

COMPUȘI BIOCHIMICI COMPLECȘI CU POTENȚIAL BIOTEHNOLOGIC DIN GĂLBENUȘUL OUĂLOR DE GĂINĂ

Felicia Boar, V. Miclea, H. Banciu

Abstract.

Eggs have been called “nature’s perfect food”. This is because they are one of the few “complete protein foods”, i.e. they contain all the nine essential amino acids which cannot be manufactured from the body but must be obtained from foods. The contents of a shell egg provide all these essential amino acids as well as a significant number of vitamins and minerals. These contents are perfectly and naturally packaged in an egg shell. Despite their previously suspected role in promoting high cholesterol, nutritionists now agree that moderate egg consumption has little or no negative effect on cholesterol levels.

Eggs are an excellent, inexpensive and low-calorie source of high quality protein and several important nutrients, including riboflavin, selenium and Vitamin K. They contain protein which is needed for building and repairing the cells in muscles and other body tissues. These proteins are made up of smaller units called amino acids. All of the amino acids which are essential for humans are found in eggs in such ideal proportions that egg protein is used as the standard against which all other protein foods are rated.

Key words: eggs, nutrients, protein, vitamins, minerals.

INTRODUCERE

Ouăle, supranumite și „hrana naturală perfectă”, sunt alimente proteice complete, conținând nouă aminoacizi esențiali, care nu pot fi manufacturați de către organism și care trebuie obținuți din hrană.

Accentuarea calităților componentelor din ou a devenit o preocupare majoră pentru industria avicolă. Utilizarea ouălor ca surse nutritive speciale și ieftine precum și izolarea componentelor valoroase (în special a proteinelor) din ouă a primit o atenție din ce în ce mai mare. Din ouă sau izolat ovalbumina, lizozimul, avidina și alte substanțe chimice cu activitate biologică cunoscută (Juneja, 1991).

Gălbenușul de ou. În opoziție cu albușul, gălbenușul este mai bogat în lipide decât în proteine. Gălbenușul conține: 15,7 – 16,6 % proteine, 31,8 – 35,5 % lipide, 0,2 – 1 % carbohidrați și 1% la apă. Principalii constituenți ai gălbenușului cu potențial aplicativ sunt lipidele și proteinele.

Lipidele din gălbenușul de ou

Lipidele sunt principalii constituenți ai gălbenușului și reprezintă aproximativ 60 % din greutatea gălbenușului. Lipidele sunt trigliceride, fosfolipide, colesterol, cerebrozide și cateve lipide minore.

Trigliceridele. Acizii grași din trigliceridele gălbenușului sunt: acidul oleic (C18:1) și acidul palmitic (C16:0), acidul linoleic (C19:2) și acidul stearic (C18:0). Acizii grași precum acidul miristic (C14:0) și alții se găsesc numai în cantități foarte mici (Makrides și col, 2002).

Lecitina. Recent cererea pentru lecitine și fosfolipide a crescut datorită costului efectiv de producție la scară largă. Fosfolipidele generale au mare utilizare în producerea alimentelor cu preparare rapidă din fast food-uri, paste făinoase, produse de patiserie, margarină, produse dietetice, înghețată, iaurt, lapte, carne.

Colina. Tendința modernă de reducerea grăsimilor din dietă a dus la scăderea suplimentului de colină și fosfolipide esențiale. Oul este o sursă excelentă de colină. Colina și folatul sunt de asemenea adăugate în preparatele pentru copii care se comercializează (Makrides și col, 2002).

Colesterolul. Se admite că în timpul dezvoltării timpurii ar putea fi crucial pentru exercitarea funcțiilor celulare și în metabolismul lipoproteinelor din cursul dezvoltării copilului. Când colesterolul este adăugat în formulele pentru copii, concentrația colesterolului din plasmă și distribuția acizilor grași în membrana hematiilor acestor copii sunt similare cu a celor care sunt hrăniți la sân..

Sfingolipidele. Chiar dacă efectele nutriționale nu sunt cunoscute pentru sfingolipide, ele sunt hidrolizate în tractul gastrointestinal la metaboliți folosiți de celule pentru reglarea creșterii, diferențiere, apoptoză și în alte funcții celulare. Studiile pe animale de experiență ne arată că sfingolipidele din dietă inhibă carcinoamele de colon, reduce nivelul de colesterol legat la lipoproteinele ușoare (LDL) din serul sangvin și crește nivelul de lipoproteinele dense (HDL), sugerând că sfingolipidele reprezintă un constituent funcțional al alimentelor (Duan, 2005, Li și col. 2005).

Proteinele din gălbenușul de ou.

Gălbenușul este un fluid omogen. Cea mai mare parte a gălbenușului sunt lipoproteinele care sunt separate într-o fracțiune plasmatică (care rămâne solubilă la centrifugare) și o fracțiune granulară (care se precipită la centrifugare).

Lipoproteine cu densitate mică (LDL) (care conține între 80 și 90 % lipide) este principala proteină a gălbenușului de ou și reprezintă aproximativ 65 % din totalul proteinelor. Sunt caracterizate prin capacitatea de emulsificare care poate fi distrusă prin congelare. Când LDL sunt tratate cu eter, o fracțiune (numită lipoviteline) este reținută la interfața dintre eter și apă. Lipovitelinele conțin aproximativ 40 % grăsime și sunt solubile în NaCl saturat-eter (Sungino și col, 1997). LDL conduce colesterolul în țesuturile corpului. LDL-colesterolul este considerat ca fiind colesterol nociv care se depune pe pereții arterelor.

Lipoproteine cu densitate înaltă (HDL) sunt constituite din livetine și lipoviteline. Ambele proteine HDL conțin 21 – 22 % lipide. HDL formează un complex cu o fosfoproteină numită „fosvitină” (Sungino și col, 1997). HDL-colesterolul este considerat benefic pentru că ajută acest colesterol este transportat de la țesuturile corpului la ficat pentru metabolizare. Consumul unui ou pe zi este sănătos pentru oameni pentru că nu are efecte adverse dar poate crește nivelul HDL în plasmă.

Anticorpții din gălbenușul de ou

Cele mai mari eforturi de cercetare sunt centrate pe izolarea imunoproteinelor din gălbenușul de ou. Ouăle conțin anticorpi împotriva tuturor factorilor la care suntem expuși. De asemenea, găinile pot fi expuse unor schimbări specifice și pot produce anticorpi specifici. Anticorpții găinilor au un potențial atractiv pentru utilizarea lor la oameni și animale, deoarece nu cauzează răspunsuri inflamatorii. Anticorpții din gălbenuș pot fi utilizați la inducerea protecției împotriva infecțiilor enterice și pentru pacienții care au sistemul imunitar slăbit și unele reacții inflamatorii. Conjugarea anticorpilor cu medicamentele poate fi un agent important în tratamentul cancerului. De asemenea sunt folosite ca reactivi biochimici. Dacă sunt izolați chimic sau încapsulați, anticorpții de pasăre devin rezistenți la variații de pH și la acțiunea enzimelor digestive.

Serul aviar conține trei clase de imunoglobuline – **IgA**, **IgY** (echivalentul IgG de la mamifere) și **IgM**. Aceste proteine pot lega anticorpi specifici ca: bacterii, virusuri, agenți cancerigeni, toxine și pot neutraliza efectele antigenice dăunătoare. Se știe că principalul anticorp din serul păsărilor, IgY, este transferat de-a lungul epiteliului folicular al ovarului și se acumulează în gălbenuș în timpul ovogenezei într-o manieră similară cu transferul placentar al IgG de la mamifere (Rose și Orleans, 1981). IgA și IgM sunt transferate în albușul de ou în cantități limitate.

Producerea de anticorpi policlonali

IgY de la găină sunt principalii anticorpi circulanți găsiți la găini și sunt corespondenții ai imunoglobulinelor G de la mamifere. IgY este echivalentul lui IgG în cele mai multe aplicații experimentale inclusiv în Western Blotting, ELISA, imunohistochimie, imunocitochimie și în blocarea grupărilor chimice funcționale. IgY are aceeași structură generală ca IgG a mamiferelor, cu două lanțuri grele (67-70 kDa) și două lanțuri ușoare (22-30 kDa).

Avantajele utilizării anticorpilor IgY de la găină

Există mai multe avantaje în privința alegerii păsărilor pentru producerea de anticorpi policlonali.

1. Păsările fiind îndepărtate din punct de vedere filogenetic de mamifere, sunt capabile de producerea anticorpilor cu afinitate mare pentru

- antigenii mamiferelor (în special pentru proteinele de mamifere înalt conservate). Tot din acest punct de vedere, reacția antigen-anticorp este mult mai puternică (în special datorită regiunii Fc din IgY care este mult diferită de regiunea omoloagă din IgG de la mamifere)
2. Se evită reacțiile nespecifice deoarece IgY nu se leagă de factorul reumatoid mamalian și nici de alți anticorpi naturali anti-mamifere (ca de ex. HAMA)
 3. IgY nu activează sistemele complement de la mamifere
 4. IgY nu se leagă la receptorii Fc mamalieni
 5. IgY nu se leagă de proteina stafilococică A și nici de proteina G
 6. IgY este un anticorp stabil care are caracteristici similare cu IgG astfel: este bivalentă, poate fi degradată cu papaină rezultând fragmente Fab, poate fi marcată cu enzimă, biotinitată sau marcată cu particule de aur prin proceduri standard
 7. O singură găină poate produce o cantitate mare de anticorpi ajungând până la 3g IgY pe lună care este de 10-20 de ori mai mare decât producția de anticorpi de la iepuri. Comparativ cu iepurii, găinile produc anticorpi mult mai repede, anticorpi cu titru înalt apar în ou începând cu a 25-a zi; producătorii de IgY pot distribui 0,5 g IgY purificat într-un termen de 50-60 de zile.
 8. Este una dintre cele mai „umane” modalități de producere a anticorpilor policlonali. Nu este nevoie de sacrificarea găinilor. Colectarea ouălor nu presupune traumatizarea animalelor și este compatibilă cu metodele moderne de protecție a animalelor.
 9. Fiind împachetată în mod convenabil în ouă, ce pot fi colectate și depozitate pe o perioadă mai lungă de timp, IgY poate fi retroactiv purificată
 10. Creșterea găinilor este mai puțin costisitoare decât creșterea iepurilor.

Utilizările IgY

Anticorpii găinilor sunt utilizați în imunoterapia perorală la oameni și la animale deoarece ei nu activează complementul și nici nu interacționează cu receptorii Fc de la mamifere care pot media răspunsuri inflamatorii în tractul gastrointestinal. Deși mecanismul de acțiune al acestei imunități „pasive” nu este cunoscut în totalitate, efectele pozitive ale IgY administrat în hrană, apar după 6 săptămâni de la întreruperea tratamentului cu anticorpi aviari la vaci (Coleman, 1999).

IgY din gălbenușul găinilor imunizate cu *E.coli* poate determina agregarea celulelor bacteriene și inhiba creșterea lor *in vitro*. IgY este relativ stabilă, fără pierderea activității anticorpice la pasteurizare, în particular la un pH mai mare de 4. IgY studiat a fost mai sensibilă la digestia cu pepsină decât IgG bovin, dar mult mai rezistentă la digestia cu chimotripsină și tripsină. Devine

astfel posibilă utilizarea IgY pentru fortificarea produselor alimentare în special a dietei pentru copii.

În general suprafața intestinală este protejată de IgA, un anticorp secretat de celulele plasmatică pe suprafața mucoasei. O cantitate de 13 g de IgA este produsă zilnic făcând din aceasta cel mai prolific proces de formare a proteinelor din corp. Pacienții cu tratament imuno-supresor prezintă incapacitatea de a produce IgA necesar și nu sunt capabili să se protejeze ei înșiși împotriva microorganismelor patogene care sunt prezente în mod obișnuit în interiorul organismului. Utilizarea IgY ca surogat de IgA a fost o reușită experimentală (Coleman, 1999).

Metodele de extracție a IgY

Au fost descrise multe metode pentru izolarea și purificarea imunoglobulinei din gălbenușul de ou. Totuși cele mai multe dintre aceste metode nu se pretează a fi aplicate și la alimente. Metoda adoptată în prepararea imunoglobulinei nu trebuie să permită folosirea chimicalelor, ar trebui să fie simplă, ușor de realizat și cu un cost scăzut.

Covaciu și col. (2003, 2004 b) au comparat trei metode de purificare ale IgY: extracție cu solvenți, diluție în apă și precipitare cu polietilen glicol. Colectivul român a comparat de asemenea și aspectul anticorpilor IgY de la trei specii diferite de păsări (găină, prepeliță, rață). Rezultatele, evaluate prin metoda SDS-PAGE (Sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis), sunt prezentate în figura 2. După cunoștințele noastre, aceasta este un prim experiment de purificare a IgY efectuat în domeniul științelor biomedicale din România.

O primă concluzie a acestui experiment a fost că toate cele trei metode conduc la anticorpi IgY cu un înalt grad de puritate. Avantajul diluției cu apă constă în riscul minim pentru denaturarea IgY prin eliminarea etapei de delipidare care necesită prezență solvenților organici. Dezavantajul metodei este dat de pierderile cauzate de diluția în apă. Aceste pierderi ale IgY au fost observate în special în cazul IgY de rață care poate fi izolat numai în urma unei delipidări cu cloroform, datorită compoziției lipidice diferite față de cea de la găină. Extracția IgY cu PEG 8000 este avantajoasă din punct de vedere al timpului, însă această metodă poate fi eficientă doar în cazul ouălor de găină.

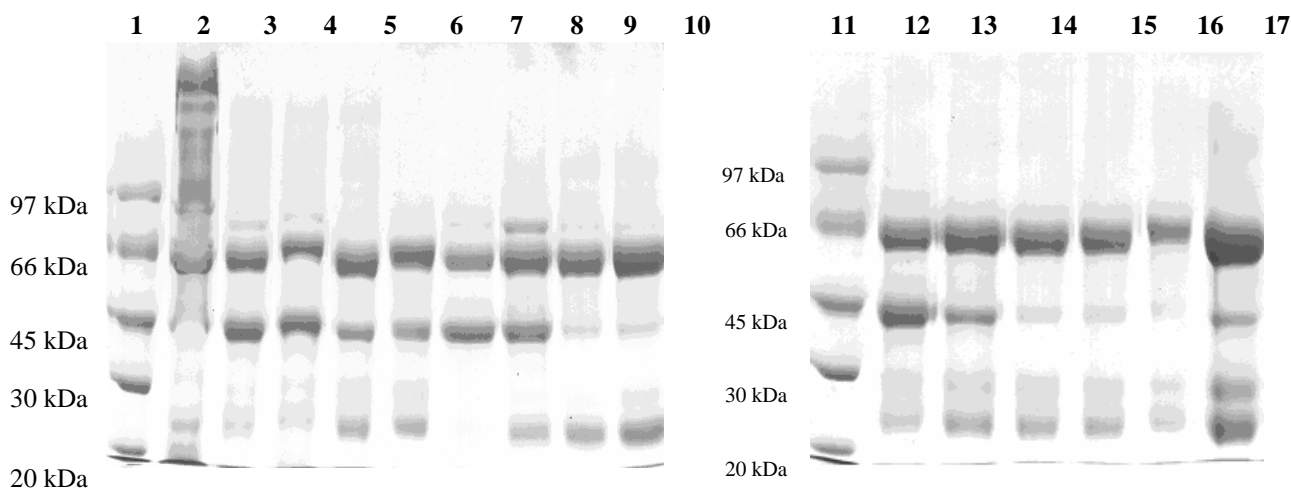


Fig. 2. Aspectul electroforetic (10% PAGE) al IgY din gălbenușul oului de găină extras prin trei metode diferite: cu solvenți organici (godeurile 2-8, corespunzând diferitelor etape de purificare), cu polietilenglicol (PEG 8000) (godeurile 9-10) și prin diluție cu apă (godeurile 11-17). Standardele de greutate moleculară sunt adăugate în godeurile 1 și 11 (Covaciu și col., 2003)

Glucidele din gălbenușul de ou

Sialil-oligozaharidele – cel mai probabil joacă un rol important în mecanismele de apărare împotriva bolilor cauzate de microorganismele patogene în care sunt incluse pneumonia, diarea, gastrita și ulcerul. Derivatele de acid sialic (ganglioizidele) sunt cunoscute ca fiind implicate în funcționarea creierului și au, de asemenea, importanță în protejarea copiilor de diferite boli. Recent, acidul sialic și sialil-oligozaharidele au atras atenția în industria farmaceutică și chimică datorită potențialelor funcții potențiale biologice. Diversificarea preparatelor industriale din gălbenușul de ou a avut drept consecință diversificarea proceselor de producție cu rezultate în îmbogățirea dietei infantile, în alimentație și suplimente nutriționale.

Concluzii

Ouăle reprezintă un aliment natural cu înalte beneficii nutriționale, fiind o sursă ieftină și de calitate pentru compuși de natură proteică și alți nutrienți importanți. 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.

Multe companii utilizează întregul ou (gălbenuș și albuș) și foarte puține procesează componentele individuale ale oului. Extracția componentelor pure gălbenuș (sau coajă) prezintă avantaje tehnologice enorme, prin costul produselor pe piața biomedicală în special. În primul rând, lipidele și proteinele din gălbenuș (anticorpii aviari) și calciul și colagenul din pulberea de coajă de ou, respectiv din membranele oului, sunt compuși extrem de atractivi din punct de vedere al multiplelor utilizări în industria alimentară, farmaceutică și cosmeticelor.

BIBLIOGRAFIE

1. Coleman M. A., 1999, Using egg antibodies to treat diseases. In: *Egg Nutrition and Biotechnology*. SIM J.S., NAKAI S., GUENTER, W. (Eds), CABI Publishing, Wallingford.
2. Covaciu M., A. Negrea, F. Olaru, V. Bic, I. Petrescu, 2003, Imunoglobuline din galbenusul de ou: metode de izolare și purificare. *Analele Soc Nat Biol Cel*, VIII, 516-522.
3. Covaciu M., F. Olaru, V. Bic, I. Petrescu, 2004, a. Studiul comparativ al imunoglobulinelor obținute din ouale de pasari prin diferite tehnici de purificare. *Analele Soc Nat Biol Cel*, IX (2), 267-271.
4. Duan R. D., 2005, Anticancer compounds and sphingolipid metabolism in the colon. *In Vivo*, 19, 293-300.
5. Juneja L. R., M. Koketsu, K. Nishimoto, M. Kim, T. Yamamoto, T. Itoh, 1991, Large-scale preparation of sialic acid from chalaza and egg-yolk membrane. *Carbohydrate Res.*, 214, 179-186.
6. Li X., T. Nakano, H. H. Sunwoo, B. H. Paek, H. S. Chae, J. S. Sim, 1998, a. Effects of egg and yolk weights on yolk antibody (IgY) production in laying chickens. *Poultry Sci.*, 77, 266-270.
7. Makrides M., J. S. Hawkes, M. A. Neumann, R. A. Gibson, 2002, Nutritional effect of including egg yolk in the weaning diet of breast-fed and formula-fed infants: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 75, 1084-1092.
8. rose m.e., orlans e., 1981. Immunoglobulins in the egg, embryo and young chick. *Dev. Comp. Immun.*, 5, 371-375.
9. Sugino H., T. Nitoda, L. R. Juneja, 1997. General chemical composition of hen eggs. In: *Hen eggs: Their basic and applied science*. YAMMAMOTO T., JUNEJA L.R, HATTA H , KIM M. (Eds). CRC Press.