

# Białka mleka o właściwościach antybakteryjnych

## Milk proteins with antibacterial properties

JOLANTA KRÓL<sup>1/</sup>, ANETA BRODZIAK<sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> Pracownia Bezpieczeństwa Żywności i Produktów Regionalnych, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

<sup>2/</sup> Pracownia Ekologicznej Produkcji Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Białka mleka i produkty ich rozkładu, oprócz swojej oczywistej wartości odżywczej, spełniają rozliczne funkcje biologiczne. W aspekcie prozdrowotnym szczególnie ważna jest zawartość funkcjonalnych białek serwatkowych, które stanowią 20-25% białek mleka krowiego, z tego około 75% przypada na albuminy, tj.  $\alpha$ -laktoalbuminę ( $\alpha$ -LA),  $\beta$ -laktoglobulinę ( $\beta$ -LG) i albuminę serum (BSA). W ich skład wchodzi również białka wykazujące właściwości przeciwdrobnoustrojowe, tj. immunoglobuliny, laktoferyna, laktoperoksydaza i lizozym. Zawartość tych białek w diecie jest jednym z czynników warunkujących prawidłową odpowiedź immunologiczną organizmu. Wykazują aktywność bakteriobójczą w stosunku do bakterii Gram-ujemnych, m.in. *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* spp. i *Pseudomonas* spp., i Gram-dodatnich (*Listeria* spp., *Clostridium difficile*, *Staphylococcus* spp. i *Streptococcus* spp.). Z uwagi na rosnące zainteresowanie konsumentów produktami wspomagającymi odporność organizmu, białka te są dostępne na rynku w postaci wielu preparatów o szerokim spektrum działania. Znajdują zastosowanie w profilaktyce i terapii chorób, głównie noworodków i dzieci, ale również osób dorosłych. Coraz częściej wykorzystywane są do wzbogacania żywności, odżywek dla dzieci, środków dietetycznych czy też wysokobiałkowych preparatów dla rekonwalescentów oraz sportowców. Znalazły ponadto zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.

**Słowa kluczowe:** białka mleka, immunoglobuliny, laktoferyna, lizozym, laktoperoksydaza

Milk proteins and products of their degradation fulfill numerous biological functions, in addition to their obvious nutritional value. In the health-promoting aspect, the content of functional whey proteins is particularly crucial. They represent 20-25% of cow milk proteins, of which albumins, i.e.  $\alpha$ -lactalbumin ( $\alpha$ -LA),  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -LG) and serum albumin (BSA), constitute approximately 75%. Moreover, proteins which exhibit antimicrobial properties, i.e. immunoglobulins, lactoferrin, lactoperoxidase and lysozyme, are also included in whey proteins. The content of antimicrobial proteins in the diet is one of the factors determining the correct immune response. They exhibit bactericidal activity against Gram-negative bacteria, including *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* spp. and *Pseudomonas* spp., and Gram-positive bacteria (*Listeria* spp., *Clostridium difficile*, *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp.). Due to an increasing consumer interest in products supporting the body immunity, these proteins are commercially available in the form of a variety of formulations with a broad spectrum of activity. They are used in the prevention and therapy of diseases, particularly in infants and children but also adults. Proteins with antimicrobial properties are increasingly used to enrich food, infant formulas, dietary measures or high-protein supplements for convalescents and athletes. Moreover, they are applied in pharmaceutical and cosmetic industries.

**Key words:** milk proteins, immunoglobulins, lactoferrin, lysozyme, lactoperoxidase

© Probl Hig Epidemiol 2015, 96(2): 399-405

www.phie.pl

Nadesłano: 07.05.2015

Zakwalifikowano do druku: 21.05.2015

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr. hab. inż. Jolanta Król  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin  
tel. 81 445 68 56, e-mail: jolanta.krol@up.lublin.pl

Białka są podstawową i integralną częścią żywności. Stanowią źródło energii i aminokwasów egzogennych, niezbędnych do wzrostu i rozwoju żywego organizmu. Doskonałym źródłem białek o wysokiej wartości biologicznej jest mleko oraz siara. Białka mleka i produkty ich rozkładu, oprócz swojej oczywistej wartości odżywczej, spełniają rozliczne funkcje biologiczne. Głównym białkiem mleka jest kazeina, która stanowi około 80% białka ogólnego. Odznacza się wysoką wartością technologiczną, jej zawartość w mleku decyduje o szybkości powstawania skrzepu oraz jego wiązłości. Natomiast w aspekcie prozdrowotnym

szczególnie ważna jest zawartość funkcjonalnych białek serwatkowych, które stanowią 20-25% białek mleka krowiego, z tego około 75% przypada na albuminy, tj.  $\alpha$ -laktoalbuminę ( $\alpha$ -LA),  $\beta$ -laktoglobulinę ( $\beta$ -LG) i albuminę serum (BSA). W ich skład wchodzi również białka wykazujące właściwości przeciwdrobnoustrojowe, tj. immunoglobuliny, laktoferyna, laktoperoksydaza i lizozym (tab. I). Zawartość tych białek w diecie jest jednym z czynników warunkujących prawidłową odpowiedź immunologiczną organizmu. Z uwagi na rosnące zainteresowanie konsumentów produktami wspomagającymi odporność organi-

zmu, białka te coraz częściej wykorzystywane są do wzbogacania żywności, odżywek dla dzieci, środków dietetycznych czy też wysokobiałkowych preparatów dla rekonwalescentów oraz sportowców. Znalazły ponadto zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym [1-4].

## Immunoglobuliny (Ig)

Immunoglobuliny są to wysokocząsteczkowe globuliny obecne w osoczu krwi oraz płynach ustrojowych. W zależności od struktury fizykochemicznej i aktywności biologicznej wyróżniono trzy główne klasy immunoglobulin, tj. IgG, IgM i IgA. W mleku przeżuwaczy dominują IgG (około 80%), natomiast u pozostałych ssaków ssących, wliczając człowieka – IgA (około 90%) – tabela II. Warunkują one swoistą odporność humoralną organizmu [7, 8]. Na drodze wiązania antygenów, a także fagocytozy lub aktywacji układu dopełniacza uczestniczą w niszczeniu chorobotwórczych mikroorganizmów, tj. *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus mutans* czy *Helicobacter pylori* [3, 9]. W wielu krajach na rynku są dostępne preparaty wyprodukowane na bazie immunoglobulin i przeznaczone dla zwierząt gospodarskich, głównie dla noworodków cieląt i świń, w celu zapobieżenia infekcjom żołądkowo-jelitowym [7]. Coraz większym zainteresowaniem cieszą się również produkty na bazie Ig, ale wykorzystywane jako dodatki do żywności [3, 10, 11]. Wykazano, iż stosowanie suplementacji wpływa korzystnie na odporność organizmu oraz zapobiega chorobom układu pokarmowego [11, 12]. U niemowląt i dzieci do lat czterech stwierdzono redukcję przypadków występowania biegunek wywołanych przez rotawirusy [3, 7, 13]. Badania kliniczne potwierdziły skuteczność tych preparatów w terapii przeciwbólowej u pacjentów z zespołem fibromialgii

[11, 14]. Skoncentrowane preparaty immunoglobulinowe z siary i mleka hyperimmunizowanych krów zapobiegały zakażeniom bakteryjnym, wirusowym i pierwotniakowym. Preparat Modulen IBD (Nestle), zawierający TGF- $\beta_2$  z mleka, znalazł zastosowanie w leczeniu dziecięcej postaci choroby Crohna [15].

## Laktoferyna (Lf)

Laktoferyna jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej około 80 kDa. Ze względu na wielkość i budowę cząsteczki, należy do rodziny transferyn, których główną cechą charakterystyczną jest zdolność wiązania żelaza [18, 19]. Występuje w postaci pojedynczego łańcucha polipeptydowego, składającego się z około 690 aminokwasów [8, 18]. Po raz pierwszy została wyizolowana z mleka w latach 60. ubiegłego wieku. Występuje również w innych wydzielinach, tj. ślinie, łzach, nasieniu i wydzielinie śluzowej oskrzeli, przewodu pokarmowego oraz dróg rodnych. Jest ponadto składnikiem wtórnych ziarnistości granulocytów obojętnochłonnych, z których podczas urazu, infekcji i zapalenia jest uwalniana do krwi [18, 20, 21]. Białko to jest podstawowym elementem systemu odporności wrodzonej, nieswoistej człowieka oraz innych ssaków [22]. Mleko ludzkie zawiera największą ilość laktoferyny (tab. III), przy czym warto podkreślić, że wykazuje ona niższą aktywność antybakteryjną w stosunku do laktoferyny pochodzącej z mleka innych gatunków ssaków [23]. Poprzez wiązanie i sekwestrację żelaza, wykazuje właściwości antybakteryjne przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym, wirusom otoczkowym i bezotoczkowym oraz różnym rodzajom grzybów i pasożytów [21, 24-27]. Działanie to wynika po części ze zdolności białka do chelatowania żelaza (jonów Fe<sup>3+</sup>), a tym samym usuwania tego pierwiastka ze środowiska wzrostu drobnoustrojów [28]. Inne mechanizmy działania przeciwmikrobiologicznego Lf

Tabela I. Aktywność biologiczna białek antybakteryjnych [3, 5, 6]  
Table I. Biological activity of antibacterial proteins [3, 5, 6]

Rodzaj białka	Aktywność biologiczna
Immunoglobuliny	Specyficzna ochrona immunologiczna; potencjalny prekursor bioaktywnych peptydów
Laktoferyna	Transport żelaza; właściwości antybakteryjne, przeciwutleniające i antynowotworowe; regulacja wzrostu komórek; prekursor bioaktywnych peptydów
Laktoperoksydaza	Właściwości antybakteryjne; efekt synergistyczny z immunoglobulinami, laktoferyną i lizozymem
Lizozym	Właściwości antybakteryjne; efekt synergistyczny z immunoglobulinami, laktoferyną i laktoperoksydazą

Tabela II. Zawartość immunoglobulin w mleku i siarze różnych gatunków zwierząt [16, 17]  
Table II. Content of immunoglobulin in milk and colostrum of different animal species [16, 17]

Klasa immunoglobulin	Masa cząsteczkowa (kDa)	Stężenie (g/l)							
		Mleko				Siara			
		ludzkie	krowie	kozie	bawole	ludzka	krowia	kozia	bawola
Ig G	146-163	0,04	0,15-0,80	0,10-0,40	0,46-1,34	0,43	20-200	50-60	29,7-36,0
Ig A	386-430	1,0	0,05-0,14	0,03-0,08	0,01-0,03	17,35	1-6	0,9-2,4	0,18-0,57
Ig M	900	0,10	0,04-0,10	0,01-0,04	0,04	1,59	3-9	1,6-5,2	0,47-0,57

obejmują bezpośrednie niszczenie osłon i zaburzenia metabolizmu komórek bakteryjnych, hamowanie procesów adherencji bakterii do tkanek ustroju gospodarza [29], hamowanie tworzenia biofilmu przez niektóre bakterie [30] oraz stymulację układu odpornościowego gospodarza do walki z patogenami [31]. Laktoferyna działa ochronnie na komórki nabłonka jelita, a przy tym hamuje wzrost *Escherichia coli* i innych patogennych bakterii jelitowych, głównie z rodziny *Enterobacteriaceae*, jednocześnie pobudzając wzrost pożytecznej mikroflory jelitowej z rodzaju *Bifidobacterium* [27]. Odgrywa szczególne znaczenie u noworodków, u których dochodzi do stopniowej kolonizacji przewodu pokarmowego przez zróżnicowaną mikroflorę. Rozwój prawidłowej flory bakteryjnej zapewnia sprawne procesy trawienia, chroni przed rozwojem bakterii patogennych oraz zwiększa odporność [32, 33]. Omawiane białko stymuluje wzrost tkanek jelita, chroniąc przed translokacją bakterii jelitowych do układu krążenia noworodka [34]. Czynniki te zadecydowały o zastosowaniu laktoferyny w odżywkach dla niemowląt [27, 35]. Dodatkową zaletą laktoferyny w walce z zakażeniami bakteryjnymi jest możliwość zwiększenia wrażliwości bakterii na niektóre antybiotyki (wankomycyna, penicylina) i obniżanie ich efektywnych dawek. Kombinacja penicyliny z laktoferyną podniosła 2-krotnie aktywność hamującą antybiotyku wobec *Staphylococcus aureus* [36]. Laktoferyna wykazuje również działanie przeciwwirusowe [34, 37]. W badaniach klinicznych okazała się efektywna w hamowaniu infekcji wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) i C (HCV) [38, 39], opryszczki (*Herpes simplex virus*) typu 1 i 2 [28, 40], ludzkiego wirusa niedoboru odporności (HIV) [41], ludzkiego wirusa cytomegalii, wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV), enterowirusa, adenowirusa, wirusa grypy, wirusa paragrypy oraz rotawirusa, będącego najważniejszym czynnikiem etiologicznym ostrych schorzeń przebiegających z biegunką, stanowiących jedną z głównych przyczyn śmiertelności niemowląt i małych dzieci w krajach rozwijających się [34, 37, 42, 43]. Ponadto zaobserwowano jej synergistyczne działanie z lekami przeciwwirusowymi, między innymi interferonem, acyclovirem i cidofoviem [28, 39], co pozwala obniżyć dawki zażywanych leków, odznaczających się dużą toksycznością dla organizmu. Posiada również zdolności przeciwutleniające, zapobiega powstawaniu wolnych rodników, reguluje produkcję i uwalnianie cytokin oraz czynnika martwicy nowotworów – TNF, wydzielanego przez makrofagi [21]. Jako ochrona przed bakteriami patologicznymi, grzybami, pierwotniakami i wirusami w medycynie wykorzystuje się peptydy pochodzące z laktoferyny, tj. laktoferampinę i laktoferycynę. Wykazują one aktywność w stosunku do *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* i *Pseudomonas aureginosa*

oraz *Candida albicans* [44]. Ponadto laktoferycyna B wykazuje aktywność antynowotworową. Stwierdzono, że jeden z fragmentów tego peptydu, określany jako LFcInB25, w sposób wprost proporcjonalny do dawki i upływu czasu, powodował śmierć ludzkich komórek raka żołądka (gruczolaka). Zdaniem naukowców optymalizacja laktoferycyny B, przy zastosowaniu różnych strategii wzmacniania jej selektywności, przyczyni się w przyszłości do wyprodukowania nowych leków przeciwnowotworowych z potencjałem chemioterapeutycznym do leczenia raka żołądka [45].

Bardzo ważną cechą laktoferyny jest jej oporność na działanie wysokiej temperatury oraz enzymów proteolitycznych [21, 26, 27]. Laktoferyna mleka krowiego znajduje coraz szersze zastosowanie m.in. w przetworach mlecznych, środkach spożywczych specjalnego przeznaczenia medycznego czy preparatach do początkowego i dalszego żywienia niemowląt. Co ważne, w dniu 22 listopada 2012 r., decyzją wykonawczą Komisji Europejskiej zezwolono na wprowadzanie do obrotu laktoferyny bydłowej (bLf) jako nowego składnika żywności [Rozporządzenie (WE) nr 258/97 Parlamentu Euro-

Tabela III. Zawartość laktoferyny i lizozymu w mleku różnych gatunków zwierząt [10, 46-50]

Table III. Content of lactoferrin and lysozyme in milk of different animal species [10,46-50]

Gatunek	Laktoferyna (mg/l)	Lizozym (mg/l)
Człowiek	700-2000	100-890
Krowa	80-500	0,37-0,6
Bawół	50-320	0,13-0,15
Wielbłąd	200-728	0,73-5,0
Koza	98-150	0,25
Owca	140	1-4
Koń	820	400-890

Tabela IV. Zastosowanie laktoferyny bydłowej w przemyśle spożywczym [51]

Kategoria żywności	Maksymalny poziom zastosowania
Preparaty do początkowego i dalszego żywienia niemowląt	100 mg/100 ml
Żywność na bazie nabiału przeznaczona dla małych dzieci	200 mg/100 g
Przetworzone produkty zbożowe	670 mg/100 g
Środki spożywcze specjalnego przeznaczenia medycznego	w zależności od potrzeb osoby do 3 g dziennie
Napoje na bazie mleka	200 mg/100 g
Mieszanki w proszku do sporządzania napojów na bazie mleka	330 mg/100 g
Napoje na bazie sfermentowanego mleka	50 mg/100 g
Napoje bezalkoholowe	120 mg/100 g
Produkty na bazie jogurtu	80 mg/100 g
Produkty na bazie sera	2000 mg/100 g
Lody	130 mg/100 g
Ciastka i pieczywo słodkie	1000 mg/100 g
Cukierki	750 mg/100 g
Guma do żucia	3000 mg/100 g

pejskiego i Rady]. Zgodnie z Europejskim Urzędem ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) laktoferyna pochodząca z mleka krowiego jest bezpieczna w odpowiednich warunkach stosowania i przy zachowaniu odpowiednich norm i poziomów (tab. IV).

### Laktoperoksydaza (Lp)

Laktoperoksydaza jest białkiem o właściwościach enzymatycznych, należącym do oksydoreduktaz. Katalizuje reakcje utleniania tiocyjanianów ( $\text{SCN}^-$ ) w obecności nadtlenu wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) w nietrwałe, toksyczne związki, które hamują metabolizm wielu mikroorganizmów [8, 52, 53]. Występuje w postaci pojedynczego łańcucha polipeptydowego, składającego się z 612 aminokwasów [8]. Zarówno w gruczole mlecznym, jak i w przewodzie pokarmowym noworodków, jest elementem niespecyficznej odporności komórkowej, gdzie pełni rolę naturalnego czynnika antybakteryjnego [8, 54]. W badaniach *in vitro* wykazano aktywność laktoperoksydazy wobec szerokiej grupy drobnoustrojów, w tym bakterii, wirusów, grzybów, pleśni i pierwotniaków. Działa bakteriobójczo na bakterie Gram-ujemne (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Campylobacter spp.*), jak również Gram-dodatnie (*Listeria spp.*, *Staphylococcus spp.* oraz *Streptococcus spp.*). Dodatkowo inaktywuje wirusa HIV 1 i polio [8, 54, 55]. W wielu krajach rozwijających się laktoperoksydaza używana jest jako naturalny konserwant mleka surowego [55, 56]. Wykorzystywana jest również do konserwacji mięsa, ryb, warzyw i owoców [52, 57]. Dodawana do środków higieny jamy ustnej, poprawia jej stan fizjologiczny. Ponadto stanowi składnik preparatów zastępujących ślinę u osób starszych i pacjentów cierpiących na suchość jamy ustnej. U astmatyków eliminuje nadtlenek wodoru, który jest odpowiedzialny za uszkodzenia nabłonka oskrzeli [1].

### Lizozym (Lz)

Lizozym (N-acetylo-muramylhydrolaza E.C.3.2.1.17) jest niskocząsteczkowym (14,4 kDa) białkiem enzymatycznym z grupy hydrolaz. Jest szeroko rozpowszechniony w przyrodzie, występuje w wielu płynach ustrojowych i tkankach organizmów żywych [58]. Największą zawartość enzymu stwierdzono we łzach oraz białku jaja kurzego, które jest obecnie jego podstawowym źródłem pozyskiwania na skalę przemysłową [59-61]. W stosunkowo dużych ilościach występuje także w mleku ludzkim i kłacz, podczas gdy w mleku krowim, kozim i bawolim jedynie w niewielkich stężeniach (tab. III). Stanowi naturalny mechanizm obronny organizmu. Jego działanie polega na niszczeniu bakterii poprzez rozpuszczanie kompleksu polisacharydowo-peptydowego (peptydoglikanu), z którego zbudowana jest ściana komórkowa wielu

bakterii [62]. W warunkach naturalnych działanie antybakteryjne lizozymu (monomer) ograniczone jest do bakterii Gram-dodatnich, dopiero po modyfikacji, pomimo redukcji aktywności hydrolitycznej, jego działanie bakteriobójcze rozszerza się na bakterie Gram-ujemne, w tym liczne chorobotwórcze bakterie patogenne [5, 25, 46, 61-64]. Stanowi ponadto jeden z mechanizmów nieswoistej, humoralnej odpowiedzi immunologicznej [5, 8]. Właściwości antybakteryjne lizozymu powodują znaczne zainteresowanie jego praktycznym wykorzystaniem w wielu branżach przemysłu żywnościowego. Znajduje zastosowanie przede wszystkim jako dodatek do żywności o charakterze substancji konserwującej [61, 65]. Przy produkcji serów podpuszczkowych ogranicza wzrost bakterii fermentacji masłowej, zwłaszcza *Clostridium tyrobutyricum*, powodujących wzdęcia serów [66]. Jest również stosowany w diagnostyce medycznej, farmakologii i weterynarii, a zwłaszcza znalazł szerokie zastosowanie w terapiach zakażeń wirusowych i bakteryjnych, w leczeniu chorób skórnych, chorób oczu, paradontozy, leukemii i chorób nowotworowych [5, 34]. Stanowi środek wspomagający działanie antybiotyków, stąd też nazywany jest często antybiotykiem endogennym. Wykazano, iż podawanie wcześniakom mleka wzbogaconego w lizozym wpływa korzystnie na ich rozwój, prowadzi do szybszego zwalczania infekcji [34]. Lizozym jest dodawany do mieszanek mlecznych dla niemowląt oraz produktów farmaceutycznych stosowanych w profilaktyce próchnicy zębów i leczeniu suchości jamy ustnej. Wykazano jego skuteczność u wcześniaków ze współistniejącymi chorobami. Stosowany przed zabiegami chirurgicznymi zmniejszał odsetek żółtaczkii wszczepiennej po transfuzji krwi. Z kolei podany z antybiotykami zwiększał ich skuteczność w zakażeniach u dzieci. Lizozym jest ujęty w krajowym Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 22.11.2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Dz.U. nr 232, poz. 1525) jako substancja dodatkowa (E 1105). Jego stosowanie jest dopuszczone do serów dojrzewających w ilości *quantum satis* oraz win gronowych zgodnie z przepisami UE dotyczącymi wspólnej organizacji rynku win.

Omawiane białka, a w szczególności immunoglobuliny i laktoferyna, są dostępne na rynku w postaci wielu preparatów o szerokim spektrum działania (tab. V). Znajdują one zastosowanie w profilaktyce i terapii chorób, głównie noworodków i dzieci, ale również osób dorosłych [3, 7, 44].

Laktoperoksydaza, laktoferyna i lizozym stanowią również składniki past do zębów, płynów dezynfekujących oraz gum do żucia, jako czynniki bakteriobójcze, hamujące rozwój próchnicy [52, 54, 67].

W związku z licznymi funkcjami biologicznymi, a zwłaszcza właściwościami przeciwdrobnoustrojowo-

Tabela V. Produkty immunologiczne na bazie mleka i siary dostępne w handlu [3, 6, 7]  
 Table V. Milk- and colostrum-based immunological products available on the market [3, 6, 7]

Produkt	Firma	Zastosowanie
Intact	Numico RA (Australia)	Zwiększanie odporności
Gastrogard-R	Northfield Laboratories (Australia)	Zapobieganie biegunkom wywołanym przez rotawirusy u niemowląt i dzieci poniżej 4 lat
Immunocal	Immunotec (Kanada)	Wzmacnianie systemu immunologicznego
Lactimmunoglobulin	Biotest Pharm GmbH (Germany)	Leczenie biegunki u ludzi chorych na AIDS
Colostrum Gold liquid	Sterling Technology Inc. (USA)	Zwiększanie odporności
Colostrinin	ReGen Therapeutics (Wielka Brytania)	W terapii chorób neurodegeneracyjnych
Lactoferrin	Allergy Research Group (USA)	Zwiększanie odporności; działanie antynowotworowe i przeciwutleniające
First Food	CORAL CLUB International & Royal Body Care (Kanada)	Wzmacnianie systemu immunologicznego
Colostrum Bovinum	Lux vitale (Polska)	Zwiększanie odporności
Immuno Colostrum	Genactiv (Polska)	Zwiększanie odporności

wymi, omówionych białek poszukuje się sposobów ich pozyskiwania w większej ilości. Zastosowanie zwierząt transgenicznych, np. krów i kóz, do produkcji mleka zawierającego rekombinowaną ludzką laktoferynę (rec-hLF lub rhLF) jest szczególnie obiecujące, zwłaszcza, że surowiec ten stanowi tradycyjny składnik żywności. Ostatnio grupa rosyjskich i białoruskich naukowców wytworzyła stado transgenicznych kóz, które produkują mleko o dziewięciokrotnie wyższej zawartości rhLF w porównaniu z mlekiem pozyskanym od kóz rodzimych, nietransgenicznych [68]. Z kolei, Cooper i wsp. [69] wykazali, że u świń karmionych mlekiem zawierającym rhLF lub hLF zmniejszył się stan zapalny jelit. W przeprowadzonych badaniach podawali młodym świniom mleko zawierające rhLF (w ilości 1,2 g/l) i uzyskali korzystne zmiany w populacjach leukocytów krwi obwodowej. Nastąpił znaczny spadek ilości neutrofilów oraz wzrost stężenia limfocytów, będącego wskaźnikiem zmniejszającego

się ogólnoustrojowego stanu zapalnego, w porównaniu z kontrolnym stadem świń karmionych mlekiem bez rhLF. Zdaniem Leitch i Wilcox [70], w przypadku kiedy laktoferyna i lizozym występują wspólnie, to ich właściwości przeciwbakteryjne synergizują się. Laktoferyna posiada kationową domenę, która umożliwia jej zwiększenie zdolności lizozymu do zabijania bakterii. Lf przyłącza się do lipopolisacharydów na błonie zewnętrznej, co powoduje, że błona ulega rozerwaniu i lizozym ma umożliwiony lepszy dostęp do wnętrza komórek bakterii Gram-ujemnych, jak również Gram-dodatnich. Van der Linden i wsp. [71] stwierdzili, że laktoferyna i lizozym w połączeniu wykazują synergistyczne hamowanie wzrostu obydwu grup bakterii. Działanie antybakteryjne lizozymu przeciwko wielu typom mikroorganizmów wpłynęło na zastosowanie rekombinowanego ludzkiego lizozymu (rhLZ) u zwierząt transgenicznych, np. kóz, w celu poprawy ich stanu zdrowia i jakości mleka [72].

## Piśmiennictwo / References

1. Artym J, Zimecki M. Milk-derived proteins and peptides in clinical trials. *Postępowanie Hig Med Dośw* 2013, 67: 800-816.
2. Brodziak A, Król J, Litwińczuk Z. Białka serwatkowe właściwości funkcjonalne i zastosowanie. *Przem Spoż* 2012, 66: 35-37.
3. Gapper LW, David EJ, Copestake DEJ, et al. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. *Anal Bioanal Chem* 2007, 389: 93-109.
4. Mojka K. Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych. *Probl Hig Epidemiol* 2013, 94(4): 722-729.
5. Benkerroum N. Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. *Afr J Biotechnol* 2008, 7(25): 4856-4867.
6. Król J, Brodziak A, Litwińczuk Z i wsp. Wykorzystanie białek serwatkowych w promocji zdrowia. *Żyw Człow Metab* 2011, XXXVIII: 36-45.
7. El-loly MM. Bovine milk immunoglobulins in relation to human health. *Int J Dairy Sci* 2007, 2(3): 183-195.
8. Pakkanen R, Aalto J. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *Int Dairy J* 1997, 7: 285-297.
9. Korhonen H. Isolation of immunoglobulins from colostrum. *Bull IDF* 2004, 389: 78-84.
10. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B i wsp. Immune components of bovine colostrum and milk. *J Anim Sci* 2009, 87: 3-9.
11. Struff WG, Sprotte G. Bovine colostrum as a biologic in clinical medicine: a review – part II: clinical studies. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2008, 46(5): 211-225.
12. Mehra R, Marnila P, Korhonen H. Milk immunoglobulins for health promotion. *Int Dairy J* 2005, 16: 1262-1271.
13. Rawal P, Gupta V, Thapa BR. Role of colostrum in gastrointestinal infections. *Indian J Pediatr* 2008, 75(9): 917-21.
14. Goebel A, Buhner S, Schedel R, et al. Altered intestinal permeability in patients with primary fibromyalgia and in patients with complex regional pain syndrome. *Baillieres Clin Rheumatol* 2008, 47(8): 1223-1227.

15. Triantafyllidis JK, Stamataki A, Karagianni V, et al. Maintenance treatment of Crohn's disease with a polymeric feed rich in TGF- $\beta$ . *Ann Gastroenterol* 2010, 23(2): 113-118.
16. Hurlay WL, Theil PK. Perspectives on immunoglobulins in colostrums and milk. *Nutr* 2011, 3: 442-474.
17. Park YW (ed). *Bioactive components in milk and dairy products*. Wiley-Blackwell, 2009.
18. Baker EN, Baker HM. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin. *Cell Mol Life Sci* 2005, 62: 2531-2539.
19. Yao X, Bunt C, Cornish J, et al. Improved RP-HPLC method for determination of bovine lactoferrin and its proteolytic degradation in simulated gastrointestinal fluids. *Biomed Chromatogr* 2013, 27(2): 197-202.
20. Artym J. Udział laktoferyny w gospodarce żelazem w organizmie. Część II Działanie przeciwmikrobiologiczne i przeciwzapalne poprzez sekwestrację żelaza. *Postępow Hig Med Dośw* 2010, 64, 604-616.
21. Małaczewska J, Rotkiewicz Z. Laktoferyna – białko multipotencjalne. *Med Weter* 2007, 63(2): 136-139.
22. Kruzel ML, Actor JK, Boldogh I, et al. Lactoferrin in health and disease. *Postępow Hig Med Dośw* 2007, 61: 261-267.
23. Conesa C, Sánchez L, Rota C, et al. Isolation of lactoferrin from milk of different species: Calorimetric and antimicrobial studies. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2008, 150: 131-139.
24. Orsi N. The antimicrobial activity of lactoferrin: current status and perspectives. *Biomaterials* 2004, 17: 189-196.
25. Panfil-Kuniewicz H, Kiszka A. Bioaktywne substancje mleka. *Żyw Człow Metab* 1984, XI: 63-69.
26. Steijns JM, Hooijdonk ACM. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. *Br J Nutr* 2000, 84(Suppl 1): 11-17.
27. Wakabayashi H, Yamauchi K, Takase M. Lactoferrin research, technology and applications. *Int Dairy J* 2006, 16: 1241-1251.
28. Andersen JH, Jenssen H, Gutteberg TJ. Lactoferrin and lactoferricin inhibit Herpes simplex 1 and 2 infection and exhibit synergy when combined with acyclovir. *Antiviral Res* 2003, 58: 209-215.
29. Hendrixson DR, Qiu J, Shewry SC, Fink DL, et al. Human milk lactoferrin is a serine protease that cleaves Haemophilus surface proteins at arginine-rich sites. *Mol Microbiol* 2003, 47: 607-617.
30. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, et al. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* 2002, 417: 552-555.
31. Liu KY, Comstock SS, Shunk JM, et al. Natural killer cell populations and cytotoxic activity in pigs fed mother's milk, formula, or formula supplemented with bovine lactoferrin. *Pediatr Res* 2013, 74: 402-407.
32. Actor JK, Hwang S, Kruzel ML. Lactoferrin as a natural immune modulator. *Curr Pharm Des* 2009, 15(17): 1956-1973.
33. Griffiths EA, Duffy LC, Schanbacher EL, et al. In vitro growth responses of Bifidobacteria and Enteropathogenes to bovine and human lactoferrin. *Dig Dis Sci* 2003, 48: 1324-1332.
34. Zimecki M, Artym J. Właściwości terapeutyczne białek i peptydów z siary i mleka. *Postępow Hig Med Dośw* 2005, 59: 309-323.
35. Satue-Gracia MT, Frankel EN, Rangavajhyala N, et al. Lactoferrin in infant formulas: effect on oxidation. *J Agric Food Chem* 2000, 48: 4984-4990.
36. Diarra MS, Petitelere D, Lacasse P. Effect of lactoferrin in combination with penicillin on the morphology and the physiology of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis. *J Dairy Sci* 2002, 85: 1141-1149.
37. Van der Strate BWA, Beljaars L, Molema G, et al. Antiviral activities of lactoferrin. *Antiviral Res* 2001, 52: 225-239.
38. Ikeda M, Nozaki A, Sugiyama K, et al. Characterization of antiviral activity of lactoferrin against hepatitis C virus infection in human cultured cells. *Virus Res* 2000, 66: 51-63.
39. Ishii K, Takamura N, Shinohara M, et al. Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients treated with oral lactoferrin for 12 months. *Hepatol Res* 2003, 25: 226-233.
40. Jenssen H, Andersen JH, Uhlin-Hansen L, et al. Anti-HSV activity of lactoferrin analogues is only partly related to their affinity for heparan sulfate. *Antivir Res* 2004, 61: 101-109.
41. Berkhout B, Van Wamel JL, Beljaars L, et al. Characterization of the anti-HIV effects of native lactoferrin and other milk proteins and protein-derived peptides. *Antiviral Res* 2002, 55: 341-355.
42. Brock JH. The physiology of lactoferrin. *Biochem Cell Biol* 2002, 80: 1-6.
43. Superti F, Ammendolia MG, Valenti P, et al. Antiviral activity of milk proteins: lactoferrin prevents rotavirus infection in the enterocyte-like cell line HT-29. *Med Microbiol Immunol* 1997, 186: 83-91.
44. Séverin S, Wenshui X. Milk biologically active components as nutraceuticals: Review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005, 45: 645-656.
45. Pan WR, Chen PW, Chen YLS, et al. Bovine lactoferrin B induces apoptosis of human gastric cancer cell line AGS by inhibition of autophagy at a late stage. *J Dairy Sci* 2013, 96: 1-10.
46. Chang JY, Li L. The unfolding mechanism and disulfide structures of denatured lysozyme. *FEBS Lett* 2002, 511: 73-78.
47. Konuspayeva G, Loiseau G, Levieux D, et al. Lactoferrin and immunoglobulin content in camel milk from Bactrian, Dromedary and hybrids in Kazakhstan. *J Camelid Sci* 2008, 1: 54-62.
48. Król J, Litwińczuk Z, Brodziak A i wsp. Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulin G content in milk of four breeds of cows managed under intensive production system. *Pol J Vet Sci* 2010, 13(2): 357-361.
49. Kuczyńska B, Puppel K, Nałęcz-Tarwacka T i wsp. Wartość odżywcza mleka i siary pochodzących od różnych gatunków zwierząt. *Prz Hod* 2009, 11: 12-17.
50. Park YW, Juarez M, Ramos M, et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res* 2007, 68: 88-113.
51. Decyzja wykonawcza Komisji z dnia 22 listopada 2012 r zezwalająca na wprowadzenie do obrotu laktoferyny bydłowej jako nowego składnika żywności zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady, Dz U L 327, 27/11/2012 P 0052-0054.
52. Boots JW, Floris R. Lactoperoxidase: From catalytic mechanism to practical applications. *Int Dairy J* 2006, 16(11): 1272-1276.

53. García-Graells C, Van Opstal I, Vanmuysen SC, et al. The lactoperoxidase system increases efficacy of high-pressure inactivation of foodborne bacteria. *Int J Food Microbiol* 2003, 81(3): 211-221.
54. Van Hooijdonk ACM, Kussendrager KD, Steijns JM. In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defence. *Br J Nutr* 2000, 84(Suppl 1): 127-134.
55. Seifu E, Buys EM, Donkin EF. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: a review. *Trends Food Sci Technol* 2005, 16(4): 137-154.
56. Ponce P. Lactoperoxidase system under tropical conditions: use, advantages and limitations in conservation of raw milk and potential applications. *Rev Salud Anim* 2010, 32(3): 146-154.
57. Jooyandeh H, Aberoumand A, Nasehi B. Application of lactoperoxidase system in fish and food products: A review. *Amer-Eurasian J Agri Environ Sci* 2011, 10(1): 89-96.
58. Fox PF, Kelly AL. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects – Part 2. *Int Dairy J* 2005, 16: 517-532.
59. Cegielska-Radziejewska R, Leśnierowski 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.
60. Chiang BH, Su CK, Tsai GJ, et al. Egg white lysozyme purification by ultrafiltration and affinity chromatography. *J Food Sci* 2006, 58: 303-306.
61. Leśnierowski G. Nowe sposoby fizykochemicznej modyfikacji lizozymu. *Nauk Przyr Technol* 2009, 3(4): 1-18.
62. Masschalck B, Van Houdt R, Van Haver EG, et al. Inactivation of Gram-negative bacteria by lysozyme, denatured lysozyme, and lysozyme-derived peptides under high hydrostatic pressure. *Appl Environ Microbiol* 2001, 67: 339-344.
63. Ibrahim HR, Higashiguchi S, Juneja LR, et al. 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.
64. Masschalck B, Michiels CW. Antimicrobial properties of lysozyme in relation to foodborne vegetative bacteria. *Microbiol Rev Crit* 2003, 29: 191-214.
65. Rosiak E, Kołożyn-Krajewska D. Zastosowanie metod prognozowania mikrobiologicznego do modelowania wzrostu mikroflory saprofitycznej w produktach mięsnych utrwalonych lizozymem w formie dimeru. *Żywn Nauk Technol Jakość* 2003, 37: 5-25.
66. Danyluk B, Kijowski J. The effect of lysozyme monomer on the growth of *Clostridium tyrobutyricum*. *Przem Spoż* 2001, 12: 16-19 (in Polish).
67. Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr* 2004, 8: 989-995.
68. Goldman IL, Georgieva SG, Gurskiy Ya G, et al. Production of human lactoferrin in animal milk. *Biochem Cell Biol* 2012, 90: 513-519.
69. Cooper CA, Maga EA, Murray JD. Consumption of transgenic milk containing the antimicrobial lactoferrin and lysozyme separately and in conjunction by 6-week-old pigs improves intestinal and systemic health. *J Dairy Res* 2013, 81: 30-37.
70. Leitch EC, Wilcox MD. Elucidation of the antistaphylococcal action of lactoferrin and lysozyme. *J Med Microbiol* 1999, 48: 867-871.
71. Van der Linden DS, Short D, Dittmann A, Yu PL. Synergistic effects of ovine-derived cathelicidins and other antimicrobials against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* 1056 MRSA. *Biotechnol Lett* 2009, 31: 1265-1267.
72. Yu H, Chen J, Liu S, et al. Large-scale production of functional human lysozyme in transgenic cloned goats. *J Biotechnol* 2013, 168: 676-683.