

# Wykorzystanie lizozymu do utrwalania żywności w diagnostyce medycznej i farmakologii

Jacek Kijowski  
Grzegorz Leśnierowski  
Katedra Technologii Produktów Drobiarskich  
Akademia Rolnicza  
Poznań

## 1. Wstęp

Przeciwbakteryjne działanie lizozymu znane jest od momentu odkrycia tego enzymu przez Fleminga w 1922 r. Stan dzisiejszej wiedzy o jego strukturze oraz właściwościach biologicznych i bakteriostatycznych spowodował wzrost zainteresowania praktycznym wykorzystaniem enzymu. W 1992 r. mieszana Komisja Ekspertów WHO/FAO do spraw stosowania dodatków do żywności uznała lizozym środkiem bezpiecznym i zezwoliła na stosowanie go przy produkcji i utrwalaniu żywności. Aktualnie lizozym wykorzystywany jest w skali przemysłowej w Austrii, Australii, Belgii, Danii, Finlandii, Francji, Hiszpanii, Japonii, Niemczech i Włoszech, a Kanada, Norwegia, Wielka Brytania i USA planują wprowadzenie enzymu do przemysłu spożywczego w najbliższej przyszłości (1). Stosowanie lizozymu w przemyśle spożywczym dotyczy głównie wykorzystania enzymu jako środka utrwalającego przy przechowywaniu surowców i produktów spożywczych oraz jako składnika przy produkcji odżywek, serów i mleka w proszku. Interesującą próbą wykorzystania enzymu jest stosowanie go w diagnostyce medycznej i farmakologii. Warunkiem niezbędnym dla enzymatycznego działania lizozymu jest zapewnienie odpowiednich warunków środowiska z uwzględnieniem substancji stymulujących jego aktywność.

## 2. Antybakteryjne działanie lizozymu

Klasyczny podział bakterii obejmuje organizmy gramododatnie i gramujemne. Sztynna struktura ściany komórkowej obu rodzajów bakterii składa się z kowalencyjnie połączonych łańcuchów polisacharydowych i peptydowych tworzących tak zwany kompleks polisacharydowo-peptydowy (peptydoglikan).



Podstawową jednostką powtarzającą się w łańcuchach polisacharydowych jest muropeptyd, w którego skład wchodzi dwucukier zbudowany z N-acetyloglukozoaminy połączonej wiązaniem  $\beta(1-4)$  z kwasem N-acetylmuraminowym. Długie równoległe łańcuchy polisacharydowe połączone są ze sobą poprzecznie za pomocą krótkich, bocznych łańcuchów peptydowych. Końcowa reszta D-alaninowa w bocznym łańcuchu peptydowym jednego łańcucha polisacharydowego łączy się kowalencyjnie z peptydowym łańcuchem bocznym przyległego łańcucha polisacharydowego (2). W przedstawionym na rys. 1 schemacie budowy mukokompleksu ściany komórkowej *Staphylococcus aureus*, jako poprzeczny łącznik występuje pentapeptyd glicynowy.

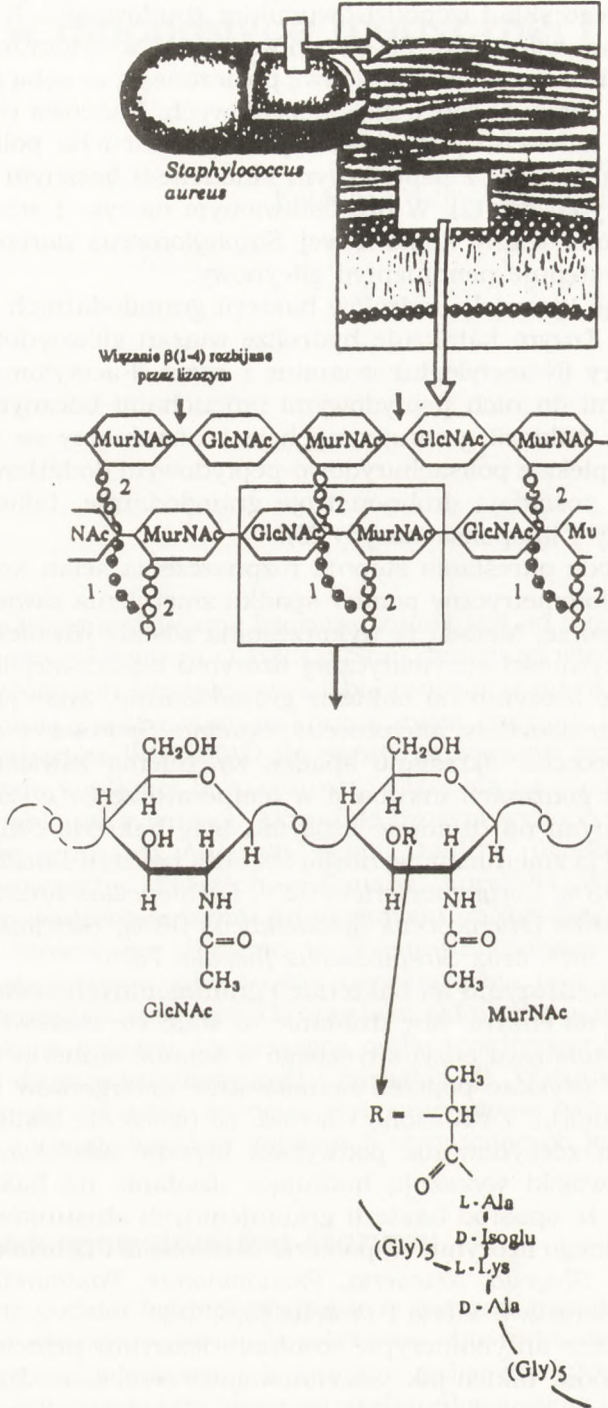
Lizozym powoduje lizę wielu rodzajów bakterii gramododatnich trawiąc ich ściany komórkowe. Enzym katalizuje hydrolizę wiązań glikozydowych  $\beta(1-4)$  uwalniając dwucukry (N-acetyloglukozoaminę i kwas N-acetylmuraminowy) wraz z przyłączonymi do nich peptydowymi łańcuchami bocznymi. Rozkład ścian komórkowych bakterii gramujemnych jest utrudniony ze względu na obecność w ich kompleksie polisacharydowo-peptydowym dodatkowych składników, których nie posiadają drobnoustroje gramododatnie, takich jak polipeptydy, lipoproteidy i lipopolisacharydy (3).

Powszechną metodą określania stopnia rozpuszczenia ścian komórkowych bakterii jest spektrofotometryczny pomiar spadku zmętnienia zawiesiny bakterii w badanym roztworze. Metoda ta wykorzystana została również do wyznaczenia jednostki aktywności enzymatycznej lizozymu oznaczanej literą U (4).

Badając działanie lizozymu na bakterie gramododatnie, takie jak: *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Sporosarcina*, *Staphylococcus* oraz *Streptococcus*, określano spadek zmętnienia zawiesiny bakterii w roztworach po 24 godzinach inkubacji w temperaturze 37°C. Stwierdzono, że najbardziej opornymi na działanie lizozymu były bakterie *Staphylococcus aureus*, gdzie redukcja zmętnienia wynosiła 9%. Dla bakterii *Bacillus* redukcja wynosiła od 51 do 95%, *Corynebacterium* 92%, *Lactobacillus arabinosus* 22%, *Micrococcus* 72 do 98% (*Micrococcus lysodeikticus* 98%), *Sarcina lutea* 98%, *Sporosarcinia ureae* 98% oraz *Streptococcus faecalis* 73%.

Testując działanie lizozymu na bakteriach gramujemnych stwierdzono wysoką ich odporność na enzym. Aby działanie to stało się możliwe, konieczne jest udostępnienie substratu enzymatycznego w ścianie komórki bakteryjnej. Efekt ten udaje się uzyskać poprzez zastosowanie detergentów na lipidowe składniki ściany komórki. Zauważono również, że tworzenie koniugatów lizozymu z dekstranem zdecydowanie podwyższa lityczne właściwości enzymu i takie sprzężone związki wykazują hamujące działanie na bakterie gramujemne. Wykazano, że spośród bakterii gramujemnych stosunkowo wrażliwe na działanie naturalnego lizozymu są pałeczki *Salmonella* i *Brucella*, względnie wrażliwe *Klebsiella*, *Shigella*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Pasteurella*, *Erwinia*, *Escherichia*, zaś niewrażliwe *Vibrio* i *Proteus* (5,6,7,8).

Obserwowano także antybakteryjne działanie lizozymu przeciwko niektórym gatunkom grzybów, takich jak: *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Candida albicans*, *Crypto-*





*Micrococcus neoformans* i *Geotrichum candidum*, co może być wykorzystane zarówno w przemyśle spożywczym jak i w medycynie (1).

Od czasu wyizolowania lizozymu z mleka kobiecego i krowiego podejmowano próby określenia wpływu enzymu na bakterie znajdujące się w mleku. W tym celu badano osiem rodzajów bakterii gramdodatnich (*Micrococcus lysodeikticus*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) oraz pięć rodzajów bakterii gramujemnych (*Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens* i *Pseudomonas aeruginosa*). Wykazano, że wszystkie były czułe na działanie lizozymu z mleka krowiego i wszystkie oprócz bakterii fermentacji mlekowej (*Lactobacillus casei* i *Streptococcus lactis*) były czułe na lizozym z mleka kobiecego. Natomiast badając efekt działania lizozymu na termofilne bakterie fermentacji kwasu mlekowego stwierdzono, że w serwatce enzym o stężeniu powyżej 10 µg/ml wywoływał efekt lityczny. Wywołanie bakteriostatycznego działania lizozymu na bakterie *Lactobacillus helveticus* i *Lactobacillus fermentum* znajdujące się w mleku, wymagało stosowania większego stężenia enzymu w środowisku (powyżej 50 µg/ml). Sugerowano, że przyczyną tego zjawiska była adsorbcja lizozymu na kazeinie. Stwierdzono również, że niektóre bakterie fermentacji kwasu mlekowego są bardziej czułe na działanie lityczne lizozymu, wtedy gdy podłoża na których są hodowane wzbogaci się niektórymi związkami chemicznymi. Bakterie *Streptococci*, *Lactobacilli*, *Actinomyceles*, *Propionobakterie* i *Pediococci* były bardziej czułe na działanie lizozymu, wówczas gdy podłoże wzbogacono w treoninę lub lizynę, bądź zastosowano jako podłoże glukozę (9,10,11).

Badano również działanie lizozymu na niektóre bakterie patogenne. Określając lityczne działanie enzymu na zakażone mięso indycze stwierdzono, że z próbek zakażonych bakteriami rodzaju *Salmonella seftenberg* roztwór lizozymu o stężeniu 0,1% całkowicie eliminował drobnoustroje po trzygodzinnej inkubacji w temperaturze 22°C. Specyficzne zachowanie wykazywały natomiast przetrwalniki bakterii *Clostridium botulinum*, które poddane działaniu lizozymu charakteryzowały się wyższą opornością cieplną. Wartość dziesiętnej redukcji liczby bakterii  $D_{80}$  (czas potrzebny do zniszczenia 90% bakterii w temperaturze 80°C) wynosiła 1,51 minuty dla przetrwalników nie poddanych działaniu lizozymu i 20,84 minuty dla przetrwalników, na które oddziaływał enzym. Wyniki te były potwierdzeniem wcześniejszych badań przeprowadzonych przez innych autorów, a otrzymane zależności powinny być uwzględniane przy procesach termicznego utrwalania żywności (12,13,14).

Z kolei badano *in vitro* efekt dodatku EDTA, buforu Tris-HCl i roztworu lizozymu na szesnastu rodzajach bakterii patogennych o znaczeniu medyc-

Rys. 1. Budowa mukokompleksu ściany komórki *Staphylococcus aureus* i miejsce działania lizozymu (1): MurNAC — kwas N-acetylmuraminowy; GlcNAC — N-acetyloglukozoamina; 1,2 — boczne łańcuchy peptydowe łączące łańcuchy polisacharydowe.

←



nym i weterynaryjnym. Stwierdzono zasadniczy wpływ tych czynników na zmniejszenie ilości *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Moraxella osloensis* i *Campylobacter fetus* oraz w mniejszym stopniu na *Salmonella typhimurium*, *Shigella boydii*, *Aeromonas hydrophi*, *Proteus mirabilis*, *Listeria monocytogenes* i *Erysipelothrix insidiosus*. Nie wykazano natomiast żadnego wpływu lizozymu na zmniejszenie ilości bakterii *Klebsiella ozaenae*, *Brucella canis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Corynebacterium renale*, *Streptococcus canis* i *Staphylococcus aureus*. Sugerowano również, że bakteriostatyczne działanie lizozymu mogło być wspomagane także jego kationowymi i hydrofobowymi właściwościami (15,16).

W latach osiemdziesiątych wykazano, że występujące w żywności gram-dodatnie bakterie *Listeria monocytogenes* są bardzo poważną przyczyną chorób układu pokarmowego u ludzi. Szczególnie niska odporność występuje u kobiet w ciąży, chorych na AIDS oraz cierpiących na nowotwory złośliwe. W celu wyeliminowania *Listerii monocytogenes* z surowców i produktów żywnościowych próbowano wykorzystać lizozym. Zaobserwowano, że enzym wykazuje lityczne działanie przynajmniej na cztery szczepy tych bakterii. Obecnie prowadzone są intensywne prace badawcze w tym kierunku (1).

### 3. Wykorzystanie lizozymu w przemyśle spożywczym

Znaczne zainteresowanie wykorzystaniem lizozymu, przede wszystkim w Japonii, dotyczy stosowania enzymu w przemyśle spożywczym. Wiedząc, że lizozym z białka jaja kurzego posiada lityczne działanie na bakterie *Escherichia coli*, zastosowano go jako środek ochronny do takich produktów żywnościowych jak kiełbasy, ryby i mięso. Japonia posiada wiele patentów dotyczących utrwalania świeżych warzyw, owoców, ryb i mięsa głównie poprzez pokrycie ich powierzchni lizozymem. Patent firmy Eisai Co. Ltd podaje sposób przechowywania ostryg i krewetek w warunkach chłodniczych po uprzednim traktowaniu ich wodnym roztworem lizozymu i chlorku sodu. Przedstawiono również sposoby konserwacji lizozymem typowych wschodnich potraw, takich jak: kimchi, sushi, sałatka japońska i kluski chińskie oraz kremów mleczno-jajecznych (17,18,19). Lizozym może być efektywnym utrwalaczem żywności o wysokiej zawartości naturalnych cukrów, natomiast nie może być stosowany do produktów sztucznie słodzonych (20).

Okazało się również, że lizozym jest bardzo silnym inhibitorem bakterii *hiochia* w sake (20% alkoholu, pH 4,0-4,5). Minimalne stężenie lizozymu konieczne dla inhibicji bakterii *Lactobacillus heterohiochi* wynosiło 10 µg/ml, *Lactobacillus homohiochi* — 20 µg/ml, *Lactobacillus fermenti* — 1,25 µg/ml, natomiast dla *Lactobacillus acidophilus* wynosiło powyżej 100 µg/ml. Aktywność enzymatyczna lizozymu w alkoholu nie ulegała znacznemu obniżeniu i po roku przechowywania w temperaturze pokojowej wynosiła 85% aktywności początkowej (20).

Opatentowano również produkcję mleka w proszku i odżywek z dodatkiem



lizozymu. Stwierdzono, że laktoferyna i lizozym z mleka kobiecego działają komplementarnie przeciw nieżyłowi żołądka i jelit oraz pomagają zapobiegać alergii. Po dodaniu enzymu do sproszkowanego mleka krowiego zauważono, że w jelitach niemowląt zwiększała się ilość bakterii *Bifidus bacillus*, które przyczyniają się do powstawania zdrowej flory ułatwiającej trawienie. Opracowano zatem sposób przygotowania pokarmów dla dzieci i niemowląt z dodatkiem lizozymu do produktów mlecznych w celu otrzymania wyrobów o właściwościach zbliżonych do mleka kobiecego (22,23,24,25).

Najbardziej intensywne badania dotyczące wykorzystania lizozymu prowadzone były dotąd w przemyśle serowarskim. Wykazano, że lizozym przyczyniał się do destabilizacji miceli kazeinowych poprzez obniżenie ich hydrofilności oraz potencjału elektrokinetycznego. Z kolejnych badań wynikało natomiast, że traktowanie białek mleka lizozymem zwiększało ich podatność na działanie enzymów trawiennych (26,27). Badając wrażliwość licznych mikroorganizmów na lizozym z mleka stwierdzono, że enzym odgrywa znaczącą rolę w antybakteryjnej aktywności mleka (9). Lizozym stosowano także przy produkcji sera edamskiego, wprowadzając go do układu bezpośrednio przed dodaniem podpuszczki. Pozytywny efekt mikrobiologiczny uzyskano przy użyciu lizozymu o aktywności 500 U/ml, co odpowiada w przybliżeniu dodatkowi białka jaja w ilości 0,6%. Czysty lizozym, jak i białko jaja kurzego, były równie efektywne. Badania organoleptyczne nie wykazały istotnych zmian w serze wyprodukowanym z dodatkiem lizozymu, jak również lizozym nie miał żadnego wpływu na proces produkcji sera. Dodając 0,2% białka jaja kurzego przy produkcji sera edamskiego z mleka zakażonego bakteriami fermentacji masłowej stwierdzono, że we wszystkich wyprodukowanych serach nastąpiło obniżenie zawartości kwasu masłowego oraz nastąpiła znaczna poprawa cech organoleptycznych (28,29). Jedną z niepożądanych bakterii fermentacji masłowej występującej przy produkcji serów typu gouda i edamski, jest *Clostridium tyrobutyricum*. Dla jej zniszczenia zastosowano lizozym z białka jaja kurzego o aktywności 500 U/ml, uzyskując pozytywny efekt po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 25°C.

Przeprowadzono szereg badań na przetworach mięsnych typu kiełbasy wołowe, salami i kiełbasy wiedeńskie (półsuchy produkt mięsny w naturalnych osłonkach baranich) stosując różne sposoby ich konserwacji z użyciem lizozymu (dodatek enzymu do przetworów, środek powlekający przetwory oraz składnik roztworów, w których moczone zarówno osłonki jak i gotowe wyroby). Stwierdzono, że kiełbasy wołowe najefektywniej były chronione przed zepsuciem, wówczas gdy do tradycyjnej mieszanki peklującej zawierającej chlorek i azotyn sodu dodano lizozym. Dla kiełbasek salami najlepszy efekt uzyskano powlekając przetwory roztworem lizozymu w oleju sałatkowym, a dla kiełbasy wiedeńskiej najskuteczniejsza była metoda dodawania do mięsa niewielkiej ilości enzymu oraz moczenia w buforze fosforanowym z dodatkiem lizozymu najpierw samych osłonek, a następnie gotowych wyrobów (30,31,32). Przeprowadzając podobne badania dla przetworów z ryb stwierdzono, że dla bardzo popularnego w Japonii wyrobu zwanego kamaboko (produkt otrzymany



z przemywanego wodą i ogrzewanego mięsa ryb) bardzo dobry efekt konserwujący uzyskuje się stosując w trakcie jej przygotowania 0,05% dodatek lizozymu (33).

#### 4. Wykorzystanie lizozymu w diagnostyce medycznej i farmakologii

Lizozym jest często nazywany „antybiotykiem endogennym” i jest dobrze znanym środkiem immunologicznym, wykorzystywanym w terapiach przy zakażeniach wirusowych i bakteryjnych, przy leczeniu leukemii, jako lek przeciwbólowy w chorobach nowotworowych, a także jako środek wspomagający antybiotyki. W Japonii wykorzystywany jest do produkcji powszechnie stosowanych leków przeciw zaziębieniu (4). Zawartość lizozymu w organizmach ludzi lub zwierząt może być wskaźnikiem występowania zmian patologicznych. Wykazano, że stężenie lizozymu w surowicy krwi zdrowego człowieka wynosi 7,75 mg/ml, podczas gdy u ludzi chorych (np. przy występowaniu żylaków, róży i egzemach) następuje znaczny jego wzrost w organizmie (34).

W wielu pracach wykazano, że po zainfekowaniu wymion krów bakteriami rodzaju *Staphylococcus aureus*, w ciągu pierwszych dziesięciu godzin gwałtownie wzrastało stężenie lizozymu w mleku osiągając maksimum po 34-48 godzinach. Zjawisko to wykorzystano do opracowania metody wykrywania w mleku patogennych bakterii rodzaju *Staphylococcus*, polegającej na pomiarze zawartości w nim lizozymu. Okazała się ona skuteczniejsza od powszechnie dotąd stosowanej metody, określającej stopień koagulacji mleka (35,36,37,38).

Stwierdzono, że bakterie *Staphylococcus* izolowane z ciała zwierząt posiadają zdolność wytwarzania lizozymu. Bakteryjny lizozym, podobnie jak pochodzący z białka jaja kurzego, rozbija wiązanie  $\beta(1-4)$  pomiędzy N-acetyloglukozoaminą a kwasem N-acetylmuraminowym w ścianie komórkowej bakterii i wykazuje maksymalną aktywność w tym samym zakresie pH i temperatury oraz jest także aktywowany przez dodatek chlorku sodu. W porównaniu do lizozymu z białka jaja kurzego, wykazującego w warunkach naturalnych stabilność do temperatury 81°C, inaktywacja lizozymu bakteryjnego następuje już w temperaturze 56°C (37,38).

Lizozym wykorzystywany jest również jako środek diagnostyczny w ostrych i chronicznych stanach zapalnych dróg moczowych. Oznaczanie zawartości lizozymu w płynie rdzeniowo-mózgowym lub surowicy krwi stosowane jest w celu rozpoznania wirusowego lub bakteryjnego zapalenia opon mózgowych. Ilość enzymu wyizolowana z kału ludzi dorosłych jest wskaźnikiem istniejących zmian chorobowych jelit. Wysoka jego zawartość u osób powyżej czterdziestego roku życia wskazuje na możliwość występowania nowotworu odbytu (39).

Przeprowadzone badania dotyczące stężenia lizozymu w ślinie wskazują, że jego podwyższona zawartość zawsze jest wskaźnikiem zmian chorobowych. Obserwując zawartość lizozymu w ślinie grupy dzieci przed i po zabiegu wy-



cięcia migdałków oraz w ślinie dzieci z grupy kontrolnej, która nie była poddana zabiegowi chirurgicznemu stwierdzono, że w grupie kontrolnej stężenie lizozymu w ślinie utrzymywało się na stałym poziomie, natomiast w grupie badanej następowało jego podwyższenie przed operacją, a po około miesiącu od momentu przeprowadzenia zabiegu powracało do normalnego poziomu. Wykazano również wyraźny wzrost aktywności lizozymu w ślinie w przypadku występowania próchnicy zębów (40,41). Ciekawe badania dotyczyły wpływu lizozymu na chroniczną paradentozę dziąseł. Grupie osób badanych podawano przez trzy tygodnie gumę do żucia z dodatkiem lizozymu, którą żuto trzykrotnie po pięć minut w ciągu dnia. Jednocześnie obserwowano grupę kontrolną, w której badani używali gumę bez dodatku enzymu. Stwierdzono pozytywny wpływ lizozymu zawartego w gumie do żucia objawiający się wyraźnym zmniejszeniem występowania krwawienia, opuchlizny, zaczerwienienia i ropienia dziąseł u osób z grupy badanej (42).

Przeprowadzone dotychczas badania wskazują, że lizozym jest aktywnym czynnikiem w systemie odpornościowym skóry człowieka. Gram skóry ludzkiej zawiera 60-120  $\mu\text{g}$  enzymu i jest to wielkość porównywalna do jego zawartości w ślinie. Aktywność lizozymu w naskórku jest trzykrotnie większa niż w skórze właściwej, a średnia zawartość lizozymu w jednym gramie homogenatu skórniego wynosi 47,1  $\mu\text{g}$ . Oznaczono również zawartość enzymu na powierzchni skóry poszczególnych części ciała. Podano, że stężenie lizozymu na powierzchni skóry przedramienia wynosiło  $4,03 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , a na powierzchni skóry czoła i dłoni stwierdzono odpowiednio dwukrotnie i siedmiokrotnie więcej enzymu. Natomiast stężenie lizozymu w miejscu występowania zmian chorobowych skóry gwałtownie wzrastało i w przypadku egzemy wynosiło  $22 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , w porównaniu z  $6,60 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{cm}^2$  dla skóry zdrowej (4,34,43).

Również w przypadku występowania patologicznych zmian w oku lizozym jest ich dobrym wskaźnikiem. Zmienia się wówczas aktywność i zawartość enzymu we łzach. Podano, że stężenie lizozymu we łzach zdrowych osób wynosiło średnio 4697  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , a dla osób chorych na zapalenie spojówek było znacznie niższe. Stężenie enzymu we łzach osób z syndromem Sjögrena wynosiło 1626  $\mu\text{g}/\text{ml}$  i było bardzo wyraźnie niższe niż u osób zdrowych (44). Badając bakteriobójcze substancje w ludzkich łzach, takich jak lizozym, immunoglobinę i  $\beta$ -lizynę wykazano, że lizozym, który wyizolowany był głównie z gruczołów łzowych, działał najskuteczniej przeciwko *Bacillus subtilis*. Stężenie lizozymu we łzach osób dorosłych (25-36 lat) wynosiło  $6,9 \pm 2,2 \text{ mg}/\text{ml}$ , dzieci (7-12 lat) —  $6,6 \pm 2,5 \text{ mg}/\text{ml}$  i obniżało się u osób starszych (55-70 lat) do  $6,3 \pm 0,9 \text{ mg}/\text{ml}$ . Częściowo wyjaśnia to większe skłonności ludzi starszych do występowania u nich zaburzeń wzroku (45).

Inną właściwością lizozymu jest wspomaganie działania antybiotyków przez enzym. Wykazano, że działanie naturalnej metycyliny na bakterie *Staphylococcus* było skuteczniejsze w obecności lizozymu, a szczepy bakterii czułych na ten antybiotyk wykazywały na niego jeszcze wyższą podatność. Uzyskano także współdziałający efekt lizozymu w połączeniu z niektórymi antybiotykami grupy penicyliny na bakterie *Staphylococcus aureus*. W przypadku stosowania



tylko samego lizozymu występowała niewielka liza komórek bakterii, ale w połączeniu z niewielką ilością antybiotyku liza wzrastała proporcjonalnie do ilości dawkowanego enzymu. Badania przy użyciu mikroskopu elektronowego wykazały w tym przypadku zwiększone rozpuszczanie błon komórkowych bakterii. Podobny efekt otrzymano poddając działaniu ampicyliny lub penicyliny z dodatkiem lizozymu komórki bakterii *Rhizobium japonicum*. Otrzymano wówczas wyraźny wzrost lizy komórek. Antybiotyki powodowały zmiany struktury ściany komórkowej bakterii ułatwiając w ten sposób działanie lizozymu na mukopeptyd. Wyniki tych badań wskazują na możliwość leczenia schorzeń dermatologicznych przy wykorzystaniu współdziałającego działania lizozymu znajdującego się w dużej ilości w powierzchniowej warstwie skóry (46,47).

Zaobserwowano, że niektóre antybiotyki inhibują lizozym. Zauważono, iż lityczne działanie lizozymu z białka jaja kurzego na bakterie *Micrococcus lysodeikticus* ograniczane jest przez liczne aminoglikozydowe antybiotyki, których struktura podobna jest do polisacharydowych substratów enzymu. Największe właściwości inhibujące wykazywała neomycyna, a następnie gentamycyna, kanamycyna i dwuhydrostreptomycyna. Obserwowano także obniżenie aktywności enzymatycznej lizozymu w ślinie podczas zażywania niektórych antybiotyków i sulfonamidów. W tym jednak przypadku aktywność ponownie wzrastała po przerwaniu zażywania leków i wygaśnięciu ogniska zapalnego (48,49,50).

## 5. Podsumowanie

Bakteriostatyczne działanie lizozymu na niektóre szczepy bakterii (przede wszystkim gramdodatnich) wykorzystane zostało w przemyśle spożywczym oraz w diagnostyce medycznej i farmakologii. Obecnie w największym zakresie enzym wykorzystywany jest w mleczarstwie, w szczególności przy produkcji serów. Lizozym hamuje wzrost bakterii fermentacji masłowej, a przede wszystkim *Clostridium tyrobutyricum*.

Najwięcej prac dotyczących wykorzystania właściwości ochronnych lizozymu przeprowadzono w Japonii. Opatentowano tam i wprowadzono do powszechnego użytku wiele metod ochrony żywności. Lizozym stosuje się m.in. jako środek utrwalający owoce, warzywa, ryby, ostrygi i krewetki. Dodatek enzymu do mleka w proszku i przy produkcji odżywek dla niemowląt korzystnie wpływa na rozwój pożądaney flory w układzie pokarmowym konsumenta. Okazał się też skutecznym środkiem konserwującym sake oraz mięso i jego przetwory.

Farmakologiczne wykorzystanie lizozymu dotyczy jego stosowania w infekcjach wirusowych i bakteryjnych. Zawartość enzymu w surowicy krwi ludzi i zwierząt jest wskaźnikiem występowania i stopnia zaawansowania zmian chorobowych. Wykazano również wzrost efektywności działania antybiotyków w przypadku stosowania ich wraz z jednoczesnym dodatkiem lizozymu.

Obecne wykorzystanie lizozymu do utrwalania żywności jest znaczne, lecz



jego przypuszczalne możliwości są dużo większe. Występujące ograniczenia dotyczą przede wszystkim wysokiej ceny enzymu. Z tego względu w szeregu krajach, a także w naszej Katedrze prowadzi się intensywne badania dotyczące zarówno wykorzystania lizozymu jak i wydajnych oraz ekonomicznych metod jego pozyskiwania.

## Literatura

1. Johnson E. A., (1994), *Egg Uses and Processing Technologies*, Eds. Sim J. S., Nakai S., CAB International, Wallingford, UK, 177.
2. Lehninger A., Nelson D. L., Cox M. M., (1993), *Principles of Biochemistry*, Worth Publisher Inc., New York, 312.
3. Cunningham F. E., Proctor V. A., Goetsch S. J., (1991), *World's Poultry Science Journal*, 47, 141.
4. Proctor V. A., Cunningham F. E., (1988), *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26(4), 359.
5. Salton M. R. J., Pavilik J. G., (1960), *Biochimica et Biophysica Acta*, 9, 398, 3.
6. Peterson R. G., Hartsell S. E., (1955), *Journal of Infectious Diseases*, 96, 75.
7. Vedmina E. A., Pasternak N. A., Shenderovich V. A., (1979), *Antibiotiki*, 124, 746.
8. Nakamura S., Kato A., Kobayashi K., (1991), *Journal Agric. Food Chemistry*, 39, 647.
9. Vakil J. R., Chandan R. C., Parry R. M., Shahani K., (1969), *Journal of Dairy Science*, 53, 1192.
10. Botazzi V., Battistotti B., Bossi F., (1978), 20<sup>th</sup> International Dairy Congress, Paris, 528.
11. Chassy B. M., Giuffida A., (1980), *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 153.
12. Teotia J. S., Miller B. F., (1975), *Poultry Science*, 54, 1388.
13. Alderton G., Chen J. K., Ito K. A., (1974), *Applied Microbiology*, 27, 613.
14. Kralovic R. C., (1973), *Abstracts of Annual Meeting of the American Society for Microbiology*, 73, 41.
15. Wooley R. E., Blue J. L., (1975), *Journal of Medical Microbiology*, 8, 189.
16. Pellergini A., Thomas U., Fellenberg R., Wild P., (1992), *Journal of Applied Bacteriology*, 72, 180.
17. Akashi A., (1972), *Journal of the Faculty of Agriculture*, 17, 67.
18. Eisai Co. Ltd, (1972), Patent japoński Nr 5710/72.
19. Yashitake S., Schinchiro A., (1977), *New Food Industry*, 19, 17.
20. Proctor V. A., Cunningham F. E., (1991), *Proceedings of the 4<sup>th</sup> European Symposium*, in: *The Quality of Eggs and Egg Products*, Doorwerth, Netherlands, 201.
21. Yajima M., Hidaka Y., Matsuoka Y., (1968), *Journal of Fermentation Technology*, 46, 782.
22. Carlsson B., Cruz J. R., Garcia B., Hanson L. A., (1979), *Nutrition and Metabolism of the Fetus and Infant.*, Ed. Visser H. K. A., Martinus Nijhoff, Hague, 263.
23. Francis D., (1980), *Infant Nutrition*, Eds. Birch G. G., Parker K. J., Applied Science Publishers., London, 465.
24. Nishihava K., Isoda K., (1967), *Acta Paediatrica Japonica*, 71, 95.
25. Dubois-Prevost R., (1970), *Alimentation et la Vie*, 58, 44.
26. Bakari M., Wolfe F. H., (1971), *Canadian Journal of Biochemistry*, 49, 882.
27. Panfil-Kuncewicz H., Kiszka J., (1978), *Zesz. Nauk. ART Olsztyn*, 12, 179.
28. Wasserfall F., Voss E., Prokopek D., (1976), *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 28, 3.
29. Koterska B., Poznański S., Lewicki Cz., (1972), *Przegląd Mleczarski*, 21.
30. Akashi A., (1969), *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 40, 243.
31. Akashi A., (1970), *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 41, 143.
32. Akashi A., (1971), *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 42, 289.



33. Akashi A., Oono A., (1972), Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 46, 177.
34. Kavanova K., Krs V., Konopik J., Chaloupecky V., (1977), Cesk. Dermatol., 52, 155.
35. Meyer F., Erhard G., Senft B., (1981), Zeuchtungskunde, 53, 17.
36. Hawiger J., (1968), Journal Bacteriol., 95, 376.
37. Jay J. M., (1966), Journal Bacteriol., 91, 1804.
38. Seilem S. A., Amin N., Amin M. M., El-Saifi A. A., Ismail M., (1981), Arch. Exp. Vet. Med. Leipzig, 35, 277.
39. Dick V. W., (1982), Fortsch. Med., 100, 1230.
40. Richter J., Slama K., (1983), Cesk. Otolaryngol., 32, 148.
41. Zajączkowska-Białowaś L., Kunicka D., (1982), Czas. Stomatologiczne, 35, 181.
42. Murai S., Ito K., Mano H., Katayama I., Watanabe K., Orikasa K., Takano M., (1977), Nihon Shishubyo Gakkai Kaishi, 19, 239.
43. Ogawa H., (1971), Japan Journal of Dermatol., 81, 61.
44. Ueda T., Sugita Y., Kitano S., (1979), Nippon Ganka Gakkai Zasshi, 83, 1509.
45. Harada M., (1979), Nippon Ganka Gakkai Zasshi, 83, 1501.
46. Rozgonyi F., Redai I., (1970), Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung., 17, 95.
47. Itakura E., (1978), Japan Journal of Dermatol., 88, 17.
48. Barach J. T., Adams D. M., (1973), Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., 73, 23.
49. Fernandez-Sousa J. M., Perez-Castells R., Rodriguez R., (1978), Biochim. Biophys. Acta, 52, 430.
50. Zajączkowska-Białowaś L., Białowaś J., Afeltowicz E., Kunicka D., (1981), Czas. Stomatologiczne, 34, 353.

## The application of lysozyme as a food preservative and a pharmaceutical

### Summary

The effect of lysozyme on some bacterial strains and its application as food preservative and a pharmaceutical was reviewed. Especially the cell walls of Gram—positive strains are enzyme sensitive. The Japanese have been the largest users of lysozyme in practical applications. They have patented processes using the enzyme as a preservative on fresh fruit and vegetables, seafood, meat and sake. Lysozyme was also used as a supplement to infant-feeding formulas to make them more closely resemble human milk. Cheese is the product on which most of the applications of lysozyme as a preservative has been done. Lysozyme protects semi-hard cheese such as Edam and Gouda, by inhibiting the growth of butric acid bacteria. The pharmaceutical use of lysozyme has included treatment of viral and bacterial infections. The level of serum lysozyme in humans and animals has been used as a marker of infections. The enzyme has been shown to increase the effectiveness of some antibiotics.

### Key words:

lysozyme, sensitive bacteria, food preservative, medical diagnostic indicator, antibiotic enhancement.

### Adres dla korespondencji:

Jacek Kijowski, Katedra Technologii Produktów Drobiarskich, Wydział Technologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań.