

*Agata Górska, Ewa Ostrowska - Ligęza, Magdalena Wirkowska*

## $\beta$ - LAKTOGLOBULINA – POTENCJALNY NOŚNIK WITAMINY D\*

Katedra Chemii Wydziału Nauk o Żywności  
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Kierownik: dr hab. *E. Bialecka-Florjańczyk*, prof. SGGW

*W artykule scharakteryzowano  $\beta$ -laktoglobulinę jako białko potencjalnie zdolne do wiązania rozpuszczalnej w tłuszczach witaminy D. Sekwencja aminokwasów w łańcuchu oraz wyniki badań struktury przestrzennej tego białka serwatkowego pozwalają na zakwalifikowanie  $\beta$ -laktoglobuliny do rodziny lipokalin i wskazują na zdolność do wiązania i transportowania niektórych lipofilowych składników odżywczych.*

Hasła kluczowe:  $\beta$ -laktoglobulina, witamina D, nośnik.

Key words:  $\beta$ -lactoglobulin, vitamin D, carrier.

Białka serwatkowe są powszechnie cenione ze względu na swoje właściwości odżywcze i funkcjonalne. Stanowią 0,6-0,7% białka ogólnego, w tym około 75% przypada na albuminy, tj.  $\alpha$ -laktoalbuminę ( $\alpha$ -LA) i  $\beta$ -laktoglobulinę ( $\beta$ -LG) (1, 2). Odgrywają istotną rolę w żywieniu człowieka jako wyjątkowo bogate i zbilansowane źródło aminokwasów. Serwatka jest produktem ubocznym przy produkcji serów. Na terenie Unii Europejskiej powstaje około 60 mln ton serwatki rocznie, zawierającej około 470 tys. ton czystych białek serwatkowych. Obecnie, dzięki rozwojowi technologii, przy stosunkowo niskich kosztach, z serwatki izoluje się poszczególne białka. Wyizolowane związki wykorzystuje się na szeroką skalę w przemyśle spożywczym. Jako substancje biologicznie aktywne białka te stosowane są w produkcji żywności funkcjonalnej, wpływającej pozytywnie na organizm człowieka (3). Wzbudzają one coraz większe zainteresowanie wśród konsumentów, znacznie częściej sięgających po produkty, które wykazują właściwości prozdrowotne. Działania bioaktywne białek serwatkowych stwarzają możliwości włączenia  $\alpha$ -LA i  $\beta$ -LG jako aktywnych składników w szerokiej grupie produktów spożywczych spełniających funkcję żywności funkcjonalnej (4).

Głównym białkiem frakcji serwatkowej mleka krowiego (3 g/l; 50% białek serwatkowych) jest  $\beta$ -laktoglobulina. Odgrywa ona istotną rolę antyoksydacyjną w mleku (5, 6) dzięki obecności aminokwasów siarkowych oraz możliwości syntezy glutationu. Wykazano, że istotną rolę w budowie  $\beta$ -LG odgrywają także wolne grupy tiolowe przy Cys-121, które prawdopodobnie uczestniczą w hamowaniu procesu oksydacji frakcji LDL cholesterolu. Równie istotną funkcją  $\beta$ -LG jest jej aktywność antykancerogenna. Obecne w dużej ilości aminokwasy siarkowe, przede wszystkim metionina, poprzez wpływ na proces metylacji komórek wykazują pozytywny wpływ na stabilność DNA (2).

\* Projekt badawczy MNiSW nr NN312 068639 realizowany ze środków na naukę w latach 2010-2012.

Stwierdzono występowanie szeregu wariantów  $\beta$ -laktoglobuliny, z których w mleku krowim najczęściej spotyka się typ A i B. Struktura białka została dokładnie opisana (7). Bydlęca laktoglobulina jest składającym się ze 162 aminokwasów białkiem globularnym, posiadającym masę 18,4 kDa. Posiada w swej budowie 5 reszt siarkowych, z czego 4 są zaangażowane w tworzenie wewnątrzcząsteczkowych mostków disiarczkowych. W pH w zakresie 5,2-7,5 natywna  $\beta$ -laktoglobulina występuje w postaci dimerów dwóch identycznych podjednostek. Przy pH powyżej 7,5 laktoglobulina ulega nieodwracalnej denaturacji, natomiast w zakresie pH pomiędzy 3,5 a 5,2 odwracalnie tworzy formy tetramerów/oktamerów (8). Charakteryzuje się bardzo dużą stabilnością w środowisku kwaśnym. Jest odporna na działanie żołądkowych soków trawiennych, pozostaje nienaruszona po przejściu przez żołądek (9). W drugorzędowej strukturze  $\beta$ -LG udział struktury  $\alpha$ -helikalnej wynosi około 16%, pofałdowanej kartki – ok. 54%, a nieuporządkowanego kłęбка – ok. 30%. Stwierdzono, że im mniejszy udział struktury pofałdowanej kartki i większy udział struktury  $\alpha$ -helikalnej, tym mniejsza tendencja do łączenia się z hydrofobowymi cząsteczkami. Wszystkie zmiany w konformacji  $\beta$ -LG mogą istotnie wpływać na jej zdolność wiązania witamin.

Badania wskazują na podobną strukturę i konformację  $\beta$ -laktoglobuliny z ludzkim białkiem wiążącym retinol (RBP, ang. retinol binding protein). Białko wiążące retinol (RBP) jest białkiem globularnym należącym do rodziny lipokalin. Wspólną cechą tych białek jest ich struktura. Składają się z ośmiu  $\beta$ -łańcuchów. Ludzkie RBP jest białkiem kwaśnym, monomerycznym, o masie cząsteczkowej 21 kDa, ma 3 wewnątrzcząsteczkowe mostki disiarczkowe. RBP jest obecne w znaczących ilościach w wątrobie, nerkach i surowicy. RBP ma postać beczułki z jednej strony zamkniętej, a z drugiej otwartej, która w środku zawiera hydrofobową „kieszę” wiążącą retinol (10, 11). RBP spełnia w organizmie wiele fizjologicznych funkcji. Po pierwsze, umożliwia przepływ nierozpuszczalnego retinolu między tkankami, przede wszystkim z miejsc jego nagromadzenia do tkanek obwodowych. Białko to chroni witaminę A przed utlenieniem i masowym rozprowadzeniem tej aktywnej cząsteczki. Za pomocą syntezy RBP jest regulowane uwalnianie retinolu z wątroby. RBP spełnia także ważną rolę w przenoszeniu witaminy A z krążenia matki do krążenia płodu. Podobna budowa przestrzenna upodabniająca  $\beta$ -laktoglobulinę do białka wiążącego retinol pozwala przypuszczać, że  $\beta$ -LG może brać czynny udział w transportowaniu witaminy A, zwiększając jej wchłanianie w jelicie cienkim. Wykazano, że  $\beta$ -laktoglobulina posiada zdolność wiązania hydrofobowych związków, tj. retinol, kwasy tłuszczowe, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach, cholesterol itp. (12). Umożliwia to wykorzystanie jej do transportowania wybranych składników odżywczych w układach pozbawionych tłuszczu. Wzbogacanie żywności w witaminę D, ze względu na fakt jej rozpuszczania w tłuszczach, odbywa się zazwyczaj z zastosowaniem nośników będących pochodnymi tłuszczów. Jednak rosnąca świadomość żywieniowa i zdrowotna konsumentów powoduje, że coraz częściej sięgają oni po produkty z obniżoną zawartością tłuszczu lub beztłuszczowe. Równocześnie oczekują, że spożywana przez nich żywność będzie wzbogacona w składniki odżywcze. Sprostanie takim

wymaganiom stanowi niełatwe wyzwanie dla przemysłu spożywczego poszukiwania nowych możliwości wzbogacania żywności w witaminę D.

Określenie „witamina D” obejmuje grupę związków z grupy steroidów wykazujących działanie przeciwkrzywicze; spośród nich największe znaczenie żywieniowe dla człowieka ma witamina D<sub>2</sub> (ergokalcyferol) i witamina D<sub>3</sub> (cholekalcyferol). Witaminy D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub> są substancjami wyjściowymi, które w organizmie ulegają cyklowi przemian prowadzącemu do wytworzenia czynnych metabolitów. Witamina D<sub>3</sub> (cholekalcyferol) pochodzi z dwóch źródeł. Znaczna jej część znajduje się w pokarmach (ryby, jaja, wątroba zwierzęca, produkty mleczne) i ulega wchłanianiu w przewodzie pokarmowym, a część powstaje pod wpływem promieniowania ultrafioletowego działającego na znajdujący się w skórze dehydrocholesterol. Witamina D<sub>2</sub> (ergokalcyferol) dostarczana jest do organizmu tylko doustnie w spożywanych pokarmach roślinnych oraz grzybach. Witamina D jest odporna na działanie podwyższonej temperatury. Jest również stosunkowo trwała w środowisku zasadowym, natomiast wykazuje wrażliwość na działanie kwasów, promieniowania ultrafioletowego, tlenu (13). Roztwory tłuszczowe stabilizują witaminę D. W środowisku beztłuszczowym w obecności tlenu obie formy witaminy D ulegają łatwo autooksydacji. W Polsce, gdzie produkcja witaminy D w skórze jest mniejsza niż w krajach południowych, trudno jest osiągnąć zalecane spożycie witaminy D w pokarmach. Szczególnie zauważalne jest to w obecnych czasach, w których szczególną uwagę poświęca się znacznemu obniżeniu podaży tłuszczu w diecie. Propagowane przez żywieniowców, a motywowane względami zdrowotnymi, dążenie do obniżenia spożycia tłuszczu, znajduje wyraz w pracach naukowców nad opracowaniem technologii produktów żywnościowych o ograniczonej ilości tłuszczu, aż do całkowitej jego eliminacji. Należy jednak pamiętać, że konsekwencją stosowania diety o obniżonej zawartości tłuszczu może być niebezpieczne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ograniczenie spożycia witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (14). Stanowi to niełatwe wyzwanie dla przemysłu spożywczego poszukiwania nowych możliwości wzbogacania żywności o obniżonej zawartości tłuszczu (np. mleka w proszku) w witaminę D. Opisane właściwości  $\beta$ -laktoglobuliny stwarzają możliwości wykorzystanie jej do wiązania i transportowania niektórych składników odżywczych, tj. np. rozpuszczalnych w tłuszczach witaminy D. Należy jednak pamiętać, że nadmiar białka w diecie, zwłaszcza bogatego w aminokwasy siarkowe, może przyczynić się do wydalania wapnia z moczem, szczególnie u osób w wieku podeszłym.

Badania naukowe oraz ciągły postęp technologiczny powodują, że białka serwatkowe są w coraz większym stopniu wykorzystywane jako składniki żywności funkcjonalnej i nutraceutyków. Większa świadomość konsumentów, podyktowana troską o własne zdrowie i samopoczucie stanowi niełatwe wyzwanie dla naukowców do ciągłych badań nad biologicznymi funkcjami białek serwatkowych.

Zdolność  $\beta$ -laktoglobuliny do wiązania witaminy D stwarza szerokie możliwości wykorzystania tego typu połączeń do wzbogacania produktów o obniżonej zawartości tłuszczu lub beztłuszczowych w spełniającą istotną funkcję w

## PIŚMIENNICTWO

1. *Januszewicz W., Kokot F.* (red.): Interna. Tom I-III. Wyd. PZWL, Warszawa, 2005. – 2. *Gerd H.*: Medycyna wewnętrzna. Repetytorium dla studentów medycyny i lekarzy. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa, 2008. – 3. *Kivity S., Agmon-Levin N., Zisappl M., Shapira Y., Nagy E.V., Dankó K., Szekanez Z., Langevitz P., Shoenfeld Y.*: Vitamin D and autoimmune thyroid diseases. *Cell. Mol. Immunol.* 2011; 8 (3): 243-247. – 4. *Tuchendler D., Bolanowski M.*: Rola osteoprotegeryny i witaminy D w patologii tarczycy. *Endokrynol. Pol.* 2009; 60 (6): 470-475. – 5. *Mojsak M.N., Rogowski F.*: Użyteczność nikotynamidu w radiojodoterapii chorych z wolem nadczynnym oraz dużym wolem normocycznym. *Pol. Merk. Lek.*, 2010, XXIX, 169: 54-57. – 6. *Ness-Abramof R., Nabriski D.A., Braverman L.E., Shilo L., Weiss E., Reshef T., Shapiro M.S., Shenkman L.*: Prevalence and evaluation of B<sub>12</sub> deficiency in patients with autoimmune thyroid disease. *Am. J. Med. Sci.* 2006; 332 (3): 119-122. – 7. *Szponar L., Wolnicka K., Rychlik E.*: Album fotografii produktów i potraw. *IŻŻ*, Warszawa, 2000. – 8. *Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.*: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. PZWL, Warszawa 2005. – 9. *Jarosz M., Bulhak-Jachymczyk B.*: Normy żywienia człowieka; podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa, 2008. – 10. *Wartanowicz M.*: Witaminy. W: *Gawęcki J., Hryniewiecki L.*: Żywnienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2008: 241-280.
11. *Allen L.H.*: How common is vitamin B<sub>12</sub> deficiency? *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 89 (2): 693S-696S. – 12. *Allen L.H.*: Causes of vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency. *Food Nutr. Bull.* 2008; 29 (2 Suppl): S20-S34; discussion S35-37. – 13. *Waśkiewicz A., Sygnowska E., Broda G.*: Dietary intake of vitamins B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> and folate in relation to homocysteine serum concentration in the adult Polish population – WOBASZ project. *Kardiol. Pol.* 2010; 68(3): 275-284. – 14. The Endocrine Society's 90th Annual Meeting: Absorption of thyroid drug levothyroxine improves with vitamin C. San Francisco 2008.

Adres: 15-089 Białystok, ul. Kilińskiego 1.