

GRZEGORZ LEŚNIEROWSKI, ROBERT BOROWIAK

## WPLYW WARUNKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA ZMIANĘ WŁAŚCIWOŚCI LIZOZYMU W BIAŁKU JAJA KURZYCH

### Streszczenie

Lizozym jest enzymem hydrolitycznym wykazującym zdolność rozkładu ściany komórkowej bakterii. Stanowi on mechanizm naturalnej pierwotnej ochrony dla rozwijającego się w jajku zarodka. Bogatym źródłem lizozymu jest białko jaja kurzego, z którego enzym otrzymywany jest na skalę przemysłową.

Celem pracy było określenie zmian występujących w lizozymie białka jaja kurzego w wyniku przetrzymywania całych jaj surowych lub wyizolowanego białka jaja w warunkach zbliżonych do inkubacji jaj podczas wylęgu piskląt, tj. w temperaturze ok. 40 °C przez 20 dób.

Wykazano, że przetrzymywanie jaj kurzych w takich warunkach powoduje zmiany jakościowe i ilościowe lizozymu w białku jaja. Efektem inkubacji enzymu była częściowa jego oligomeryzacja, w wyniku której tworzyła się forma dimeryczna. Zjawisku temu towarzyszyło obniżenie aktywności hydrolitycznej enzymu.

**Słowa kluczowe:** lizozym, oligomeryzacja, dimer, aktywność hydrolityczna

### Wprowadzenie

Lizozym (N-acetylo-muramylhydrolaza, E.C.3.2.1.17), zwany również muramidazą, jest niskocząsteczkowym enzymem ( $14,3 \cdot 10^3$  Da), którego łańcuch polipeptydowy tworzy 129 aminokwasów. Występuje prawie we wszystkich wydzielinach, płynach ustrojowych oraz tkankach organizmu człowieka i zwierząt. Został także wyizolowany z niektórych roślin, a nawet bakterii i bakteriofagów [14, 15]. Lizozym stanowi około 3,5 % udziału masowego wszystkich protein występujących w białku jaja kurzego, będąc jednocześnie jego bogatym i podstawowym źródłem [7, 19]. Jako składnik białka jaja ptaków stanowi naturalną barierę ochronną treści jaja przed drobnoustrojami. Jego antybakteryjne działanie polega na hydrolizie wiązań  $\beta(1-4)$  glikozydowych pomiędzy kwasem N-acetylmuraminowym a N-acetyloglukozaminą polisacharydu budującego ścianę komórkową bakterii [10].

Antybakteryjna aktywność lizozymu dotyczy głównie bakterii Gram-dodatnich, gdyż w tym przypadku łatwo dostępny dla lizozymu peptydoglikan – substrat enzymu – jest bezpośrednio narażony na jego działanie. Bakterie Gram-ujemne są zabezpieczone przed działaniem lizozymu dzięki obecności w ich ścianie komórkowej dodatkowych składników, takich jak: polipeptydy, lipoproteidy i lipopolisacharydy, które tworzą warstwę ochronną trudną do pokonania przez enzym [11, 14]. Wśród innych ważnych właściwości lizozymu wymienić można jego zdolność do inaktywacji wirusów przez wiązanie się z ich DNA i tworzenie nierozpuszczalnych kompleksów czy możliwość unieczynniania toksyn, a także inicjowanie formowania przeciwciał dzięki trawieniu pozostałości ścian komórkowych uszkodzonych bakterii [19].

Właściwości związane z antybakteryjnym działaniem lizozymu spowodowały znaczne zainteresowanie praktycznym jego wykorzystaniem. Obecnie enzym ten jest użytkowany w wielu branżach przemysłu żywnościowego m.in. jako środek utrwalający podczas przechowywania surowców i produktów spożywczych [12]. Wykorzystywany jest również w diagnostyce medycznej, farmakologii i weterynarii. Znalazł zastosowanie w terapiach zakażeń wirusowych i bakteryjnych, w leczeniu takich schorzeń, jak: choroby skórne, oczu, jamy ustnej, leukemia i choroby nowotworowe. Ponadto jest środkiem wspomagającym działanie antybiotyków [6, 11, 13]. Wiele badań wskazuje, że w określonych warunkach lizozym może wykazywać znacznie więcej cennych właściwości, które zwiększają zakres jego antybakteryjnego działania. Nowe właściwości lizozymu ujawniają się w wyniku jego modyfikacji, które prowadzą do zmiany formy występowania enzymu z monomeru w dimer i wyższe oligomery [11, 12]. W specyficznych warunkach, np. podczas wylęgu piskląt, takie zmiany prawdopodobnie zachodzą także w natywnym białku w jego naturalnym środowisku, tj. w jajach w skorupkach [5, 17].

Wykazano, że zmieniony lizozym w swej nowej postaci traci część hydrolitycznej aktywności, a mimo to wykazuje jeszcze wyższą aktywność antybakteryjną wobec bakterii Gram-dodatnich, a dodatkowo rozszerza swoje działanie na bakterie Gram-ujemne, w tym liczne chorobotwórcze bakterie patogenne. Wykazano, że w wyniku dimeryzacji pojawia się nowa aktywność kompensująca utratę aktywności hydrolitycznej i rozszerzająca spektrum przeciwdrobnoustrojowego działania enzymu [4, 8, 12]. Ta nowa aktywność lizozymu jest efektem jego dimeryzacji i związana jest z odsłonięciem obszaru hydrofobowego przez wyeksponowanie reszt tryptofanowych z wnętrza cząsteczki na zewnątrz, co skutkuje m.in. większą zdolnością przenikania enzymu przez membranę, a w konsekwencji wyższą jego skutecznością działania wobec bakterii Gram-ujemnych.

Celem uzyskania nowej – „specyficznej” aktywności lizozymu obecnie prowadzi się prace badawcze dotyczące sposobów jego modyfikacji [1, 3, 12]. Wynika z nich, że niezależnie od zastosowanego sposobu modyfikacji lizozymu, otrzymane po modyfi-

kacji preparaty charakteryzują się zwiększoną biologiczną aktywnością przeciwdrobnoustrojową oraz zwiększonym spektrum antybakteryjnego działania. Stwarza to możliwości zdecydowanie lepszego wykorzystania enzymu w przemyśle spożywczym, szczególnie jako konserwanta żywności.

Wszystkie dotychczasowe badania nad modyfikacją lizozymu dotyczyły wyizolowanego z białka jaja enzymu. Interesujące wydaje się zbadanie, czy enzym można zmodyfikować także w jego naturalnym środowisku, tj. w białku jaja.

Celem niniejszej pracy była próba modyfikacji lizozymu i ocena podstawowych właściwości otrzymanego preparatu białkowego.

### **Material i metody badań**

Surowcem do badań były świeże jaja kurze zakupione w sieci handlowej. Przygotowano dwa warianty surowca badawczego. Pierwszy wariant (A) stanowiły jaja w skorupach, a drugi (B) – białko jaja po rozdzieleniu treści jaja. Zarówno jaja w skorupach, jak i oddzielone białko jaja umieszczano w pojemnikach i szczelnie zamykano. Następnie pojemniki umieszczano w cieplarni i prowadzono inkubację w ściśle kontrolowanej temperaturze  $40 \pm 0,5$  °C przez 20 dni. Próby do badań pobierano co 48 h, w których białko suszono liofilizacyjnie z wykorzystaniem liofilizatora GT3 firmy LEYBOLD HERAEUS. W odstępach 48-godzinnych prowadzono ocenę zmian formy występowania lizozymu w badanych próbach, jego aktywności hydrolitycznej oraz pH podczas 20-dobowej inkubacji jaj w skorupach (wariant A doświadczenia) oraz białka jaja (wariant B) w temp. 40 °C. Jako próbę kontrolną zastosowano monomer lizozymu belgijskiej firmy Belovo.

*Analiza elektroforetyczna.* Elektroforezę wykonywano za pomocą aparatu SE-600 firmy Hoefer Scientific Instruments (USA) według metody Laemmli [9] i Leśnierowskiego [11].

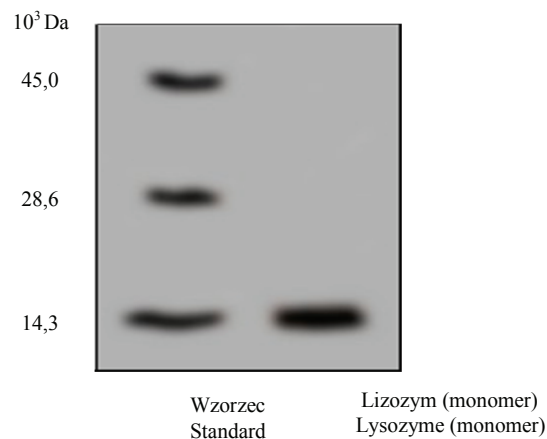
*Analiza densytometryczna.* Określenie ilościowego udziału poszczególnych form polimerycznych lizozymu w badanych preparatach prowadzono densytometrycznie z wykorzystaniem programu komputerowego TotalLab TL 100 firmy Nonlinear Dynamics Ltd, USA.

*Aktywność hydrolityczną* lizozymu oznaczano metodą spektrofotometryczną [11] na podstawie pomiaru zmniejszenia zmętnienia zawiesiny bakteryjnej *Micrococcus lysodeikticus* pod wpływem dodanego enzymu. Oznaczenie prowadzono przy użyciu spektrofotometru Stv VSU-28 firmy Carl Zeiss Jena.

*Analiza statystyczna.* Wszystkie oznaczenia wykonano w pięciu powtórzeniach. Wyniki badań poddano analizie statystycznej, wykorzystując pakiet Statistica Pl v.8.0. Wykonano podstawowe obliczenia statystyczne, wyznaczając m.in. wartość średnią, minimum i maksimum, odchylenie standardowe, błąd standardowy i przedział ufności.

### Wyniki badań i dyskusja

Analiza otrzymanych w wyniku elektroforezy frakcji wykazała, że w badanym zakresie mas cząsteczkowych, tj.  $(14 - 28) \cdot 10^3$  Da, w białku jaja (próba kontrolna) występowały dwa pasma: pierwsze odpowiadające monomerowi lizozymu ( $14,3 \cdot 10^3$  Da) oraz drugie odpowiadające owomukoidowi, którego masa cząsteczkowa jest zbliżona do m.cz. dimeru lizozymu ( $28 \cdot 10^3$  Da) (rys. 1).



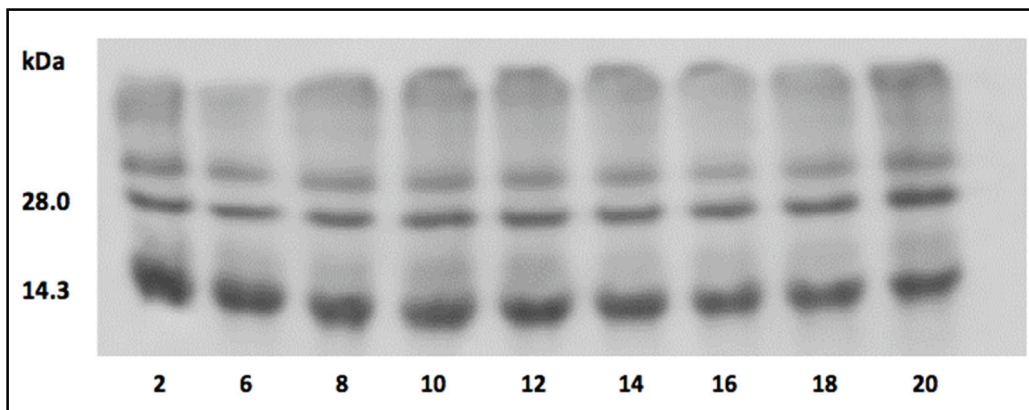
Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny frakcji białka jaja (próba kontrolna).

Fig. 1. Electrophoretic separation of protein fractions in egg (control sample).

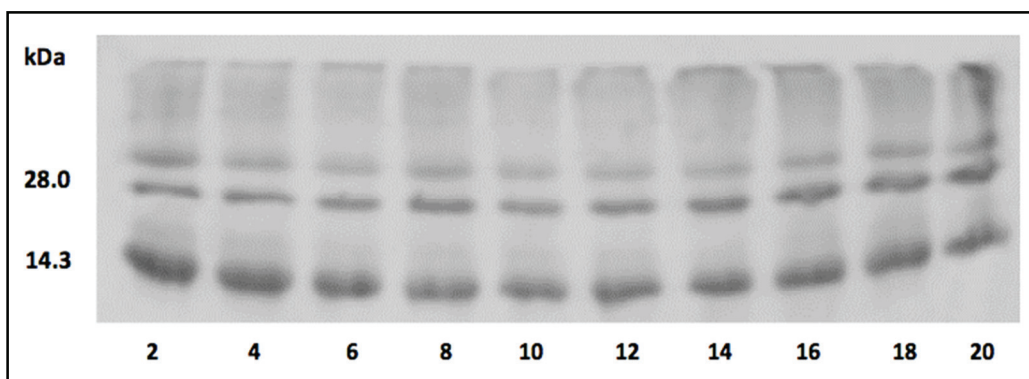
Zakładając stałą zawartość owomukoidu w białku, wykazywane podczas dalszych badań zwiększanie się udziału frakcji o masie cząsteczkowej  $28 \cdot 10^3$  Da uznawano za przyrost ilości tworzącego się dimeru lizozymu, a zmniejszanie się frakcji o masie cząsteczkowej  $14 \cdot 10^3$  Da jako ubytek monomeru.

Zmiany zachodzące podczas 20-dobowej inkubacji przedstawiono na rys. 2. i 3. Przedstawiono na nich rozdziały elektroforetyczne frakcji białkowych kolejnych prób pobieranych co 48 h.

Na podstawie analizy densytometrycznej rozdziałów elektroforetycznych stwierdzono, że w obu wariantach doświadczenia następował stały przyrost frakcji dimerycznej z jednoczesnym zmniejszaniem się udziału monomeru po każdej 48-godzinnej inkubacji (tab. 1). Zmiany udziału dimeru w badanych próbach przedstawiono na rys. 4. i 5.



Rys. 2. Rozdział elektroforetyczny frakcji białkowych w białku inkubowanym w jajach w skorupach (wariant Fig. 2. Electrophoretic separation of protein fractions in egg white incubated in egg shells (variant A).



Rys. 3. Rozdział elektroforetyczny frakcji białkowych w białku jaja inkubowanym po wybicciu i rozdzielaniu treści jaja (wariant B)

Fig. 3. Electrophoretic separation of protein fractions in egg whites incubated after breaking egg and separating yolk (variant B)

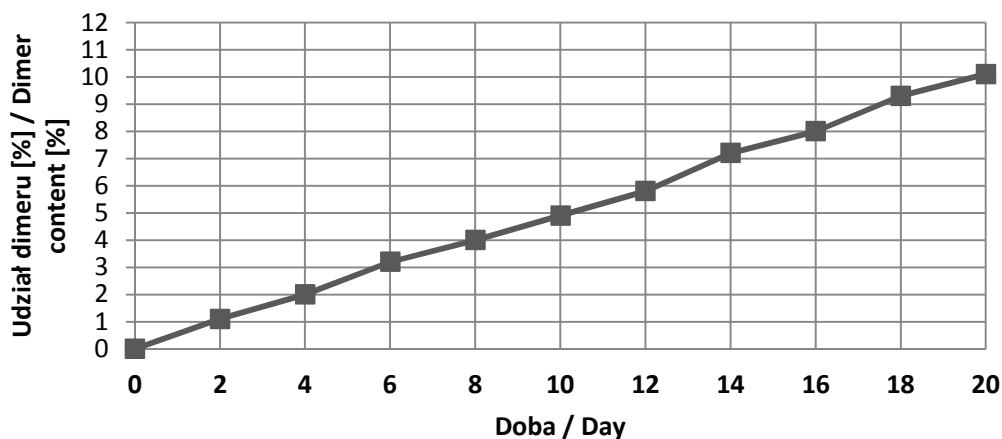
Analiza wyników wykazała, że zwiększenie udziału formy dimerycznej lizozymu było wprost proporcjonalne do ubytku monomeru w białku. Postęp tych zmian zależał od czasu inkubowania próby i wariantu doświadczenia. Największe przyrosty dimeru zaobserwowano w początkowym okresie inkubacji białka bez skorupy (2,5 %/48 h) (rys. 6). Po 20 dobach w białku inkubowanym w jajach w skorupach oznaczono udział formy dimerycznej na poziomie 10 %, natomiast w białku inkubowanym bez skorup – 12 %. Końcowa zawartość dimeru lizozymu oraz szybkość jego tworzenia była większa w białku inkubowanym bez skorup niż w białku w całym jajku ze skorupą. Taki

Tabela 1

Średnie wartości udziału monomeru, dimeru oraz aktywności hydrolitycznej i pH w próbach inkubowanego białka jaja; w układzie doświadczenia: wariant A i B; n = 5.

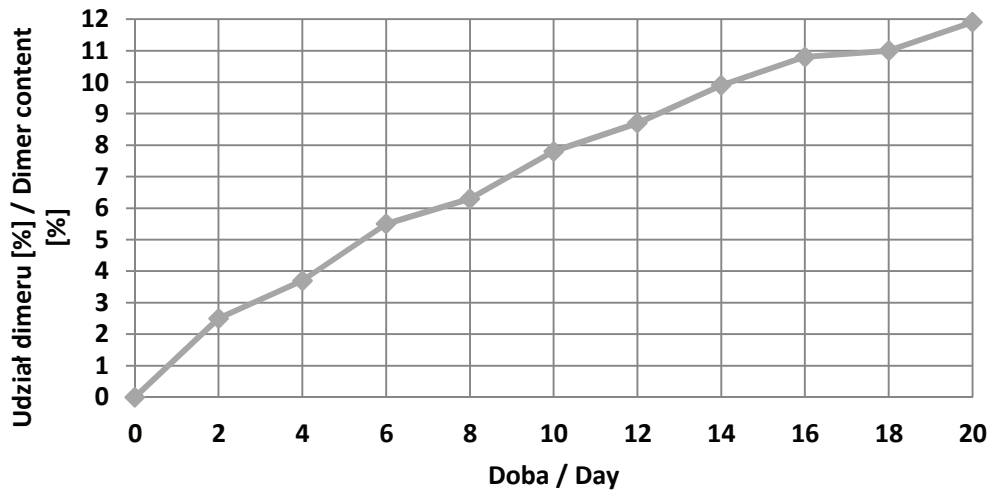
Mean values of contents of lysozyme monomer and dimer in, hydrolytic activity and pH of samples of incubated egg white; experiment plan: variants A and B; n = 5.

Doba Day	Udział monomeru lizozymu [%] Content of lysozyme monomer [%]		Szacowany udział dimeru lizozymu [%] Estimated content of lysozyme dimer [%]		pH białka pH of egg white		Aktywność hydrolityczna lizozymu [U/mg] Hydrolytic activity of lysozyme [U/mg]	
	wariant A	wariant B	wariant A	wariant B	w. A	w. B	wariant A	wariant B
0	100,0 ± 0,1	100,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	9,3	9,3	733 ± 6	733 ± 6
2	98,9 ± 0,2	97,5 ± 0,1	1,1 ± 0,2	2,5 ± 0,1	9,2	9,3	710 ± 4	689 ± 4
4	97,9 ± 0,2	96,3 ± 0,2	2,1 ± 0,2	3,7 ± 0,2	9,2	9,3	690 ± 5	677 ± 4
6	96,8 ± 0,2	94,5 ± 0,2	3,2 ± 0,2	5,5 ± 0,2	9,1	9,3	662 ± 5	642 ± 6
8	96,0 ± 0,2	93,7 ± 0,1	4,0 ± 0,2	6,3 ± 0,2	8,9	9,2	634 ± 5	613 ± 4
10	95,1 ± 0,2	92,2 ± 0,1	4,9 ± 0,2	7,8 ± 0,1	8,8	9,2	605 ± 5	579 ± 4
12	94,2 ± 0,2	91,3 ± 0,2	5,8 ± 0,2	8,7 ± 0,2	8,7	9,2	557 ± 6	537 ± 5
14	92,8 ± 0,2	90,1 ± 0,1	7,2 ± 0,2	9,9 ± 0,1	8,6	9,0	524 ± 4	489 ± 6
16	92,0 ± 0,2	89,2 ± 0,1	8,0 ± 0,2	10,8 ± 0,1	8,5	9,0	502 ± 5	445 ± 4
18	90,7 ± 0,2	89,0 ± 0,1	9,3 ± 0,2	11,0 ± 0,1	8,5	8,9	482 ± 4	405 ± 5
20	89,9 ± 0,2	88,1 ± 0,1	10,1 ± 0,2	11,9 ± 0,1	8,4	8,8	467 ± 5	383 ± 5



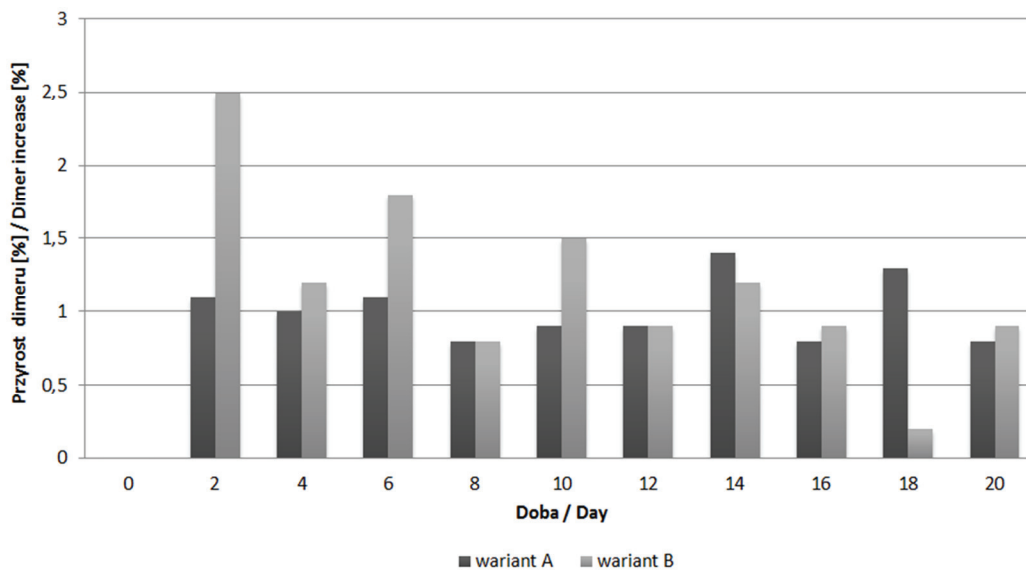
Rys. 4. Zmiany zawartości dimeru lizozymu w białku inkubowanym w jajach w skorupkach (wariant A).

Fig. 4. Changes in content of lysozyme dimer in egg white incubated in egg shells (variant A).



Rys. 5. Zmiany zawartości dimeru lizozymu w białku inkubowanym bez skorup (wariant B).

Fig. 5. Changes in content of lysozyme dimer in egg white incubated without egg shells (variant B).



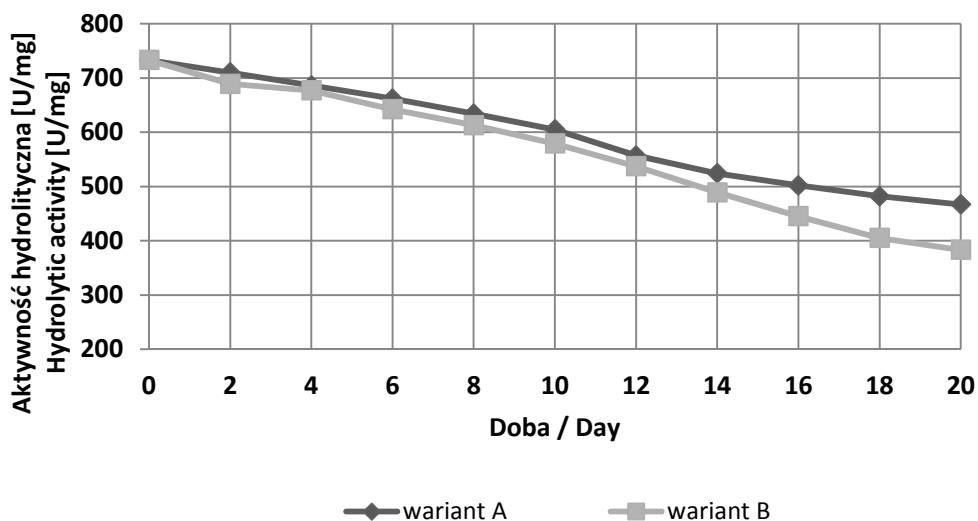
Rys. 6. Przyrosty dimeru lizozymu w czasie inkubacji białka.

Fig. 6. Increase in lysozyme dimer during incubation of egg white.

sposób tworzenia się dimeru związany był zapewne ze zmianami pH w przechowywanym białku. Dotychczasowe prace dotyczące modyfikacji lizozymu wykazały bowiem, że intensywność powstawania dimeru wzrastała wraz ze wzrostem pH środowiska

i największa była w pobliżu punktu izoelektrycznego enzymu [11, 12]. Najwyższe pH białka (9,3) zmierzono w surowcu przed inkubacją (tab. 1). Takie środowisko najbardziej sprzyjało tworzeniu się dimeru lizozymu. W miarę przechowywania surowca pH białka jaja obniżało się i proces ten był szybszy w jajach w skorupkach. Obniżanie się pH białka spowalniało oligomeryzację enzymu. W jajach w skorupkach ilość powstającego dimeru była mniejsza niż w białku oddzielnym od reszty jaja, gdyż w tym ostatnim pH środowiska osiągnęło wyższą wartość. Obserwowane podczas doświadczenia występowanie zjawiska obniżania się pH białka podczas jego przechowywania, odwrotnie niż jest to podczas naturalnego starzenia się jaj, związane było ze sposobem przetrzymywania surowca podczas jego inkubacji. Zgodnie z metodyką badań, w celu uniemożliwienia odparowania wody jaja w skorupkach i białko jaja umieszczano w szczelnie zamkniętych pojemnikach. W pojemnikach tych wraz z wydłużaniem czasu trwania inkubacji tworzyła się specyficzna atmosfera wzbogacona w uwalniany się z jaj dwutlenek węgla ( $\text{CO}_2$ ), która nie tylko zahamowała wzrost pH białka, a wręcz przeciwnie – spowodowała jego obniżenie. Jak podaje Płotka [16], zjawisko takie zachodzi wtedy, gdy jaja o zaawansowanych zmianach przechowalniczych umieści się w atmosferze wzbogaconej w  $\text{CO}_2$ . Wówczas pH białka może obniżyć się nawet do poziomu ok. 8,0. Taka właśnie sytuacja zaistniała w przypadku badanych próbek, przy czym w całych jajach w skorupkach ilość wydzielonego dwutlenku węgla była większa, stąd pH białka obniżało się szybciej i do niższej wartości.

Wraz ze zmianami formy występowania lizozymu w badanych próbach obserwowano także zmiany aktywności hydrolitycznej enzymu (rys. 7).



Rys. 7. Zmiany aktywności hydrolitycznej lizozymu w czasie inkubacji próbek.

Fig. 7. Changes in hydrolytic activity of lysozyme during incubation of analysed samples.



W czasie inkubacji białka jaja następowało obniżenie aktywności hydrolitycznej lizozymu. Poszczególne powtórzenia nie różniły się przy tym istotnie między sobą. W obu wariantach doświadczenia obniżenie to było znaczne. W chwili zakończenia inkubacji, tj. po 20 dobach, aktywność hydrolityczna lizozymu stanowiła ok. 64 % jej wartości początkowej (467 U/mg) w przypadku białka inkubowanego w skorupkach i tylko 52 % (383 U/mg) w przypadku białka inkubowanego bez skorupki. Obniżenie aktywności hydrolitycznej było niewątpliwie następstwem zachodzących procesów starzenia się jaja oraz tworzenia się formy dimerycznej enzymu. Liczne badania wykazały, że lizozym, mimo wysokiej stabilności w swoim naturalnym środowisku, stosunkowo łatwo traci aktywność podczas przechowywania jaj [12, 18, 19]. Natomiast badania dotyczące modyfikacji lizozymu jednoznacznie dowodzą, że po modyfikacji enzym traci część swej aktywności hydrolitycznej, ale jednocześnie w wyniku oligomeryzacji wykazuje nową aktywność rozszerzającą znacznie spektrum antybakteryjnego działania [2]. Z innych badań dotyczących modyfikacji lizozymu [3, 11, 15] wynika, że enzym w postaci dimerycznej wykazuje znacznie szerszy zakres antybakteryjnego działania, obejmujący także bakterie Gram-ujemne i szczepy dotychczas odporne na działanie monomeru.

### Podsumowanie

W pracy wykazano, że w określonych warunkach lizozym znajdujący się w natywnym białku jaja kurzego wykazuje zdolność do asocjacji i tworzenia dimeru. Otrzymane wyniki są zbieżne z rezultatami badań Jolles i Jolles [5], którzy wykazali możliwość tworzenia się w specyficznych warunkach nieodwracalnego dimeru lizozymu w białku jaja kurzego. W pracy udowodniono, że inkubując jaja w skorupkach bądź samo białko jaja w temperaturze podwyższonej do 40 °C można doprowadzić do oligomeryzacji lizozymu. Wykazano, że w taki sposób można otrzymać preparat białka jaja wzbogacony o 10 - 12 % niezwykle cennego dimeru lizozymu. Przedstawiona w niniejszej pracy prosta metoda modyfikacji składu białkowego białka jaja wskazuje nowe kierunki modyfikacji lizozymu umożliwiające uzyskanie wartościowego preparatu białkowego, który może znaleźć zastosowanie jako dodatek do żywności, nie tylko zwiększający jej wartość odżywczą, ale także naturalnie ją konserwujący.

### Literatura

- [1] Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.: Antibacterial activity of lysozyme modified by membrane technique. *EJPAU, Food Sci. Technol.*, 2003, **6** (2), 1-6.
- [2] Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.: Properties and application of egg white lysozyme and its modified preparations - a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58** (1), 5-10.
- [3] Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.: Antibacterial activity of hen egg white lysozyme modified by thermochemical technique. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **228**, 841-845.

- [4] Ibrahim H.R., Higashiguchi S., Juneja L.R., Kim M., Yamamoto T., Sugimoto Y., Aoki T.: Partially unfolded lysozyme at neutral pH agglutinates and kills Gram-negative and Gram-positive bacteria through membrane damage mechanism. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 3799-3806.
- [5] Jolles P., Jolles J.: What is new in lysozyme research? *Moll. Cell. Biochem.* 1984, **63**, 165-188.
- [6] Kijowski J., Leśniewski G.: Wykorzystanie lizozymu do utrwalania żywności w diagnostyce medycznej i farmakologii. *Biotechnologia*, 1995, **2 (29)** 130-140.
- [7] Kijowski J., Leśniewski G.: Lizozym z białka jaja naturalnym konserwantem żywności. *Mat. XXXI Sesji Nauk. KTiChŻ PAN. Poznań 2000*, ss. 47-56.
- [8] Kijowski J., Leśniewski G., Fabisz-Kijowska A.: Lysozyme polymer formation and functionality of residuals after lysozyme extraction. In: *Egg nutrition and biotechnology*. Eds. CAB International, 2000, pp. 269-285.
- [9] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, **227 (5259)**, 680-685.
- [10] Lehninger A.: *Principles of biochemistry*. Worth Publisher Inc., New York 1993, pp. 312-320.
- [11] Leśniewski G.: *Fizykochemiczne metody modyfikacji i pomiaru aktywności lizozymu*. Wyd. AR, Poznań 2007, ss. 5-15.
- [12] Leśniewski G.: Nowe sposoby fizykochemicznej modyfikacji lizozymu. *Nauka Przym. Technol.* 2009, **3**, 4, #130.
- [13] Leśniewski G., Kijowski J.: Metody badania aktywności enzymatycznej oraz oznaczanie ilościowe lizozymu z białka jaja kurzego. *Przem. Spoż.*, 1995, **12**, 476-479.
- [14] Leśniewski G., Kijowski J.: Lysozyme. In: *Bioactive egg compounds*. Eds. R. Huopalahti, R. Lopez-Fernando, M. Amton, R. Schade. Springer, Berlin 2007, pp. 33-42.
- [15] Leśniewski G., Kijowski J., Cegielska-Radziejewska R.: Ultrafiltration-modified chicken egg white lysozyme and its antibacterial action. *Int J. Food Sci. Technol.*, 2009, **44**, 305-311.
- [16] Płotka A.: *Przechowalnictwo jaj*. W: *Technologia jaj*. Red. A.Płotka. WNT, Warszawa 1970, ss. 129-152.
- [17] Sophianopoulos A.J.: Association sites of lysozyme in solution. *J. Biol. Chem.*, 1969, **244**, 3188-3193.
- [18] Świerczewska, E., Niemiec, J., Stepińska M., Riedel J., Grzybowska, A. Kakowska, R.: Lysozyme activity in egg white as influenced by storage time and temperature and by management system of laying hens. *Proc. VII Europ. Symp. Quality of Eggs and Egg Products, WPSA, 21-26 IX, Poznań 1997*, pp. 158-161
- [19] Trziszka T.: Budowa i skład chemiczny jaja. W: *Jajczarstwo – nauka, technologia, praktyka*. Red. T. Trziszka. Wyd. AR we Wrocławiu, Wrocław 2000, ss. 147-183.

#### EFFECT OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS ON CHANGE IN PROPERTIES OF LYSOZYME IN HEN EGG WHITE

##### S u m m a r y

Lysozyme is a hydrolytic enzyme having the capacity to decompose bacterial cell walls. It constitutes a mechanism of natural, primary protection for the embryo developing in the egg. The egg white is a rich source of lysozyme used to produce the enzyme on an industrial scale.

The objective of this study was to determine the changes in the lysozyme of a native egg white resulting from storing either the raw whole eggs or the separated egg whites under the conditions similar to those of the egg incubation during hatching i.e. approximately at 40 °C for 20 days.

It was proved that when chicken eggs were kept under the above conditions, qualitative and quantitative changes in the lysozyme present in the egg white occurred. The incubation of enzyme caused its partial oligomerisation, which resulted in the formation of a dimeric form. This phenomenon was accompanied by a decrease in the hydrolytic activity of the enzyme.

**Key words:** lysozyme, oligomerization, dimer, hydrolytic activity 