

COMPUSI BIOCHIMICI COMPLECSI CU POTENTIAL BIOTEHNOLOGIC DIN ALBUSUL OAUOR DE GAINA

Boar Felicia, V. Miclea, H. Banciu

Abstract.

Eggs are natural foods with high nutritional benefits providing an inexpensive and low calorie source of high quality protein and several important nutrients. Among various components, ovalbumin from the egg white and IgY antibodies from the egg yolk have a high applicative potential. Many farm companies use whole egg (white and yolk) and a few undertake some basic fractionation of the egg into its yolk and white, both with a resultant waste stream of egg shell. The extraction of pure components from the white or yolk (or shell) is poorly undertaken worldwide to date. The opportunity exists to use the egg white as a source of several valuable proteins, the yolk as a source of proteins and lipids, and the shell as a source of calcium and collagen.

INTRODUCERE

Ouăle reprezintă un aliment natural cu înalte beneficii nutriționale, fiind o sursă ieftină și de calitate pentru calorii de natură proteică și pentru mai mulți nutrienți importanți. Aceasta lucrare de dizertație prezintă oportunitățile oferite de exploatarea biotehologică a ouălor de găină cu accentuarea ultimelor descoperiri în domeniu. Dintre componentele oului, albușul și imunoglobulinele (anticorpii) IgY din galbenuș, au cel mai spectaculos potențial biotehologic. Multe companii utilizează ouale întregi (albuș și gălbenuș) și foarte puține realizează fracționarea ouălor în cele două componente. În ambele cazuri însă, rezultă o mare cantitate de deșuri reprezentate de coji. Mai mult, extracția componentelor nutritive pure din albuș, gălbenuș sau coji este extrem de puțin vizată. Din acest punct de vedere există numeroase oportunități pentru purificarea unor proteine valoroase din albuș, a unor proteine și lipide din gălbenuș și pentru utilizarea cojilor ca sursă de calciu și colagen.

Un ou conține 6g de proteine (similar cu cantitatea de proteine cuprinsă în 35 g de brânză de casă sau în 180ml lapte). Ouăle conțin, de asemenea, acid folic, vitaminele A, B, D, E și fier (Burrington, 2000). Pe lângă acestea, un ou conține aproximativ 2000 mg de colină, care este asociată cu dezvoltarea timpurie a creierului. Ouăle sunt o importantă sursă de luteine și zeaxantine, un gălbenuș conținând între 200-300 mg din antioxidanți carotenoidici care au fost

asociați cu reducerea riscului de degenerare maculară datorată vârstei, o cauză majoră a orbirii (Hasler, 2000).

Prima parte care se dezvoltă în ou este gălbenușul, în jurul căruia se formează albușul. Membranele cojii și coaja înconjoară și protejează biologic și mecanic albușul oului. Procesul este complet în 20-24 de ore. Un gălbenuș cuprinde aproximativ 31% din greutatea unui ou (în medie mărimea oului este de 55 g și conține 17 g de gălbenuș). Gălbenușul cuprinde 51% apă, 16% proteine, 30,5% grăsimi și câteva minerale, conține o membrană fină și elastică numită membrană vitelină. În jurul gălbenușului se găsește albușul – un gel incolor - care cuprinde aproximativ 58% din greutatea oului (un ou de mărime medie de 55 g conține 32 g de albuș). Albușul conține 88% apă, 9% proteine și câteva minerale. Albușul există în două stări: albușul situat imediat în jurul gălbenușului, care este dens și gelatinos, și o peliculă de albuș subțire din jurul albușului dens. Această peliculă de albuș este la rândul ei delimitată de 2 membrane (externă și internă). Membranele înconjoară întregul ou și previne contaminarea bacteriană.

Tabelul 1

Compoziția chimică a ouălor de găină (g/ ou)

	Apă	Proteine	Glucoză	Oligozaharide	Lipide	Minerale	Total
Gălbenușul	9,1	3,1	0,1	0,1	5,8	0,3	18,5
Albușul	28,9	3,5	0,1	0,2	0,0	0,2	32,9
Coaja și membranele	0,1	0,4	-	-	-	5,9	6,4
Total	38,1	7,0	0,2	0,3	5,8	6,4	57,8

(După Sugino și col., 1997)

Tabelul 2

Elementele minerale prezente în oul de găină (mg/ ou)

Elemente anorganice	Gălbenuș	Albuș	Coaja oului
Na ⁺	13	53	-
Mg ²⁺	24	3	20
P	110	6	20
S	3	64	urme
Cl ⁻	23	51	-
K ⁺	21	55	-
Ca ²⁺	27	4	2210
Fe ³⁺	2	urme	urme
Total	223	236	2250

Albușul de ou

Proteinele sunt componentele majore din albușul de ou (9,7-10,6%). Carbohidrații (0,5-0,6%) există fie în formă liberă fie în combinație cu proteinele. Glucoza reprezintă aproximativ 98% din totalul carbohidraților liberi. Cantitatea de lipide din albușul de ou este neglijabilă (0,01%) comparativ cu cantitatea de lipide din gălbenuș (4%) (Powrie și Nakai, 1986). Valoarea energetică a unui albuș de ou proaspăt este de circa 50 kcal/ 100 g (USDA SR-17).

Proteinele din albușul de ou

Cele mai importante componente ale albușului de ou sunt proteinele. Deoarece proteinele din albuș au multiple proprietăți funcționale (ex. spumare, emulsificare, coagulare și adeziune de legare) ele sunt ingrediente dorite în multe alimente mai ales în produsele de panificație, patiserie și carne. Investigațiile privind proprietățile fizico-chimice ale acestor proteine au elucidat relația structură-funcție spre beneficiul tehnologiei alimentare.

Principalele proteine din albușul de ou, precum și principalele lor caracteristici fizico-chimice și biologice sunt prezentate în Tabelul 3

Tabelul 3

Proprietățile proteinelor din albușul de ou.

Proteine	Cantitate %	Greutate moleculară (Kda)	pI (punct izoelectric)	Caracteristici
Ovalbumina	54	45	4,5	
Ovotransferina	12-13	77,7	6,0	Leagă fierul și alți ioni metalici
Ovomucoidul	11	28	4,1	Inhibă proteicele serice
Lizozimul	3,4-3,5	14,3	10,7	Lizează peretele celulelor bacteriene
Ovomucina	1,5-3,5	220-270000	4,5-5,0	Interacționează cu lizozimul
G1 ovoglobulina	1,0	47	4,9-5,3	-
G2 ovoglobulina	1,0	50	4,8	-
Ovoflavoproteine	0,8	32	4,0	Leagă riboflavinele
Ovostatina	0,5	760-900	4,5-4,7	-
Cistatine	0,05	12	5,1	inhibă cistein-proteinazele
Avidina	0,05	68,3	10,0	Leagă biotina
Tiamin-proteine	-	38	-	Leagă tiaminele
Gutamil aminopeptidaze	-	320	4,2	-
Glicoproteina minoră 1	-	52	5,7	-
Glicoproteina minoră 2	-	52	5,7	-

(După Awade, 1996)

Ovalbumina

Ovalbumina este proteina majoră prezentă în albușul ouălor de păsări având masa moleculară de 45 Kda și reprezintă cca 45-50% din proteinele albușului de ou. Această proteină este membru non-inhibitor al inhibitorilor serin-proteinazici (*serpine*). Face parte din clasa serpinelor deoarece au cu structură tridimensională similară cu inhibitorii serpinici. Ovalbuminaele sunt proteine de referință în biochimie deoarece acționează ca stabilizatori, ca proteine de legare, proteine de transport, supliment mediu de creștere. Ovalbumina este foarte asemănătoare cu albumina din serul bovin în ce privește aminoacizii pe care îi conțin, și este una din cele două proteine pure care conțin aminoacizii necesari în nutriție (cealaltă proteină provine din lapte). Ovalbumina este utilizată în culturile de celule, unde eficacitatea optimă ca nutrient sau ca supliment mediu este esențială. Ovalbumina este un ideal înlocuitor al produșilor din sânge pentru om și animale, deoarece ea nu conține contaminanții inerenți albuminei serice bovine și umane. La o anumită temperatură și pH ridicat, ovalbumina nativă se transformă într-o formă termostabilă numită S-ovalbumină. În condiții normale, ovalbumina nativă se transformă printr-o stare intermediară în S-ovalbumină. Această formă asigură stocarea și nefertilizarea ouălor pentru o lună la temperaturi de 30 grade C. Forma S are stabilitate termică ridicată și este mai electronegativă decât proteinele native. S-ovalbumina este mai sensibilă la clivarea proteolitică decât proteinele native, proprietate care a dus la concluzia că în bucla sa din situsul reactiv, structura alfa-helicală este mult distorsionată (Huntington și col., 1995).

O altă formă a ovalbuminei este I-ovalbumina (ovalbumina inhibitoare) care se obține printr-un tratament termic al formei native la 97 grade C. I-ovalbumina este un inhibitor competitiv și reversibil al elastazei din neutrofilele umane, a cathepsinei G, tripsinei bovine, chemotripsinei și elastazei porcine, alfa proteinazei litice. Ea are cu 8% mai puțin structuri alfa și cu 9% mai multe structuri pliate beta decât ovalbumina nativă. I-ovalbumina diferă de serpinele active, fiind incapabilă să formeze complexe ireversibile cu proteinazele (Mellet și col., 1996). Pentru elucidarea rolului funcțional al izoformelor de ovalbumină, care nu era cunoscute, s-a studiat fluorescența denaturării și renaturării formelor de ovalbumină. Primele rapoarte arată că tehnicile de cromatografie de afinitate cu Cibacron Blue sepharose rețin majoritatea proteinelor din albușul de ou dar nu și ovalbumina (Lascu și col. 1984, Li. Col. 2000). Această metodă asigură o puritate înaltă a ovalbuminei (de 95-98%) (Fig.1) S-ovalbumina se prepară prin incubarea ovalbuminei native în tampon de fosfat de sodiu 50 mM, la 55 Grade C , timp de 16 ore, la pH 10 (Onda și Hirose, 2003). I-ovalbumina se prepară prin incubarea ovalbuminei native în același tampon la 97 grade C, timp de 30 minute la pH 7 (Mellet și col. 1996). Modulurile de denaturare și renaturare în uree al celor trei tipuri de ovalbumine sunt diferite. Forma nativă se denaturează ireversibil în uree la concentrație ridicată de 4-4,5 M, forma S nu se denaturează în limitele cuprinse între 0-8,5 M uree și se denaturează slab la 9 M uree. Forma

I-ovalbumină se denaturează reversibil la valori de 3,5-5,5 M uree. Între 5,5 și 9 M uree, forma *I* este parțial renaturată. După aceste experimente efectuate concluzia este că forma *S* și *I* din punct de vedere chimic sunt mai stabile la denaturarea cu uree decât ovalbumina nativă, având un posibil rol în depozitare (Covaciu și col. 2004).

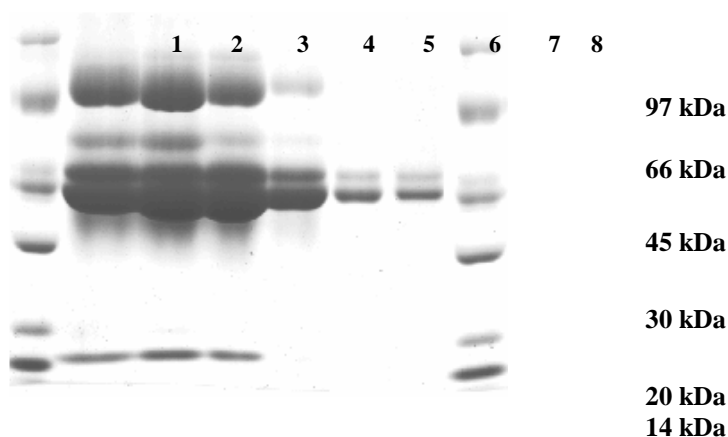


Fig.1 Electroforegrama etapelor de purificare a ovalbuminei native .:

Godeurile 1 și 8: standarde de greutate moleculară; godeul 2: fracțiunea proteică din albuș; godeul 3: fracțiunile proteice din albuș după gel-filtrare; godeul 4: fracțiunile proteice după precipitare cu soluție saturată de sulfat de amoniu; godeul 5: fracțiunile proteice după precipitare la punctul izoelectric al ovalbuminei; godeurile 6 și 7: ovalbumina nativă purificată (după Covaciu și col., 2004)

Ovokinina – un peptid recent dovedit ca având funcție vasoreglatoare și care poate fi utilizat în tratarea hipertensiunii (Fujita. și col., 1995).

Ovotransferina – poate fi utilizată pentru îmbunătățirea în fier a produselor alimentare și având proprietăți bactericide (are proprietăți terapeutice împotriva enteritelor infantile acute) (Corda și col., 1983).

Lizozimul este utilizat ca agent antimicrobian în alimente, ca agent de conservare și în controlul proceselor microbiene din producerea brânzei, a vinului și berii și agent antibacterian pentru alimentele împachetate în folii subțiri. Forma dimerică a lizozimului are proprietăți terapeutice: antivirale și anti-inflamatorii.

Ovomucina – este cunoscut ca inhibitor al hemaglutinării produse de viruși, iar subunitatea beta a ovomucinei s-a dovedit a avea efect citotoxic asupra celulelor tumorale *in vitro* (Tanizaki și col., 1997).

Ovoinhitorul – este un inhibitor al tripsinei care inhibă chimotripsina și serin proteazele bacteriene și fungale (Saxena și Tayyab, 1997)

Cistatina - aplicațiile medicale includ efecte antimicrobiene, antivirale și insecticide, previne hemoragiile cerebrale și controlează metastaza celulelor canceroase. Rezultatele utilizării cistatinei arată mai puține efecte secundare decât în cazul analogilor sintetici. Marea problemă în utilizarea cistatinei pentru tratamente medicamentoase este costul ridicat al produsului (Abrahamson și col. 2003)

Avidina

Avidina este o glicoproteină care conține patru subunități în esență identice, fiecare din acestea formează la extremități complexe stranse cu biotina. Această proprietate face ca avidina să fie mult utilizată în producția de probe de diagnostic pe bază de avidină-biotină. Avidina și biotina sunt de regulă conjugate de indicatori enzimatici precum beta-galactozidaza, peroxidaza (din hrean), și fosfataza alcalină utilizată pentru fabricarea și dezvoltarea echipamentului de diagnostic. Avidina este în mare măsură utilizată în biologia moleculară, în tehnicile de cromatografie de afinitate, în recunoașterea moleculară și în marcarea, ELIZA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), histochimie și citochimie (Fung și col., 2003, Yoo și col., 2004). Purificarea avidinei din albușul de ou este de mare interes pentru domeniul tehnologiei farmaceutice și farmacologice. Ea poate fi folosită în țintirea de organe cu sisteme microparticulate (ex. lipozomi protejați cu biotină și care încapsulează medicamente implicate în terapia organului-țintă). Legarea avidinei la agaroză îmbunătățește calitatea cromatografiei de afinitate prin îndepărtarea efectului toxic al bromurii de cianogen utilizată ca activator al matricei de agaroză în protocoalele clasice de purificare a proteinelor biotinilate (Bosch și col., 2000). Multe companii (BioGenex, Invitrogen, Molecular Probes, Vector Labs, Zymed etc) vând seturi de imunoreactivi conținând complexe avidină-biotină și streptavidină-biotină la prețuri foarte ridicate (42 euro per 5 mg de avidină).

Depozitarea și proprietățile funcționale ale albușului

Ouăle joacă un rol important în prepararea alimentelor. Ouăle au trei utilizări importante: albușul de ou are proprietatea de coagulare sau solidificare când este încălzit (pentru producerea prăjiturilor); aerare (spumare) pentru prepararea unor produse de patiserie ușoare și emulsificarea fosfolipidelor și lipoproteinelor din gălbenuș pentru producerea salatelor și sosurilor (maionezelor).

Când ouăle sunt depozitate, conversia ovalbuminei în S-ovalbumină și disocierea complexului lizozim-ovomucină (cu distrugerea gelului de ovomucină) sunt reacții importante pentru tehnologie. Aceste proprietăți sunt rezultatul reducerii proprietăților de spumare și lichefiere ale albușului. Aceste

reacții sunt esențiale în creșterea pH-ului (care poate fi accelerat prin ridicarea temperaturii). Creșterea pH sunt consecințele reducerii prin stocarea gălbenușului la temperaturi ridicate, prin înghețare la umiditate relativă de 90% (în ideea de a reduce pierderile de apă prin evaporare). Stocarea ouălor în atmosfera care conține 2.5% CO₂ sau reducerea porozității ouălor (prin înmuiere în ulei; prin punerea în apă pentru coagularea stratului subțire de proteine de sub coajă sau prin folosirea ambalajelor impermeabile) pot să ajute la creșterea perioadei de valabilitate (Linden și Lorient, 1999).

Alergenele din ou

Există o tendință crescătoare a reacțiilor alergice alimentare în ultimele decenii. Aproximativ 2-3% din populația adultă și 5-7% din cea infantilă sunt afectați de alergiile alimentare. Ouăle de găină sunt una din cauzele cele mai comune ale reacțiilor alergice, cu o prevalență de până la 35% din totalul copiilor alergici. În mod normal alergia la ou dispare până la vârsta de șapte ani dar, uneori, poate dura întreaga viață. Albușul este în general considerat mai alergen decât gălbenușul, conține patru proteine majore cu acțiune alergică și anume ovomucoidul (Gal d 1), ovalbumina (Gal d 2), ovotransferina (Gal d 3) și lizozimul (Gal d 4) care sunt definite ca proteinele imunodominante la pacienții alergici la ou (Mine și Rupa, 2004)

CONCLUZII

Ouăle sunt un aliment de bază multifuncțional. Ele sunt bine cunoscute pentru proprietățile lor spumante, gelificante și emulsificatoare. Ouăle furnizează proteine ieftine, de calitate și cu valoare calorică redusă, și în plus, alți nutrenți importanți precum acidul folic, colina, fier, seleniu și vitaminele A, B, D, E și K. Ouăle sunt, de asemenea, o sursă valoroasă de carotenoizi antioxidanți, luteină și zeaxantină. Valoarea fiecărui component al oului și utilizarea ouălor ca purtătoare a unor compuși speciali, a dobândit o atenție sporită în ultima vreme.

Această lucrare de sinteză a rezumat potențialul biotehnologic al ouălor de pasăre. Cea mai ieftină cale de îmbunătățire a calității ouălor de pasăre este îmbunătățirea suplimentelor de hrană pentru animalele producătoare. Ouăle „artificiale” sunt astfel produse pentru a conține nivele ridicate de agenți benefici incluzând acizi grași omega, acid folic, vitamina E și seleniu. Extracția componentelor pure din albuș sau gălbenuș (sau coajă) prezintă avantaje tehnologice enorme, prin costul produselor pe piața biomedicală în special.

BIBLIOGRAFIE

1. ABRAHAMSON M., ALVAREZ-FERNANDEZ M., NATHANSON C.M., 2003 Cystatins. *Biochem Soc Symp.*, 70, 179-199.

2. AKITA E.M., NAKAI S., 1992. Immunoglobulins from egg yolk: Isolation and purification. *J Food Sci.*, **57**, 629-634.
3. BAYER E.A., DE MEESTER F., KULIK T., WILCHEK M., 1995. Preparation of deglycosylated egg white avidin. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **53**, 1-9.
4. BOSCH T., LENNERTZ A., DUHR C., FINK E., SAMTLEBEN W., 2000. Ex vivo biocompatibility of avidin-agarose: a new device for direct adsorption of biotinylated antibodies from human whole blood. *Artif. Organs*, **24**, 696-704.
5. CORDA R., BIDDAU P., CORRIAS A., PUXEDDU E., 1983. Conalbumin in the treatment of acute enteritis in the infant. *Int J Tissue React*, **5**, 117-123.
6. COVACIU M., OLARU F., SABOU I., PETRESCU I., 2004 b. Studii de fluorescență privind denaturarea/renaturarea chimică a izoformelor de ovalbumină. *Analele Soc Nat Biol Cel*, **IX** (2), 160-166.
7. FUJITA H., SASAKI R., YOSHIKAWA M., 1995. Potentiation of the antihypertensive activity of orally administered ovokinin, a vasorelaxing peptide derived from ovalbumin, by emulsification in egg phosphatidylcholine. *Biosci Biotechnol Biochem.*, **59**, 2344-2345.
8. HASLER C.M., 2000. The changing face of functional foods. *J Am Coll Nutr.*, **19**(5), 499S-506S.
9. LASCU I., PORUMB H., PORUMB T., ABRUDAN I., TARMURE C., PETRESCU I., PRESECAN E., PROINOV I., TELIA M., 1984. Ion-exchange properties of Cibacron Blue 3G-A Sepharose (Blue Sepharose) and the interaction of proteins with Cibacron Blue 3G-A. *J. Chromatogr.*, **283**, 199-210.
10. LI S., BOHUI X., RUNZI C., JUNDE W., 2000. Cibacron Blue F3GA-Attached 2 μ m Non-Porous Monodisperse Silicas for Affinity Chromatography. *Chromatography*, **21**, 221-224.
11. LINDEN G., LORIENT D., 1999. Egg Products. In *New Ingredients In Food Processing: Biochemistry And Agriculture* LINDEN G., LORIENT D. (Eds) CRC Press, Woodhead.
12. MELLET P., MICHELS B., BIETH J.G., 1996. Heat-induced conversion of ovalbumin into a proteinase inhibitor. *J. Biol. Chem.*, **271**, 30311-30314.
13. MINE Y., RUPA P., 2004. Immunological and biochemical properties of egg allergens. *World Poultry Sci. J.*, **60**, 321-330.
14. SAXENA I., TAYYAB S., 1997. Protein proteinase inhibitors from avian egg whites. *Cell Mol Life Sci*, **53**, 13-23.
15. SUGINO H., NITODA T., JUNEJA L.R., 1997. General chemical composition of hen eggs. In: *Hen eggs: Their basic and applied science*. YAMAMOTO T., JUNEJA L.R., HATTA H., KIM M. (Eds). CRC Press.
16. * * * United States Department of Agriculture, Standard Release 17, 2004.
<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR17/reports/sr17fg01.pdf>