима. Установлено, что препарат получается гомогенный, термостабилен в кислой среде, проявляет максимальную активность при pH 6,4 и ионной силе 1/8 M. Удельная активность лизоцима селезенки составляет 70% от активности яичного лизоцима. Авторами показана возможность применения пищевого препарата лизоцима в качестве биологического консерванта мясопродуктов.

ПОЛУЧЕНИЕ ПИЩЕВОГО ПРЕПАРАТА ЛИЗОЦИМА ИЗ ОТХОДОВ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО СВОЙСТВ.

Н.Е.ПАВЛОВСКИЙ, Н.С.ДАНИЛОВА

Московский технологический институт мясной и молочной промышленности, Москва, СССР.

Введение

Лизоцим (К.Ф.3.1.17.) широко распространен в живой природе и находит достаточно широкое применение. В настоящее время для его производства используется ценное пищевое сырье — белок куриного яйца. Данные о количественном содержании лизоцима в различных органах животных ограничены. Данных о содержании лизоцима в тканях убойного скота до настоящего времени не имелось. Изучение этого вопроса представляло практический интерес в связи с тем, что многочисленные непищевые отходы мясокомбинатов могут явиться дешевым потенциальным источником пищевого препарата лизоцима, который может быть использован как биологический консервант при производстве мясных изделий.

Экспериментальная часть

В настоящей работе проведено широкое исследование по содержанию лизоцима в различных органах животных. В качестве объектов исследования использовали следующие органы: зобную железу крупного рогатого скота (КРС), поджелудочную железу, печень, легкие, почки, селезенку. Для выделения лизоцима использовали метод аффинной хроматографии на дезаминированном хитине, дающий количественное извлечение фермента из исследуемого источника. Метод был использован для выделения лизоцима из белка куриного яйца/1/. Лизоцим выделяли следующим образом: яйца измельчали и кстрагировали бикарбонатным буфером (0,15M раствор  $\text{NaHCO}_3$  с добавлением 1%  $\text{NaCl}$ , pH 8,4). Экстракцию вели 1,5ч при постоянном перемешивании. Нерастворимый материал удаляли центрифугированием при 6000об/мин. Полученный прозрачный экстракт пропускали через колонку с хитином (2,8 × 30 см), уравновешенную экстрагентом (0,15M раствор  $\text{NaHCO}_3$  с добавлением 1%  $\text{NaCl}$ ). После промывки колонки вначале экстрагентом, а затем водой, лизоцим десорбировали 0,2 M уксусной кислотой. Элюят, содержащий лизоцим, упаривали на роторном испарителе и дополнительно очищали на сефадексе G-10. Затем раствор лизоцима лиофильно высушивали. Данные исследований представлены в таблице I. Из таблицы I видно, что

Содержание лизоцима в различных органах животных.

Таблица I.

The content of lysozyme in various organs of animals

Table I.

Источник лизоцима source	селезенка spleen	зобная железа thymus	поджелудочная железа pancreas	печень liver	легкие lungs	почки kidneys
содержание, мг/кг content,mg/kg	160	80	40 - 55	10	?	?

наибольшее содержание лизоцима в селезенке КРС и составляет 160 мг/кг сырого веса ткани. Активность полученного препарата была определена по снижению оптической плотности 20 мг/мл суспензии ацетонового порошка клеток *Micrococcus lysodeikticus* в 1/15 M натрий-фосфатном буфере, pH 6,2 и составила 70% от активности яичного лизоцима, использованного в качестве стандарта. В дальнейшей работе использовали лизоцим селезенки КРС.

Были изучены некоторые физико-химические свойства лизоцима селезенки. Данные исследований показали, что препарат получается гомогенным. Его гомогенность была подтверждена хроматографией на амберлитре CG-30 и электрофорезом в поликарбилимидном геле. Молекулярный вес был определен методом седиментационного анализа с помощью уравнения Сведберга и составил 17000. Вольность препарата определяли путем сжигания его навески в муфельной печи при

температуре  $60^{\circ}\text{C}$  до постоянного веса. Результаты опытов показали, что зольность лизоцима составляет  $13,03\%$ . Содержание влаги в препарате —  $8\%$ .

В работе было изучено влияние ионной силы раствора и pH среды на ферментативную активность препарата. Для изучения влияния ионной силы был использован натрий-фосфатный буфер, pH 6,2. Данные исследований (таблица 2) показали, что лизоцим селезенки КРС проявляет максимальную ферментативную активность при ионной силе раствора  $0,12\text{ M}$ , в то время как яичный лизоцим наиболее активен при ионной силе  $0,06\text{ M}$  [2]. При изучении влияния pH среды

Зависимость активности лизоцима селезенки от ионной силы

Таблица 2.

The influence of pH on lysozyme activity, Na - phosphate buffer, pH 6,2									Table 2.
Ионная сила, м	вода	0,008	0,0159	0,0318	0,0625	0,125	0,25	0,5	I
ionic power	water								
активность лизоцима, %	0	0	0	20,5	40	52	12	2	0,7
lysozyme activity, %.									

на ферментативную активность лизоцима селезенки КРС использовали натрий-фосфатный буфер с интервалом pH 0,6 — 0,2. Данные опытов сведены в таблицу 2. Исследования показали, что лизоцим селезенки проявляет максимальную активность при pH 6,44.

Учитывая возможность применения пищевого препарата лизоцима в качестве агента стерилизации

Зависимость активности лизоцима селезенки от pH среды

Таблица 3.

The influence of pH medium on lysozyme activity									Table 3.	
pH среды	0,50	0,9	0,22	0,44	0,64	0,83	0,90	1,18	1,30	0,2
pH of medium										
активность лизоцима, %	37	43	5	56	50	49	42	37	20	4
lysozyme activity										

лизации и консервации продуктов, приготовленных на основе мяса, было интересно изучить термостабильность препарата. С этой целью раствор лизоцима при pH 4,2 нагревали в термостате при температурах  $40^{\circ}\text{C}$ ,  $60^{\circ}\text{C}$  и  $100^{\circ}\text{C}$  в течение 5-х часов. В первых двух случаях через каждые 30 минут отбирали пробу и определяли активность препарата в растворе. При нагревании раствора до  $100^{\circ}\text{C}$  пробы сначала отбирали через 5 минут. Данные опытов представлены в таблице 4. На основании этих данных можно сделать вывод, что препарат лизоцима относительно термостабилен и выдерживает нагревание в кислой среде в течение 5 минут при нагревании до  $40^{\circ}\text{C}$  и  $60^{\circ}\text{C}$  в течение 3-х часов наблюдается незначительное уменьшение активности. Учитывая анти микробные свойства и термостабильность лизоцима селезенки КРС, препарат был использован при выработке сосисок. Пищевой препарат лизоцим добавляли при смешивании составных частей фарша в количестве 1 mg% к его массе. В готовом продукте исследовали содержание микрофлоры по истечении одних, двух, трех и четырех суток хранения. Как видно из данных, приведенных в таблице 2, введение лизоцима в фарш приводит к снижению содержания остаточной микрофлоры в сосисках.

ках в 3 - 5 раз. На основании приведенных данных можно сказать, что применение пищевого препарата лизоцима приводит к значительному снижению остаточной микрофлоры в готовом продукте.

#### Выводы:

1. Результаты исследований по количественному содержанию ферментного препарата лизоцима в непищевом сырье показали, что наибольшее содержание фермента - в селезенке КРС. Селезенка КРС может быть использована как дешевый потенциальный источник пищевого препарата лизоцима.
2. Установлено, что препарат получается гомогенный, термостабильный, проявляет максимальную активность при pH 6,4 и ионной силе 0,125 м. Ферментативная активность лизоцима селезенки составляет 70% от активности яичного лизоцима.
3. Показана возможность применения пищевого препарата лизоцима в качестве биологического консерванта мясопродуктов. Добавление лизоцима при изготовлении сосисок приводит к снижению остаточной микрофлоры в готовом продукте.

#### Литература

1. Черкасов И.А., Кравченко Н.А. "Биохимия", 34, 1089, 1969.  
2. Чистякова Л.А., Кравченко Н.А. "Биохимия", 37, вып. 6, 1972.

#### Зависимость ферментативной активности лизоцима от степени нагрева

Таблица 4.

The influence of temperature on lysozyme activity

Table 4.

Время нагрева, мин time of heating, minute	0	5	30	60	90	120	150	180
Активность лизоцима при 40°C, % Lysozyme activity at 40°C	14,6	-	12,5	71	70	62	2	25
Активность лизоцима при 60°C, % Lysozyme activity at 60°C	94,0	-	74,0	89,6	80,6	71	72,8	72,3
Активность лизоцима при 100°C, % Lysozyme activity at 100°C	70	15	<	I	0	0	0	0

#### Содержание остаточной микрофлоры в сосисках в процессе хранения

Таблица 5.

The content of residual microorganisms in sausage during storage

Table 5.

Исследуемый продукт Products	с сосисками в процессе хранения sausage meat	с сосисками в процессе хранения			
		шарш I день	2 дня	3 дня	4 дня
		I day	2 days	3days	4 days
Количество микроорганизмов в 1 г продукта с лизоцимом Quantity of microorganisms in 1 g with lysozyme	-	150	100	0	100
без лизоцима without lysozyme	800	400	700	300	250