

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



A TOJÁSMINŐSÉG FONTOS FESTÉKANYAGAI

Kerti Annamária, Szabó Csaba, Gregosits Balázs, Jung Ivett, Bárdos László

Szent István Egyetem, Állattudományi Alapok Intézet, Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszék
2103 Gödöllő, Páter Károly u. 1.
Kerti.Annamaria@mkk.szie.hu

Összefoglalás

A tojás a fajfenntartáson túl táplálkozásunkban alacsony kalóriatartalmú, könnyen emészthető tápanyagként fontos szerephez jut. Teljes értékű fehérjetartalmán kívül számos vitamin és ásványi anyag természetes forrása. A fogyasztók elvárásai mégis eltérőek a tojás színével kapcsolatban. A tojás héjának színe fajtafüggő tulajdonság, nem mutat összefüggést a tojás egyéb beltartalmi értékeivel és a sárgája színével. A tojássárgája színének meghatározó tényezői a karotinoid festékanyagok, amelyek tojásba épülő mennyisége a tojótyúk takarmányával dóziszfüggő mértékben befolyásolható. A vizuális hatást (intenzív sárga szín) biztosító xantofilok (oxikarotinoidok) mellett a karotinoidok provitamin aktivitással, antioxidáns, citoprotektív és immunmoduláns tulajdonsággal rendelkeznek. A tojássárgája színének minősítésére, az összkarotinoid-tartalom meghatározására többféle analitikai módszer is rendelkezésünkre áll: a szubjektív *Yolk Colour Fan*, az objektív színminősítést lehetővé tevő *CIELAB* módszert alkalmazó kézi spektrométer, illetve a sárgája zsírolószeres kivonatának fotometrálnak. A karotinoid spektrum HPLC módszerrel történő meghatározása a beltartalmi értékekre is utal. A karotinoidok hatása bizonyított az embrionális fejlődésben. Azonban természetes karotinoid források (lutein, likopin, β -karotin) hatása a kelést követő 72 órában az inkubáció alatt megmaradó karotinoidokban gazdag saját szikanyag jelenléte miatt nem érvényesül. Felnőtt madarakban egyszeri karotinoid dózis (20 ppm) a vérplazmabeli szint megemelkedését eredményezi. Tartós karotinoid kiegészítés (minimum 2 hét) hatása a tojássárgája színeződésében és az egyéb vitaminraktározó szervek karotinoid-tartalmában is megmutatkozik, a provitamin karotinoidok a tojások keltethetőségét javítják. A tojás karotinoid-tartalma okszerű takarmányozás esetén a növényektől eltérően nem mutat évszakos ingadozást, így az év bármely szakaszában kiváló vivőanyag nagymértékű és hely-specifikus karotinoid szervezetbe juttatása számára. A tojótyúk takarmányának célzott összeállításával kedvező egészségügyi és táplálkozási előnyökkel rendelkező tojások előállítása lehetséges.

Kulcsszavak: tojás, tojássárgája, karotinoid, YCF, HPLC módszer

Important dyes of the egg quality

Abstract

The egg plays an important role in our nutrition as a whole food (low calorie, complete protein and easily digestible). Eggs are natural sources of different vitamins and minerals. The consumer demand is in terms of appearance of egg colour however different. The colour of eggshell is a bread type of layers and has no connection with the ingredients and colour of yolk. The latter is determined by carotenoid dyes, which amount can be modified. Along xanthophylls, which are responsible for visual effects, some carotenoids have provitamin A activity and display important biological activities. For the assessment of whole carotenoid content of yolk, there are several routine methods: the subjective *Yolk Colour Fan*, the objective method based on the *CIELab System* or the photometric lipid solvent extraction. The determination of spectra with HPLC refers to the supply with carotenoids and the nutrient content of eggs. The effects of carotenoids in embryonic development are well confirmed. In laying hens dietary supplements of single dose of different carotenoids (20 ppm) resulted in significant increase of concentrations of blood plasma. The effects of long term supplementations (2 weeks) appeared in egg yolk colour and in the deposition of carotenoids. These are also enhanced the hatchability of eggs. The carotenoid content of eggs is not a subject to seasonal variations in case of designed nutrition, therefore they are effective vehicle for increased carotenoid uptake. Through the manipulation of hens' diet it is possible to produce eggs that have added health and nutritional benefits.

Keywords: egg, yolk, carotenoid, YCF, HPLC



Irodalmi áttekintés

A tojás a madarak számára a fajfenntartásban, számunkra a táplálkozásunkban kap fontos szerepet. Teljes értékű fehérjéin kívül számos vitamin és ásványi anyag forrása, amelyek hozzájárulnak az egészségünk megőrzéséhez. A tojás biológiailag fontos összetevői (pl.: karotinoidok, lecitin) miatt a funkcionális élelmiszerek közé sorolható.

A fogyasztók elvárásai eltérőek a tojás színével kapcsolatban. Manapság az a legkedveltebb, ha a tojássárgája színe a Yolk Colour Fan skálán 11-12 értékű. Azonban a sárgája átlagos értéke 6-7 szokott lenni. A tojáshéj színe fajta/hibrid függő, és nem mutat összefüggést a tojás egyéb beltartalmi értékeivel, így a sárgája színével sem.

A különböző védőhatásokért felelős specifikus étrendi karotinoidoknak az egészség megőrzésében és a megbetegedésekben betöltött szerepe napjainkban egyre nagyobb figyelmet kap, számos vizsgálat folyik annak tisztázása érdekében, hogy a táplálék ezen összetevői milyen előnyöket jelentenek. Epidemiológiai tanulmányok azt mutatják, hogy a karotinoid tartalmú élelem (zöldség, gyümölcs, tojás) kellő mennyiségben történő fogyasztása számos rákos és kardiológiai jellegű megbetegedés kockázatának csökkenésével áll összefüggésben, az oxikarotinoidok a szem védelmében fontosak (AMD). A tojássárgája színének meghatározó tényezői a karotinoid festékanyagok, amelyek tojásba épülő mennyisége a tojótúkok takarmányával dóziszfüggő mértékben befolyásolható. A vizuális hatást (intenzív sárga szín) biztosító xantofillok (oxikarotinoidok) mellett egyes karotinoidok provitamin aktivitással, az izoprén vázuktól eredően antioxidáns, valamint citoprotektív és immunmoduláns tulajdonsággal rendelkeznek.

A karotinoidok a természetben széleskörűen elterjedt vegyületek, számos gyümölcs, virág, madár, rovar és tengeri állat sárga/narancs/piros/lila színéért felelősek; növényekben és egyes mikroorganizmusokban (baktérium, algák, gombák) szintetizálódnak. Az állatok nem képesek a karotinoidok de novo szintézisére, ezért a takarmányra, ezen anyagok forrására vannak utalva.

A természetes forrásokból több mint 600 karotinoidot izoláltak, kb. 60 található meg táplálékunkban és közülük kb. 20 mutatható ki a vér- és szövetmintákban (*During és Harrison, 2004*). A metabolizmus során a karotinoidok egyenletesen feloldódnak mind a transzport (lipoprotein) részecskéiben, mind a szöveti tárolásuk helyén, a lipoidokban. A baromfitermék előállításban ezt használják ki a színezékeknek az egész tojástermelési időszak alatt a takarmányba történő adagolásával. A természetes, növényekben előforduló festőanyagok közül kiemelkedő jelentőségű az α -, β -, γ -karotin és a likopin, az oxikarotinoidok közül a kriptoxantin, a lutein és a zeaxantin.



Williams és mtsai (1963) arról számoltak be, hogy a tojótyúkok által abszorbeált karotinoidok 48 órán belül a tojássárgájába szállítottak és a maximális színező hatást a 8-10. napon érték el.

Hatzipanagiotou és Hartfiel (1984) azt közölte, hogy a sárgája színét már 1 nap elteltével befolyásolta az etetett karotinoid, a stabil szín kialakulásához 4-5 napos kiegészítésre volt szükség, ugyanakkor további utánpótlás hiányában a felszívódott karotinoidok 10 nap múlva eltűntek a csirke szervezetéből.

A likopin, ami ugyan nem provitamin aktivitású karotinoid, a karotinoidok közül az egyik legnagyobb mértékű antioxidáns tulajdonsággal rendelkezik, színező hatása mellett a szervezetben jelentős szerepet játszik a káros hatások kivédésében (*Rao és Agarwal*, 1998). Egyéb, nem antioxidáns tulajdonságai és bizonyos statin hatása miatt világszerte terjedően funkcionális élelmiszer-kiegészítőnek tartják, biológiailag aktív anyaggal dúsítja a tojássárgáját.

A retinoidokkal összehasonlítva keveset tudunk a karotinoidok felszívódási és metabolikus folyamatairól az állati szervezetben, különösen madarakban hiányosak az ismereteink (*Gregosits és mtsai*, 2007). A kísérletek túlnyomó többségét provitamin hatásának köszönhetően kizárólag β -karotinnal végezték, ezért is szükségesek más, jelentős metabolikus funkciókkal rendelkező karotinoidokkal (lutein, zeaxantin, likopin) végzett vizsgálatok. Több, természetes karotinoidot tartalmazó anyag különböző adagokban történő takarmányba keverésével vizsgáltuk modell-, valamint nagyüzemi kísérletekben, vajon a madarakra jellemző karotinoid metabolizmus milyen jellegzetes változásokat mutat.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat japán fürjekben, felnőtt házityúkokban és napos csibékben végeztük a következő karotinoid készítményekkel:

- Provitaminhatás tanulmányozása: retinol molekuláris ekvivalens mennyiségben A-vitaminmentes tojótakarmányba kevert β -karotin (Rovimix BC 10% - DSM);
- Természetes eredetű, eltérő szerkezetű és polaritású karotinoidok hatásának vizsgálata: lutein (Capsantal EBS40NT -*Tagetes erecta* kivonata, ill. Lutein CWS/S-TG 5,6% - DSM) és likopin (paradicsom sűrítmény - Globusz Rt., ill. Redivivo likopin 5,2% - DSM).

Karotinoid analíziseket, ill. a tojássárgája színének minősítéséhez 1. vegyszert nem használó, azaz környezetkímélő, és 2. „klasszikus” vegyszert felhasználó módszereket alkalmaztunk.

1.1. Yolc Colour Fan színskálához történő viszonyítás (szemikvantitatív);



1.2. Elektronikus színmérő készülék (Micromatch™ Plus, Sheen Instruments Ltd.): a tojássárgája színe és karotinoid tartalma közötti összefüggés elemzésére. A mérés a CIELab elvének alkalmazásával kvantitatív eredményt ad;

2.1. Fotometrálassal (kvantitatív): a sárgája zsíroldószeres kivonatának extrahálása az összkarotinoid-tartalom meghatározása a tojásra legjellemzőbb oxikarotinoidra, a luteinra vonatkoztatott moláris abszorpciós koefficiens alapján számítva;

2.2. HPLC: karotinoidok (és retinoidok) szelektív elválasztása (Bonomi és mtsai, 1988; Kerti és Bárdos, 2006).

Eredmények és értékelés

Provitaminhatás tanulmányozása

Japán fürjekben a vérplazma, a máj és a petefészektüszők retinoid és karotinoid értékeinek dóziszfüggő mértékű növekedését tapasztaltuk 6 hetes kiegészítést követően. A retinoidok és a karotinoidok metabolizmusának különbözősége miatt a β -karotin túladagolása (5x, 10x, 50x, 100x), habár megtörtént a retinoidokká történő transzformáció, nem okozott A-hipervitaminózist (Kerti és Bárdos, 1999). A β -karotin kiegészítésben részesült japánfürj családoktól gyűjtött tojások termékenységi és keltethetőségi (életképesség, kelési %) paraméterei javultak. Az embrióhalandóság mértékének csökkenése következtében az inkubált tojásokból több, egészséges csibe kelt ki (Kerti és Bárdos, 1997). A tojóállatok takarmányának kiegészítése következtében az inkubáció teljes időtartama alatt szignifikáns mértékben növekedett a szikzacskó és a fejlődő embrionális máj retinoid és β -karotin tartalma. A nevelési időszak első hetében az anyai hatásnak tulajdoníthatóan ugyancsak jelentősebb szik és májbéli retinoid és β -karotin tartalékok álltak a kiegészítésben részesült csoportok csibéi rendelkezésére.

A tojássárgájába beépült karotinoidok az embrió májában és egyes szöveteiben is megjelennek, ahol provitamin, valamint antioxidáns funkciót töltenek be. A felnőtt állat takarmányába adagolt karotinoidok a sziken keresztül 76%-ban beépülnek a napos csibébe (Plack, 1963). Karadas és mtsai (2005) a tyúkok, illetve az utódok takarmányának karotinoiddal történő kiegészítésének hatékonyságát hasonlították össze a naposcsibék karotinoid státuszára vonatkozóan a kelést követő 4 hétben. A kiegészítésben részesült tyúkok tojásaiból fejlődő csibék májának karotinoid koncentrációja kezdetben 29x nagyobb volt, mint a kontroll csibékben, és kontroll takarmányon tartott állatokban a kelést követő 7. napig megőrizte kedvezőbb összetételét.



Az anyai hatás, amely az utódnemzedék életképessége szempontjából fontos, legalább a kelést követő első héten érvényesült. Az embrionális máj szik eredetű karotinoid tartalma jelentős potenciális készletként szolgálhat az egyedi élet kezdetekor az oxidatív stresszel szembeni védekezésben (Surai és mtsai, 1996).

Természetes eredetű karotinoidok hatásának vizsgálata

A vizsgálatokat megelőző karotinoid depléció eredményeképpen a tojások YCF és CIELab értékei (a*) gyorsan csökkentek, majd ezt követően a likopin kiegészítés hatására a tojássárgája színének intenzitása fokozatosan nőtt, ami alátámasztja, hogy a likopin eredményesen használható a sárgája színezésére.

Természetes eredetű karotinoidok felszívódásának napocsibékben a kikelést követő harmadik életnapig (0-72. óra) végzett vizsgálata esetében sem a szérumban, sem a máj karotinoidjai között nem sikerült likopint kimutatnunk. A detektált domináns karotinoidok oxikarotinoidok voltak, de nem tapasztaltunk az alkalmazott dózisnak megfelelő mértékű növekedést. A szikzacskóban kb. a kezelést követő 4-6 óráig a karotinoidok koncentrációja növekedett, a szikanyag koncentrációja, vagyis a szikból a vérbe, illetve a bélbe irányuló transzportfolyamatok következtében. A szikban a 24. órára már csökkenő, a májban és a szérumban a 48. óráig emelkedő lutein értékeket regisztráltunk. A későbbi mintavételek alkalmával a lutein tovább csökkent a szikban, míg a plazmában a 48. óráig emelkedett, majd a harmadik életnapra a 24 órás érték tartományába tért vissza.

A kelést követő 24 órában a karotinoid felszívódásban aktív szerepet játszó felső vékonybélszakasz az intenzív szik→jejunum→duodenum→gyomor irányú transzport eredményeképpen mintegy tamponálódott a karotinoidokban bővelkedő saját szikanyaggal, ami így nem tette lehetővé a p.os adagolt karotinoidok hatékony felszívódását. Feltételezhető, hogy ez a hatás legalább az élet első három napján érvényesül, amikor a szik a kezdeti tömegének az 1/5-re zsugorodik.

Abban az esetben, ha a likopin szuszpenziót (200µg likopin 500µl fiziológiás oldatban oldva) kelést követően közvetlenül a szikzacskóba injektáltuk a kezelést követően a vérből kimutatható volt, de 24, 48 és 72 óra múlva a koncentrációja tendenciózusan csökkent.

A kikelést követően a szikzacskóból az anyagok felszívódásának két útja lehetséges. Egyrészt a szikzacskóból a sziktömlőnyélen keresztül történik a tartalom bélcsatornába irányuló kiürülése addig, amíg nem kezdenek el limfatikus sejtek akumulálódni, amelyek a kikelést követő 72. órában elzárják a passzázs lehetőségét. A sziktartalom bélcsatornába történő transzportja etetéssel előidézett nagyobb bélcsatorna aktivitással fokozható (Noy és mtsai, 1996; Noy és Sklan, 1998). A maradék szik hasznosulására a szikzacskó membránján keresztül történő, közvetlenül a vérkeringésbe jutás ad lehetőséget (Thompson és Speake, 2002).



Tojótyúkokban a karotinoid kiegészítést követő 48 órában 6 óránként történő egyedi vérvételek alapján tapasztalható, hogy a karotinoid koncentráció szignifikánsan megemelkedik. Ez jellemző a színezék mind egyedi, mind keverékként történő adagolását követően. Az adott karotinoid koncentráció emelkedésének mértéke valószínűsíthetően összefüggésben van a molekulák eltérő szerkezetéből (polaritásából) következő portomikronba történő beépülés arányával (*Na és mtsai*, 2004). A vérplazma β -karotin és lutein értékei a vizsgálat 6-12. órájában maximális szintet elérve további utánpótlás hiányában a vizsgálat 48. órájáig fokozatosan visszatértek a kiindulási szintre, ezzel szemben a likopin esetében tapasztalt kisebb mértékű növekedés a vizsgált karotinoidok közül legkevésbé poláros molekula eltérő jellegű szállításának tulajdoníthatóan sokkal lassúbb kiürülését eredményezte (*During és Harrison*, 2004).

Egyéb fajokban közölt adatokhoz hasonlóan a többi vizsgált karotinoiddal azonos koncentrációban adagolt likopin esetében sokkal kisebb mértékű abszorpciót tapasztaltunk, ami feltételezi, hogy a likopinnek a többi karotinoidtól eltérő a transzportmechanizmusa. Abban az esetben, ha a karotinoidokat együttesen adagoltuk, kisebb dózis mindhárom karotinoid vonatkozásában nagyobb koncentráció-emelkedést eredményezett. Nagyobb dózis esetében valószínűsíthetően intraluminarisan jelentkező oldékonysági, valamint a felszívódási mechanizmusok telítődése következtében a mucosa sejtek kötőfehérjéiért folytatott kompetíció következhetett be.

Következtetések és javaslatok

A tojótyúkok takarmányozásához hasonlóan a humán plazmában detektálható karotinoidok többségének mennyisége a táplálék összetevőinek mérsékelt megváltoztatásával rövid időtartam alatt (<15 nap) növelhető, bár a plazma szinteket ebben az esetben is az alap (kiindulási) karotinoid koncentráció jelentősen befolyásolhatja (*Yeum és mtsai*, 1996).

A tojómadarak takarmányába kevert likopin felszívódik és bekerül a szervezet karotinoid metabolizmusába, a tojássárgájába deponálódva növeli annak színintenzitását. A telítődés két hét alatt bekövetkezik és mértéke dóziszfüggően alakul. Az optimális karotinoid ellátás a tojómadár szaporodásbiológiai teljesítményét fokozza, és a keltetésbiológiai eredményeket is javítja.

A tojások az étrendi karotinoidok könnyen emészthető forrásai. A tojássárgája ui. egy emészthető lipidekből álló mátrix, amelyben a karotinoidok további zsírban oldódó tápanyagokkal együtt diszpergálva találhatóak.



A tojások karotinoid-tartalma okszerű takarmányozás esetén a növényektől eltérően nem mutat évszakos ingadozást, ezáltal hatékony vivőanyag a biológiailag aktív molekulák akár hely-specifikus karotinoid szerkezetbe juttatására. A tojótyúkok takarmányának célzott összeállításával kedvező táplálkozás-élettani, akár egészségmegővő előnyökkel rendelkező, fokozott antioxidáns tartalmú tojások előállítása lehetséges.

Irodalomjegyzék

- Bonomi, A., Lucchelli, L., Anghinetti, A., Quarantelli, A., Bonomi, A. (1988): Determinazione di alcuni carotenoidi naturali e di sintesi nei mangimi delle uova mediante cromatografia in fase liquida ad alta risoluzione (HPLC) [in Italian]. *La Rivista della Società Italiana di Scienza dell' Alimentazione*, 17. 481-492.
- CIE (1976): Official recommendations of the International Commission on Illumination. CIE No.15 (E-1.3.1) Paris, France.
- During, A., Harrison, E.H. (2004): Intestinal absorption and metabolism of carotenoids: insights from cell culture. *Arch. Biochem. Biophys.*, 430. 77-88.
- Gregosits B., Kerti A., Bárdos L. (2007): A karotinoid kutatás nem szokványos kísérleti állatai. Irodalmi áttekintés. *Anim. Welf. Eth.*, 3. 2-15.
- Hatzipanagiotou, A., Hartfiel, W. (1984): Deposition of a carotenoid into the egg yolk from the body stores by providing ration with fresh or strong oxidated soya oil. *Eur Poult Sci.*, 48-155.
- Karadas, F., Pappas, A.C, Surai, P.F., Speake, B.K. (2005): Embryonic development within carotenoid-enriched eggs influences the post-hatch carotenoid status of the chicken. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 141. 244-251.
- Kerti A., Bárdos L. (1997): Különböző mértékű A-vitamin ekvivalens β -karotin kiegészítés hatása a japánfürg tojások keltethetőségére. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 46. 515-524.
- Kerti A., Bárdos L. (1999): Storage of retinoids and beta-carotene in the genital organs of japanese quail. *Acta Vet. Hung.*, 47. 95-101.
- Kerti A., Bárdos L. (2006): Retinoidok (retinol, retinil-palmitát), karotinoidok (lutein, zeaxantin, β -kriptoxantin, likopin, β -karotin) és E-vitamin szimultán analízise rpHPLC-vel. *Klin. Kísérl. Lab. Med.*, 32. 106.
- Na, J.C., Song, J.Y., Lee, B.D., Lee, S.J., Lee, C.Y., An, G.H. (2004): Effect of polarity on absorption and accumulation of carotenoids by laying hens. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 117, 305-315.



- Noy, Y., Uni, Z., Sklan, D. (1996): Routes of yolk utilisation in the newly-hatched chick. *Br. Poultry Sci.*, 37, 987-995.
- Noy, Y., Sklan, D. (1998): Yolk utilisation in the newly hatched poult. *Br. Poultry Sci.*, 39. 446-451.
- Plack, P. A. (1963): The amount of vitamin A aldehyde, ester and alcohol and of carotenoids in hen's eggs and in day-old chicks. *Br. J. Nutr.*, 17. 243-250.
- Rao, A.V., Agarwal, S. (1998): Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr. Cancer.*, 31. 199-203.
- Surai, P.F., Noble, R.C., Speake, B.K. (1996): Tissue-specific differences in antioxidant distribution and susceptibility to lipid peroxidation during development of the chick embryo. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1304. 1-10.
- Thompson, M.B., Speake, B.K. (2002): Energy and nutrient utilisation by embryonic reptiles. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 133. 529-538.
- Williams, W.P., Davies, R.E., Couch, J.R. (1963): The utilization of carotenoids by the hen and chick. *Poult. Sci.*, 24. 691-699.
- Yeum, K.J., Booth, S.L., Sadowski, J.A., Liu, C., Tang, G., Krinsky, N.I., Russell, R.M. (1996): Human plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am. J. Clin. Nutr.*, 64. 594-602.