



Białka mleka jako składniki żywności funkcjonalnej

Konrad Babij, Anna Dąbrowska, Marek Szoftysik*

Katedra Rozwoju Funkcjonalnych Produktów Żywnościowych
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
*kontakt: marek.szoftysik@upwr.edu.pl

Produkty funkcjonalne wyprodukowane z mleka stanowią bardzo ważną i obszerną część segmentu żywności funkcjonalnej. Mleko jest cennym komponentem diety, co uwarunkowane jest między innymi wysoką zawartością podstawowych składników odżywczych m.in. białek, węglowodanów, tłuszczów, związków mineralnych i witamin. Z założenia stanowi ono kompletny i wartościowy pokarm dla noworodka, jest więc też naturalnym źródłem pełnowartościowego białka. Białka mleka pełnią rolę szczególną, ponieważ oprócz dostarczania organizmowi puli niezbędnych aminokwasów, wykazują ponadto szereg istotnych aktywności biologicznych m.in. jako egzogenne, nieswoiste czynniki odporności przeciw patogenom oraz składniki immunostymulujące [24, 40].

Białka mleka są również bardzo zróżnicowane pod względem właściwości funkcjonalnych w aspekcie technologicznym. Jako integralny składnik pożywienia odgrywają one bowiem kluczową rolę w kształtowaniu właściwości fizykochemicznych oraz sensorycznych i z tego powodu znajdują coraz większe zastosowanie przemysłowe, jako dodatki do artykułów spożywczych. Jedną z najważniejszych cech funkcjonalnych jest zdolność do tworzenia żeli. Zdolność wiązania wody ma znaczny wpływ na właściwości reologiczne produktów [30]. Preparaty białek mleka wykazują właściwości emulgujące, z powodzeniem wykorzystywane przy produkcji wszelkiego rodzaju produktów, gdzie ważnym czynnikiem jest odpowiednie wymieszanie tłuszczu z resztą składników. Dodatek mleka wspomaga tworzenie stabilnych pian, co ma głównie zastosowanie w produktach takich jak lody i desery mleczne [48].



Białka w mleku występują w postaci niejednorodnej grupy związków azotowych, zróżnicowanych pod względem składu i pełnionych funkcji biologicznych. Mleko krowie, podobnie jak mleko owcze, kozie, bawole i wielbłądzie, jest mlekiem zaliczanym do typu kazeinowego, gdzie kazeina jest dominującym komponentem białkowym. Zgodnie z zaproponowanym podziałem jakościowym, białka mleka dzielą się na kompleks kazeinowy i białka serwatkowe [33], które wykazują znaczną heterogenność.

W strukturze kazeiny występują cztery podstawowe frakcje. Geny, tworzące klaster uporządkowane w kolejności: CSN1S1, CSN2, CSN1S2, CSN3 kodują odpowiednio frakcje: α_{s1} -kazeinę, β -kazeinę, α_{s2} -kazeinę i κ -kazeinę [35]. Każda z frakcji kazeiny jest białkiem złożonym. Wszystkie zaliczane są do fosfoprotein, a frakcja κ -kazeiny jest też glikoproteiną [17]. Kazeina jest białkiem o wysokiej wartości odżywczej. Wykorzystywana jest jako jeden z podstawowych składników diety. Biorąc pod uwagę wartość odżywczą kazeiny, jest ona porównywana do wartości odżywczych białek mięsa, chociaż, ze względu na niższą zawartość aminokwasów siarkowych: metioniny i cysteiny jest ona jednak ograniczona [15]. W wyniku trawienia kazeiny, ze względu na jej właściwości fizykochemiczne, aminokwasy uwalniane są do krwioobiegu powoli, aczkolwiek systematycznie i przez wiele godzin. To zjawisko wykorzystywane jest podczas żywienia sportowców, gdyż zapewnia lepsze wykorzystywanie azotu, szczególnie w okresie snu [4].

Suplementacja kazeiną okazała się także wykazywać działanie ochronne, co wykazano w badaniach na modelu nowotworów jelitowych indukowanych u szczurów z wykorzystaniem dimetylohydrazyny. Dieta, której podstawą była kazeina skutkowała redukcją obserwowanych zmian chorobowych, a pojawiające się guzy, charakteryzowały się mniejszą masą [26]. Wysoka podaż kazeiny ograniczała procesy wolotwórcze u myszy. Kazeina może ograniczać ilość jodu wnikającego do komórek tarczycy i hamować tworzenie się tyreoglobuliny w obrębie gruczołu [38].

Kazeina w mleku pełni funkcję nośnika niezbędnych pierwiastków budulcowych. Jako fosfoproteina wykazuje wysoką zdolność wiązania jonów metali, w szczególności wapnia. Nieodpowiednia podaż wapnia wpływa na utratę masy kostnej w organizmie człowieka. Pozytywny efekt suplementacji diety zależy nie tylko od samego jego spożycia, ale również od możliwości organizmu do przyswojenia danego pierwiastka. Wykorzystanie wapnia oraz mineralizacja kości ulegają znacznemu obniżeniu, gdy podaż białka w diecie jest niewystarczająca. U osób starszych niedożywienie białkowe jest jednym z czynników przyczyniających się do incydentów złamań [6, 19].

W trakcie badań nad pomenopauzalnym ubytkiem tkanki kostnej u starych szczurów wykazano jedynie nieznaczne zmniejszenie gęstości mineralnej kości udowej u osobników karmionych fosfopeptydami kazeiny skoniugowanymi z wapniem podczas gdy w grupach



kontrolnych suplementowanych CaCO_3 i KH_2PO_4 obserwowano już znaczną demineralizację [43]..

Kazeina oraz jej pochodne mogą znaleźć zastosowanie w profilaktyce i leczeniu próchnicy oraz demineralizacji szkliwa. W badaniach prowadzonych z wykorzystaniem zwierząt doświadczalnych wykazano również ochronne właściwości αs1 -kazeiny i pochodzących z niej peptydów otrzymanych w wyniku degradacji trypsyną przed demineralizacji szkliwa zębów [39]. Aktywność buforująca kazeiny wpływała na zobojętnianie kwaśnego odczynu, będącego skutkiem aktywności bakterii, w obrębie płytki nazębnej [39]. Próby kliniczne wykazały, iż skompleksowane z fosforanem wapnia pochodne kazeiny, ograniczały rozwój próchnicy skuteczniej niż preparat zawierający 0,05% fluorek sodu [13].

Druga grupa białek mleka, tj. białka serwatkowe, odzyskiwane obecnie na dużą skalę z serwatki, pozostającej po wytrąceniu kazein z mleka przy produkcji serów, stanowi bardzo atrakcyjny dodatek funkcjonalny do żywności [36]. Złożone są one z czterech głównych białek: β -laktoglobuliny, α -laktoalbuminy, immunoglobulin oraz albumin osocza oraz wielu innych występujących w mniejszych ilościach, w tym dużej liczby enzymów [29].

Białka serwatkowe są atrakcyjnym surowcem do produkcji odżywek dla osób wymagających specjalnej diety. O ich wysokiej wartości odżywczej decyduje głównie skład aminokwasowy, tj. wysoka zawartość metioniny i cysteiny, ale także lizyny i tryptofanu. Białka te w odróżnieniu od kazeiny nie zawierają fosforu, co czyni je bardzo atrakcyjnym składnikiem w spełnianiu wymogów diety dla pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek, poddawanych dializom. Z żywieniowego punktu widzenia bardzo ważna jest wysoka zawartość aminokwasów o łańcuchach rozgałęzionych (BCAA, Branched-Chained Amino Acids): leucyny, waliny i izoleucyny. Białka serwatkowe cechują się dobrą strawnością i przyswajalnością. Koncentraty i izolaty białek serwatkowych dodawane są do produktów przeznaczonych dla niemowląt, sportowców i rekonwalescentów, co znacznie podnosi wartość dietetyczną takich wyrobów [16].

Wykorzystanie białek serwatkowych w suplementacji diety sportowców wynika bezpośrednio z ich właściwości anabolicznych. Wyniki badań wskazują, iż BCAA aktywują kinazę mTOR, tzw. ssaczy cel rapamycyny, której funkcją jest regulacja wzrostu, proliferacji komórkowej, oraz procesów transkrypcji i translacji stymulujących anabolizm [3].

Wykazano również, iż podaż koncentratu białek serwatkowych wymiennie wpływa na endogenną produkcję glutationu. Glutationowy system antyoksydacyjny jest głównym mechanizmem obrony komórek przed uszkodzeniami wywołanymi przez reaktywne formy tlenu. Najważniejszą funkcją glutationu jest utrzymanie grup tiolowych w formie zredukowanej, co jest warunkiem ich aktywności funkcjonalnej [27]. Zredukowany glutation (GSH) wygasza wolne rodniki i tym samym chroni błony komórkowe, DNA i białka organizmu przed stresem oksydacyjnym. W badaniach klinicznych wykazano, iż spożywanie przez nosicieli HIV białek serwatkowych w ilości 45 g/dzień przez okres 6 miesięcy,



powodowało istotny wzrost poziomu endogennego glutationu [28].

Próby klinicznej suplementacji białkami serwatkowymi w ilości 30 g/dzień przez okres 6 miesięcy pacjentów z chorobami nowotworowymi, skutkowały również podwyższeniem poziomu glutationu, a w dwóch przypadkach regresją guza nowotworowego.

Głównym komponentem białek serwatkowych jest β -laktoglobulina (BLG) występująca w mleku krów i innych przeżuwaczy, ale także świń, koni, kotów czy delfinów. W mleku ludzkim BLG nie występuje [14]. Białko to może występować w dwóch postaciach, jako monomer lub dimer, a jego właściwości fizykochemiczne silnie zależą od pH. Posiada ono w swej budowie 5 reszt siarkowych, z czego 4 są zaangażowane w tworzenie wewnątrzcząsteczkowych mostków disiarczkowych. Wykazano, że BLG charakteryzuje się zdolnością do wiązania związków hydrofobowych, tj. retinol, kwasy tłuszczowe, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach, cholesterol. Poza tym stymuluje aktywność lipaz oraz posiada właściwości antyoksydacyjne [23]. Właściwości tego białka znalazły zastosowanie przy tworzeniu nośnika witaminy D w produktach o obniżonej zawartości tłuszczu lub w produktach beztłuszczowych. BLG wykazała działanie wspomagające w leczeniu infekcji wirusowych, poprzez zmniejszanie częstości występowanie infekcji towarzyszących u nosicieli wirusa HIV [18].

α -laktoalbumina (ALA) w mleku krowim występuje w ilości 1,0-1,5 g/dm³, stanowiąc około 20% ogólnej puli białek serwatkowych i należy do albumin dobrze rozpuszczalnych w wodzie [8]. Zawiera dużą ilość aminokwasów niezbędnych, takich jak: lizyna, cystyna, tryptofan [1]. Jest białkiem o wysokiej wartości biologicznej. ALA ma zdolność do wiązania metali oraz jest nośnikiem wapnia [9]. Wykazuje wysoki stopień homologii strukturalnej do lizozymu typ c. Posiada właściwości bakteriobójcze przeciwko bakteriom Gram(+) oraz względem *E. coli* O127. W połączeniu z kwasem oleinowym tworzy kompleks o aktywności przeciwnowotworowej HAMLET (Human α -lactalbumin Made Lethal to Tumor cells) i BAMLET (bovine α -lactalbumin Made Lethal to Tumor cells) [22, 32].

W badaniach na szczurzym modelu ostrej choroby wrzodowej, stwierdzono znaczny efekt ochronny względem błony śluzowej żołądka po spożyciu doustnym ALA, w wyniku stymulacji prostaglandyn, produkcji mucyn i aktywności buforującej tego białka. Badania wykazały, że u pacjentów podatnych na stres, dieta wzbogacona w ALA prowadziła do wzrostu stosunku tryptofanu do innych aminokwasów w osoczu, co sprzyja przyswajaniu tryptofanu przez mózg. Obniżeniu ulegał ponadto poziom kortyzolu oraz zmniejszały się częstość i nasilenie zachowań depresyjnych towarzyszących silnemu stresowi. Autorzy badań sugerują, że takie działanie białka jest spowodowane jego stymulującym wpływem na produkcję serotoniny w mózgu. Potwierdziły to badania prowadzone na szczurach [34, 44].



Laktoferyna (LF) występuje w mleku i innych płynach ustrojowych wszystkich ssaków. W mleku krowim zawartość LF wynosi 50–120 mg/dm³, co stanowi około 1% białek serwatkowych. Najwięcej zawiera jej siara, w której jej stężenie jest nawet pięciokrotnie większe niż w mleku [20]. Znacznie bogatszym jej źródłem jest mleko ludzkie gdzie występuje w stężeniu 1 mg/ml, a w sianie nawet 7 mg/ml [7]. LF jest glikoproteiną z rodziny transferyn, wykazuje zdolność do łączenia się z jonami żelaza. Kompleksy te charakteryzują się wysoką przyswajalnością przez organizm, co wykorzystuje się przy sporządzaniu preparatów żelaza o zwiększonym wchłanianiu. LF zwiększa także biodostępność innych metali, takich jak mangan i cynk. W wielu badaniach potwierdzono jej wybitne właściwości bakteriostatyczne, antywirusowe, przeciwgrzybiczne i przeciw pasożytnicze [12, 21, 42]. LF jest absorbowana z jelita z udziałem swoistych receptorów. Podawana doustnie stymuluje zarówno lokalną odpowiedź immunologiczną w obrębie tkanki limfatycznej związanej z przewodem pokarmowym (GALT, gut-associated lymphoid tissue) jak i odpowiedź ogólnoustrojową. LF po spożyciu doustnym stymuluje produkcję przeciwciał IgA oraz IgG, wydzielanie niektórych cytokin, wzrost liczby oraz aktywację komórek B, T i NK w jelicie, śledzionie oraz krwi obwodowej, stymuluje dojrzewanie limfocytów. Prekursorowe komórki T w grasicy pod wpływem LF nabywają fenotyp komórek pomocniczych (Th) CD4⁺CD8⁻. LF zwiększa aktywność cytotoksyczną komórek NK. Pełni funkcję ochronną wobec komórek nabłonka jelita, pobudzając zarówno ich proliferację, jak również wzrost grudek chłonnych jelita ([11, 41, 45, 47]. Wyjątkowość LF obrazuje fakt, iż limitując wzrost bakterii patogennych jednocześnie promuje namnażanie się symbiotycznych bakterii *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Na modelu mysim wykazano hamowanie infekcji *Helicobacter pylori* przez LF bydlęcą i *Helicobacter felis* przez LF ludzką oraz *Clostridium* sp. przez LF bydlęcą. Właściwości te wskazują na możliwość zastosowania LF jako żywieniowego składnika terapeutycznego u wcześniaków i osób z uszkodzeniem śluzówki jelita. U noworodków karmionych mieszankami mleka modyfikowanego, w przeciwieństwie do karmionych naturalnie, zaobserwowano rozwój niekorzystnej flory bakteryjnej. Suplementacja LF poprawia kondycję skóry, włosów i paznokci. Podaż LF zwiększa skuteczność leczenia infekcji górnych dróg oddechowych, a także ma właściwości przeciwnowotworowe oraz przeciwzapalne [10]. Dodatek laktoferyny do produktów spożywczych przedłuża ich przydatność do spożycia [25].

Lizozym (LY) występuje w mleku w mniejszej zawartości, jakkolwiek jego poziom w zależności od gatunku i fazy laktacji jest bardzo zróżnicowany [37]. W sianie ludzkiej występuje w stężeniu 0,37 g/L, a w mleku nawet 0,89 g/L [31]. Lizozym jest enzymem należącym do grupy hydrolaz glikozydowych i katalizuje rozkład peptydoglikanu bakteryjnych ścian komórkowych. Oprócz właściwości antybakteryjnych enzym wykazuje również wiele innych cennych właściwości, w tym działanie



przeciwwirusowe i przeciwgrzybiczne i z tego powodu znajduje coraz częściej zastosowanie w praktycznej produkcji żywności. LY stosuje się jako dodatek do preparatów dla niemowląt, w leczeniu chorób przyzębia i zapobieganiu próchnicy zębów, leczeniu zakażeń bakteryjnych, oraz konserwacji żywności, głównie przy produkcji serów dojrzewających. Mleko modyfikowane wzbogacone w LY, użyte w żywieniu wcześniaków cierpiących na współistniejące choroby, wywierało korzystny wpływ przekładający się na poprawę ogólnego stanu zdrowia, na szybszy przybór masy ciała, szybsze gojenie się infekcyjnych ognisk zapalnych, normalizację wypróżnień i składu stolca. Działanie przeciwzapalne lizozymu polega na hamowaniu aktywności hemolitycznej komplementu surowicy. LY może też wykazywać właściwości przeciwbólowe [2, 5].

Właściwości bioaktywne białek są obecnie przedmiotem szeroko rozwijanych badań. Połączenie wykorzystania właściwości funkcjonalnych białek z ich aktywnością biologiczną, staje się obecnie punktem wyjścia dla producentów żywności nowej generacji, o właściwościach nutraceutycznych.

Literatura

1. Bernatowicz E., Reklewska B. (2003). Bioaktywne składniki białkowej frakcji mleka. Przegląd Hodowlany, 3, 1-10.
2. Bianchi C. (1981) Is Fleming's lysozyme an analgesic agent? An experimental reappraisal of clinical data. European Journal of Pharmacology, 71: 211-221.
3. Blomstrand E., Eliasson J., Karlsson H.K., Köhnke R. (2006). Branched-chain amino acids activate key enzymes in protein synthesis after physical exercise. Journal of Nutrition. 136 (1):269-73.
4. Boirie Y., Dangin M., Gachon P., Vasson M.P., Maubois J.L., Beaufrere B. (1997). Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. Proclamations of National Academy of Sciences, 94, 14930-14935.
5. Bolshakova A.M., Shcherbakova E.G., Ivanova S.D., Medvedeva M.M., Zhuravleva T.P. (1984). Lysozyme in the feeding of premature infants with mixed pathology. Antibiotiki, 29: 784-790.
6. Bonjour J.P. (2005). Dietary protein: an essential nutrient for bone health, The Journal of the American College of Nutrition., 24: 526-536.
7. Brock J.H. (1980). Lactoferrin in human milk: its role in iron absorption and protection against enteric infection in the newborn infant. Archives of Disease in Childhood. 55(6), 417-421.
8. Brodziak A., Litwińczuk Z., Król J. (2013). Albuminy mleka - właściwości fizykochemiczne i funkcje biologiczne. Przemysł Spożywczy, 67 (10), 32-34.
9. Creamer L.K., Macgibbon A.K.H. (1996). Some recent advances in the basic chemistry of milk proteins and lipids. International Dairy Journal, 6(6), 539-568.
10. Dempczyński R., Dolata A.M., Bombczyńska K., Białas W., Jankowski T. (2013). Separacja laktoferyny z serwatki w ekstrakcyjnych układach trójfazowych. Żywność, Nauka. Technologia. Jakość, 1 (86), 119-136.
11. Dhennin-Duthille I., Masson M., Damiens E., Fillebeen C., Spik G., Mazurier J. (2000). Lactoferrin upregulates the expression of CD4 antigen through the stimulation of the mitogen-activated protein kinase in the human lymphoblastic T Jurkat cell line. Journal of Cellular Biochemistry, 79, 583-593.
12. Ellison R.T., Giehl T.J., LaForce F.M. (1988). Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin. Infection and Immunity, 56, 2774-2781.
13. Hay K.D., Thomson W.M. (2002). A clinical trial of the anticaries efficacy of casein derivatives complexed with calcium phosphate in patients with salivary gland dysfunction. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 93: 271-275



14. Hernández-Ledesma B., Recio I., Amigo L., (2008). B-lactoglobulin as source of bioactive peptides. *Amino Acids*, 35, 257-265.
15. Hoffman J.R., Falvo M.J. (2004) Protein- which is best? *Journal of Sports Science and Medicine*, 3, 118-130.
16. Hulmi J.J., Lockwood C.M., Stout J.R. (2010). Effect of protein/essential amino acids and resistance training on skeletal muscle hypertrophy: A case for whey protein. *Nutrition & Metabolism (Lond)*, 17, 7:51.
17. Jollès P., Fiat AM. (1979). The carbohydrate portions of milk glycoproteins. *Journal of Dairy Research*, 46(2), 187-91.
18. Kaducu F.O., Okia S.A., Upenyitho G., Elfstrand L., Florén C.H. (2011). Effect of bovine colostrum-based food supplement in the treatment of HIV-associated diarrhea in Northern Uganda: a randomized controlled trial. *Indian Journal of Gastroenterology*, 6, 270-276.
19. Kerstetter J.E., O'Brien K.O., Insogna K.L. (1998). Dietary protein affects intestinal calcium absorption, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 859-65.
20. Król J., Brodziak A., Litwińczuk A. (2011). Podstawowy skład chemiczny i zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku krów różnych ras i serwatce podpuszczkowej. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (77), 74 – 83.
21. Lima M.F., Kierszenbaum F. (1985). Lactoferrin effects on phagocytic cell function. I. Increased uptake and killing of an intracellular parasite by murine macrophages and human monocytes. *Journal of Immunology*, 134, 4176-4183.
22. Lišková K., Kelly A.L., O'Brien N., Brodkorb A. (2010). Effect of denaturation of alphas-lactalbumin on the formation of BAMLET (bovine α -lactalbumin made lethal to tumor cells). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4421–4427.
23. Livney Y.D. (2010) . Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid Interface Science*, 15, 73–83.
24. Lönnnerdal B. (2003). Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *American Journal of Clinical Nutrition* 77, 1537-1543.
25. Lucera A., Costa C., Conte A, Del Nobile MA. (2012). Food applications of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in Microbiology*, 3: 287.
26. McIntosh G.H., Regester G.O., Le Leu R.K., Royle P.J., Smithers G.W. (1995). Dairy proteins protect against dimethylhydrazine-induced intestinal cancers in rats. *Journal of Nutrition*, 125, 809-816.
27. Meister A., Anderson M.E. (1983). Glutathione. *The Annual Review of Biochemistry*, 52, 711-60.
28. Micke P., Beeh K.M., Buhl R. (2002). Effects of long-term supplementation with whey proteins on plasma glutathione levels of HIV-infected patients. *European Journal of Nutrition*, 41(1), 12-8.
29. Mierzejewska D., Jędrychowski L. (1999). Możliwości oznaczenia zmian denaturacyjnych α -la mleka krowiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 3, 36-47.
30. Mleko S., Tomczyńska-Mleko M., Targoński Z. (2010). Globular protein gels as carriers of active substances. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 21 (3), 14-16.
31. Montagne P., Cuillière ML, Molé C, Béné MC, Faure G. (2001). Changes in lactoferrin and lysozyme levels in human milk during the first twelve weeks of lactation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 501, 241-247.
32. Mossberg A.K., Hun Mok K., Morozova-Roche L.A., Svanborg C. (2010). Structure and function of human α -lactalbumin made lethal to tumor cells (HAMLET)-type complexes. *The FEBS Journal*, 277(22), 4614-25.
33. O'Mahony J. A., Fox P. F. (2013). Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects. *Advanced Dairy Chemistry*, 2013, 43-85.
34. Orosco M., Rouch C., Beslot F., Feurte S., Regnault A., Dauge V. (2004). Alpha-lactalbumin-enriched diets enhance serotonin release and induce anxiolytic and rewarding effects in the rat, *Behavioural Brain Research*, 148, 1-10.
35. Pauciullo A., Erhardt G. (2015). Molecular Characterization of the Llamas (Lama glama) Casein Cluster Genes Transcripts (CSN1S1, CSN2, CSN1S2, CSN3) and Regulatory Regions. *PLoS One*, 10(4), e0124963.



36. Pescuma M., de Valdez GF, Mozzi F.(2015). Whey-derived valuable products obtained by microbial fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99 (15), 6183-6196.
37. Priyadarshini S., Kansal VK. (2002). Lysozyme Activity in Buffalo Milk: Effect of Lactation Period, Parity, Mastitis, Season in India, pH and Milk Processing Heat Treatment. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 15(6), 895-899.
38. Qin G. (1993). An experimental study on casein in the prevention of excessive iodide induced goiter. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 73: 471-473.
39. Reynolds E.C. (1987). The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *Journal of Dental Research*, 66, 1120–1127.
40. Séverin S., Wenshui X. (2005). Milk biologically active components as nutraceuticals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 645-656.
41. Shimizu K., Matsuzawa H., Okada K., Tazume S., Dosako S., i in. (1996). Lactoferrin-mediated protection of the host from murine cytomegalovirus infection by a T-cell-dependent augmentation of natural killer cell activity. *Archives of Virology*, 141: 1875-1889.
42. Soukka T., Tenovuo J., Lenander-Lumikari M. (1992). Fungicidal effect of human lactoferrin against *Candida albicans*. *FEMS Microbiology Letters*, 69: 223-228.
43. Tsuchita H., Goto T., Shimizu T., Yonehara Y., Kuwata T. (1996). Dietary casein phosphopeptides prevent bone loss in aged ovariectomized rats. *The Journal of Nutrition*, 126, 86–93.
44. Ushida Y., Shimokawa Y., Matsumoto H., Toida T., Hayasawa H. (2003). Effects of bovine alpha-lactalbumin on gastric defense mechanisms in naive rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67, 577-583.
45. Weinberg E.D. (2001). Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 1303–1310.
46. Zhang P., Sawicki V., Lewis A., Hanson L., Nuijens J.H., Neville M.C. (2001). Human lactoferrin in the milk of transgenic mice increases intestinal growth in ten-day-old suckling neonates. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 501, 107–113.
47. Zimecki M., Mazurier J., Machnicki M., Wiecek Z., Montreuil J., Spik G. (1991). Immunostimulatory activity of lactotransferrin and maturation of CD4– CD8– murine thymocytes. *Immunology Letters*, 30, 119–123.
48. Żulewska J., Morawska A. (2015). Właściwości pianotwórcze koncentratów białek serwatkowych o zmniejszonej zawartości tłuszczu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1 (98), 89 – 101.