

AGATA GÓRSKA, KAROLINA SZULC, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA,
MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ

PRÓBA ZASTOSOWANIA β -LAKTOGLOBULINY JAKO NOŚNIKA PALMITYNIANU RETINYLU W UKŁADACH BEZTŁUSZCZOWYCH

Streszczenie

β -laktoglobulina ma zdolność wiązania hydrofobowych ligandów dzięki obecności w swej strukturze β -baryłki, co może być wykorzystane do tworzenia połączeń z palmitynianem retinyłu. Zakres pracy obejmował syntezę kompleksów β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu w roztworach buforów fosforanowych o zróżnicowanym pH. Uzyskane połączenia przeprowadzono w postaci proszków za pomocą suszenia rozpyłowego oraz sublimacyjnego ze względu na uniwersalność ich zastosowania w przemyśle spożywczym. W uzyskanych próbkach określono poziom palmitynianu retinyłu metodą HPLC oraz właściwości fizyczne, tj. zawartość wody, aktywność wody, wymiar cząstek, rozpuszczalność i zwilżalność jako parametry decydujące o jakości gotowych produktów. Badania potwierdziły możliwość utworzenia kompleksów pomiędzy β -laktoglobuliną a palmitynianem retinyłu. Wykazano istotny wpływ pH oraz temperatury suszenia na zdolność wiązania palmitynianu retinyłu przez β -baryłkę. Metoda suszenia kompleksów miała istotny wpływ na wielkość cząstek otrzymanych preparatów w formie proszku. Największym rozmiarem cząstek cechował się kompleks suszony sublimacyjnie. Badane kompleksy β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu charakteryzowały się bardzo dobrą rozpuszczalnością niezależnie od metody suszenia i parametrów procesu.

Słowa kluczowe: β -laktoglobulina, palmitynian retinyłu, właściwości wiążące, nośnik

Wprowadzenie

Wzbogacanie żywności w witaminę A, która jest rozpuszczalna w tłuszczach, odbywa się zazwyczaj z zastosowaniem nośników będących pochodnymi tłuszczów. Rosnąca świadomość żywieniowa konsumentów powoduje, że coraz częściej nabywają oni produkty z obniżoną zawartością tłuszczu lub beztłuszczowe. Może być to przyczyną niebezpiecznych dla zdrowia niedoborów witaminy A. Zbyt niski poziom witaminy A w diecie związany jest z ryzykiem wystąpienia niedowidzenia zmierzchowego

Dr A. Górską, dr inż. E. Ostrowska-Ligęza, dr inż. M. Wirkowska, dr inż. J. Bryś, Katedra Chemii; dr inż. K. Szulc, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

(tzw. kurzej ślepoty) oraz z opóźnieniem procesu podziału komórek. Witamina A w postaci wolnej jest nietrwała i wrażliwa na działanie czynników zewnętrznych, takich jak: tlen, światło, kwasy, metale. Z tego powodu procesom technologicznym towarzyszy często izomeryzacja i zmniejszenie zawartości witaminy A w produkcie. Estrы retinyłu, np. palmitynian retinyłu, są mniej podatne na zmiany strukturalne i to one są przede wszystkim stosowane do wzbogacania żywności. Zmniejszenie udziału tłuszczów w diecie związane jest z potrzebą poszukiwania nośników witaminy A innych niż tłuszczowe. Możliwości takie stwarza β -laktoglobulina. Wołowa β -laktoglobulina jest głównym białkiem frakcji serwatkowej mleka krowiego [1]. Białka serwatkowe wzbudzają zainteresowanie konsumentów ze względu na właściwości prozdrowotne [3]. Jako substancje biologicznie aktywne stosowane są do produkcji żywności funkcjonalnej, wpływającej pozytywnie na organizm człowieka [11]. Sekwencja aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym oraz wyniki badań struktury przestrzennej pozwalają na zakwalifikowanie wołowej β -laktoglobuliny do rodziny lipokalin [1, 8, 14]. Głównym elementem strukturalnym β -laktoglobuliny jest β -baryłka, zwana również kielichem. Zbudowana jest ona z 8-niciowego, antyrównoległego arkusza β otoczonego przez 4 elastyczne, ruchome pętle, regulujące dostęp ligandów do wnętrza kielicha. Dzięki obecności w swej strukturze β -baryłki, β -laktoglobulina wykazuje zdolność do wiązania w jej wnętrzu hydrofobowych związków, tj. retinolu, kwasów tłuszczowych, witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, cholesterolu itp. [14]. Wykazano również obecność drugiego miejsca wiążącego w strukturze białka – w rowku pomiędzy wstęgą I, α -helisą a C-końcowym fragmentem polipeptydu. Opisane właściwości β -laktoglobuliny stwarzają możliwości wykorzystania jej jako nośnika palmitynianu retinyłu w układach o obniżonej zawartości tłuszczu, zwłaszcza w postaci proszków. Cechy produktów spożywczych w formie sypkiej, decydujące o jakości gotowego produktu, związane są z właściwościami fizycznymi proszków. Znajomość tych właściwości pozwala na określenie cech produktów ważnych zarówno dla konsumenta, jak i producenta. W wyborze preparatu konsument zwraca szczególną uwagę na wielkość cząstek oraz ich zdolność do rozpuszczania. Zachowanie się żywności w proszku przy kontakcie z cieczą, np. z wodą, jest związane przede wszystkim z takimi jej właściwościami fizycznymi, jak: zwilżalność, rozpuszczalność, rozkład wielkości cząstek i cechy kształtu pojedynczej cząstki.

Celem pracy było otrzymanie połączeń kompleksowych β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu w postaci proszków, a następnie określenie poziomu palmitynianu retinyłu metodą HPLC w uzyskanych połączeniach i ocenienie wpływu pH oraz parametrów suszenia na zawartość witaminy A w produktach. Dodatkowo określono właściwości fizyczne kompleksów.

Material i metody badań

Badania obejmowały syntezę kompleksów β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu w stosunku molowym 1 : 2. β -laktoglobulinę otrzymano z firmy Daisco Foods International (Le Sueur, Minnesota). Chromatograficznie (HPLC) wykazano brak palmitynianu retinyłu w próbce białka. Palmitynian retinyłu oraz pozostałe odczynniki pochodziły z firmy Sigma – Aldrich (St. Louis, Minnesota). W celu otrzymania połączeń pomiędzy białkiem a ligandem do 2 % homogenicznego roztworu β -laktoglobuliny w roztworze buforu fosforanowego o pH wynoszącym odpowiednio 3,0, 5,0, 6,8 lub 7,4 dodawano stopniowo palmitynian retinyłu (rozpuszczony uprzednio w minimalnej objętości etanolu). Następnie roztwór mieszano przez 2 h w temp. 40 °C. Dodatkowo, wybrane produkty wzbogacano w laktozę w celu ochrony białka przed działaniem wysokiej temperatury podczas suszenia. Stosunek masowy laktozy do białka wynosił 5 : 1.

Połączenia w formie płynnej przeprowadza się do postaci proszku metodą suszenia rozpyłowego i sublimacyjnego. Suszenie rozpyłowe następuje w wysokiej temperaturze, natomiast suszenie sublimacyjne nie wymaga znacznego podwyższania temperatury [12]. Proces ten polega na usunięciu wody z materiału poprzez jej zamrożenie, a następnie sublimację. Zaletą tej metody suszenia jest zachowanie w produkcie pierwotnych biologicznych cech surowca, ze względu na to, że materiał, w odróżnieniu od metody suszenia rozpyłowego, nie jest poddawany działaniu wysokiej temperatury. Wadami są długi czas procesu oraz jego wysokie koszty [15, 22]. Produkty otrzymuje się w postaci proszków ze względu na wygodę, uniwersalność zastosowania w przemyśle spożywczym, stabilność przechowalniczą, łatwość dozowania oraz mniejszą objętość (w odniesieniu do produktu płynnego), co jest szczególnie istotne podczas transportu i przechowywania [5].

Suszenie rozpyłowe przeprowadzano w temp. powietrza wlotowego 120 i 160 °C przy prędkości podawania preparatu w formie płynnej wynoszącej 51,4 i 64,2 ml·min⁻¹ i przy prędkości dysku rozpyłowego 39000 obr·min⁻¹ w laboratoryjnej suszarce rozpyłowej firmy Anhydro. Przed procesem suszenia sublimacyjnego (liofilizacji) kompleks β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu zamrażano w zamrażarce uderzeniowej (Irinox) w ciągu 4 h, w temp. -40 °C. Proces liofilizacji prowadzono w liofilizatorze **Christ Gamma 1-4** LSC przy stałych parametrach: ciśnienie 63 Pa, czas 24 h, temp. 30 °C. Kontrola temperatury materiału w czasie suszenia odbywała się przy użyciu termopary.

Zawartość palmitynianu retinyłu w próbkach po ekstrakcji heksanem oznaczano metodą HPLC z użyciem chromatografu cieczowego Waters, połączonego z detektorem spektrofotometrycznym UV-Vis. Długość fali w detektorze UV-VIS wynosiła 325 nm. Do analizy stosowano kolumnę RP C18 o wymiarach 150 × 4,6 mm. Temp. kolumny wynosiła 20 °C, objętość próbki nanoszonej wahała się od 10 do 50 μ m,

a czas rozdziału wynosił 10 min. W analizie stosowano przepływ izokratyczny, a fazę ruchomą stanowił układ: heksan : izopropanol (99,6 : 0,4). Prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 1 ml/min. Analizę każdej próbki powtarzano trzykrotnie. Zawartość wody oznaczano metodą suszenia w temp. 70 °C przez 4 h [21], a aktywność wody – aparatem Rotronic model Hygroscopt DT w temp. 22 ± 1 °C [20, 21]. Wymiar cząstek proszku oznaczano przy użyciu analizatora wielkości cząstek ciał stałych w powietrzu AWK-V 97/Kamika Warszawa [21]. Rozpuszczalność oznaczano jako wysokość osadu w ml po odtworzeniu 6 g proszku w 100 ml wody o temperaturze 21 ± 1 °C [19]. Zwilżalność oznaczano jako czas potrzebny do zwilżenia wszystkich cząstek proszku zawartych w masie 0,1 g [7]. Badania właściwości fizycznych przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Kompleksy β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu, otrzymane w środowisku o pH: 3,0, 5,0, 6,8, 7,4 i suszone rozpyłowo w temp. powietrza wlotowego 120 °C, przy stosowaniu strumienia podawania surowca: 51,4 cm³/min były zróżnicowane. Badania potwierdziły istotny wpływ pH na właściwości wiążące β -laktoglobuliny (tab. 1). Kompleksy otrzymane w buforach fosforanowych o pH 6,8 oraz 7,4 charakteryzowały się znacznie większą zawartością palmitynianu retinyłu w porównaniu z produktami syntezowanymi w buforach fosforanowych o pH 3,0 oraz 5,0. Wartość pH determinuje konformację elastycznej pętli EF, zamykającej i otwierającej dostęp ligandów do wnętrza β -baryłki. W środowisku o pH 3,0 oraz 5,0 pętla EF znajdująca się w konformacji zamkniętej, stabilizowanej przez wiązanie wodorowe pomiędzy resztą kwasu glutaminowego a resztą seryny, uniemożliwia wnikanie palmitynianu retinyłu do wnętrza β -baryłki. W środowisku o pH 6,8 oraz 7,4 ligandy łączą się z białkiem dzięki otwartej konformacji pętli EF. Dochodzi wówczas do zerwania wiązania wodorowego i cząsteczki mogą wnikać do hydrofobowego wnętrza kielicha. Otrzymane wyniki są zgodne z wynikami doświadczeń Kontopidisa [8]. Wykazał on, że struktury krystaliczne β -laktoglobuliny w środowisku o pH 6,2 oraz 7,1 różnią się konformacją ruchomej pętli [16]. W pH 6,2 pętla występuje w konformacji stabilizowanej poprzez wiązania wodorowe i przez to utrudniającej dostęp do baryłki, natomiast w pH 7,1 konformacja pętli EF umożliwia wnikanie ligandów do wnętrza kielicha.

Kompleksy otrzymane w roztworach buforów fosforanowych o pH 6,8 przeprowadzono w postaci proszków metodą suszenia rozpyłowego w różnych warunkach procesu (temp. powietrza wlotowego – 120 oraz 160 °C, strumień podawania surowca – 51,4 oraz 64,2 ml/min). Wykazano wpływ temperatury na zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach (tab. 2). Poziom palmitynianu retinyłu był wyższy w próbkach suszonych rozpyłowo przy zastosowaniu temperatury powietrza wlotowego wynoszącej 120 °C. Wzrost temperatury powodował zmniejszenie zawartości palmitynianu

retinyłu w kompleksach, co może być spowodowane izomeryzacją prowadzącą do produktów cis (9-cis; 13-cis) o mniejszej aktywności biologicznej oraz degradacją witaminy A w podwyższonej temperaturze [10, 17]. Kompleksy z dodatkiem laktozy zawierały 124 $\mu\text{g/g}$ próbki (751 $\mu\text{g/g}$ białka) oraz 175 $\mu\text{g/g}$ próbki (1060 $\mu\text{g/g}$ białka) palmitynianu retinyłu, odpowiednio w produktach suszonych w temperaturze 120 °C przy strumieniu podawania surowca: 51,4 oraz 64,2 ml/min (tab. 3). Uzyskane wyniki mogą świadczyć o ochronnym działaniu laktozy na β -laktoglobulinę podczas procesu suszenia rozpyłowego [4, 13].

Tabela 1

Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu w zależności od pH roztworu buforu fosforanowego.

Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes depending on pH values of phosphate buffer solution.

Wartość pH roztworu buforu fosforanowego pH value of phosphate buffer solution	Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina-palmitynian retinyłu Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin-retinyl palmitate complexes [$\mu\text{g/g}$]
3,0	238 \pm 10
5,0	187 \pm 8
6,8	516 \pm 12
7,4	678 \pm 11

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe / Mean value \pm standard deviation; n = 3.

Zastosowanie liofilizacji, a zatem wyeliminowanie wysokiej temperatury w procesie suszenia, przyczyniło się do znacznego zwiększenia zawartości palmitynianu retinyłu w próbce.

W tab. 4. przedstawiono wybrane właściwości fizyczne kompleksów β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu otrzymanych metodą suszenia rozpyłowego i sublimacyjnego. Zawartość wody w analizowanych kompleksach β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu mieściła się w przedziale od 3,8 % (próbka A6) do 7,8 % (próbki A2 i A4). Proszki bez dodatku laktozy (A1 – A4, A7) charakteryzowały się większą zawartością wody. Podobną tendencję zaobserwowały Jakubczyk i wsp. [6]. Wyższa temperatura powietrza wlotowego, stosowana podczas suszenia rozpyłowego, przyczyniła się do zmniejszenia zawartości wody w materiale. Aktywność wody badanych kompleksów wynosiła około 0,26. Metoda suszenia kompleksów miała istotny wpływ na wielkość cząstek otrzymanych preparatów w formie proszku. Największym rozmiarem cząstek cechował się kompleks suszony sublimacyjnie (A7). Kompleksy

β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu otrzymane w wyniku suszenia rozpyłowego cechował mniejszy wymiar cząstek o około 25 μm od próbki suszonej sublimacyjnie, co z kolei miało istotny wpływ na ich zwilżalność. Produkty otrzymane metodą suszenia rozpyłowego z dodatkiem laktozy (A5, A6) cechowała bardzo dobra zwilżalność, odpowiednio 17 s oraz 16 s, niezależnie od parametrów suszenia. Tendencję tę potwierdzają badania prowadzone przez Kowalską i Lenarta [9] oraz Shittu i Lawala [18]. Poprzez zmianę warunków suszenia i dodatek węglowodanów można wpływać na zwilżalność proszku. Badane kompleksy β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu, niezależnie od metody suszenia i parametrów procesu, charakteryzowały się bardzo dobrą rozpuszczalnością.

Tabela 2

Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu, otrzymanych w postaci proszków metodą suszenia rozpyłowego lub sublimacyjnego.

Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes produced in the form of powders, using spray drying or freeze drying methods.

Warunki procesu suszenia Conditions of drying process	Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin-retinyl palmitate complexes [$\mu\text{g/g}$]
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min.	516 \pm 13
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min.	373 \pm 9
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 160 °C, material feed flux 51.4 ml/min.	476 \pm 14
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 160 °C, material feed flux 64.2 ml/min.	288 \pm 8
Suszenie sublimacyjne; ciśnienie 63 Pa, temperatura półek grzejnych liofilizatora: 30 °C Freeze drying; pressure 63 Pa, temperature of heating shelves in freeze dryer 30 °C	2180 \pm 102

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 3

Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu z dodatkiem laktozy, otrzymanych w postaci proszków metodą suszenia rozpyłowego.

Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes with lactose added, produced in the form of powders, using spray drying method.

Warunki procesu suszenia Conditions of drying process	Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu – laktoza Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin-retinyl palmitate – lactose complexes [$\mu\text{g/g}$]
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min.	124 \pm 18 (751 $\mu\text{g/g}$ białka / protein)
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min.	175 \pm 23 (1060 $\mu\text{g/g}$ białka / protein)

* Średnia wartość \pm odchylenie standardowe / Mean value \pm standard deviation; n=3.

Tabela 4

Właściwości fizyczne kompleksów β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu.

Physical properties of β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes.

Próbka Sample	Zawartość wody Water content [%]	Aktywność wody Water activity	Wymiar cząstek Particle size [μm]	Rozpuszczalność Solubility [ml]	Zwilżalność Wettability [s]
A1	7,4 \pm 0,1	0,263 \pm 0,005	77,1 \pm 2,5	0	57 \pm 1
A2	7,8 \pm 0,0	0,251 \pm 0,008	58,5 \pm 9,7	0	57 \pm 2
A3	5,4 \pm 0,0	0,240 \pm 0,001	58,6 \pm 8,7	0	34 \pm 0
A4	7,8 \pm 0,1	0,283 \pm 0,002	54,5 \pm 3,6	0	34 \pm 1
A5	4,0 \pm 0,1	0,263 \pm 0,003	80,2 \pm 13,1	0	17 \pm 1
A6	3,8 \pm 0,7	0,241 \pm 0,003	86,4 \pm 13,1	0	16 \pm 2
A7	6,4 \pm 0,1	0,248 \pm 0,004	93,5 \pm 3,6	0	90 \pm 7

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe / Mean value \pm standard deviation; n = 3.

A1 – kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min / A-1: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min;

A2 – kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min / A-2: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min;

A3 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min / A-3: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 160 °C, material feed flux 51.4 ml/min;

A4 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min / A-4: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 160 °C, material feed flux 64.2 ml/min;

A5 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu - laktoza – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min / A-5: A-2: spray dried complex of β -lactoglobulin, retinyl palmitate, and lactose: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min;

A6 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu - laktoza – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min / A-6: spray dried complex of β -lactoglobulin, retinyl palmitate, and lactose: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min;

A7 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony sublimacyjnie, temp. półek grzejnych liofilizatora: 30 °C / A-7: freeze dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: temperature of heating shelves in freeze dryer: 30 °C.

Wnioski

1. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość zastosowania β -laktoglobuliny jako nośnika palmitynianu retinyłu.
2. Stwierdzono istotny wpływ pH na zdolność wiązania palmitynianu retinyłu przez β -laktoglobulinę.
3. Stwierdzono wpływ temperatury procesu suszenia na zawartość palmitynianu retinyłu w produkcie.
4. Szczególnie dużą zawartością palmitynianu retinyłu charakteryzowały się próbki uzyskane metodą suszenia sublimacyjnego.
5. Metoda suszenia kompleksów miała istotny wpływ na wielkość cząstek otrzymanych preparatów w formie proszku. Największym rozmiarem cząstek charakteryzował się kompleks suszony sublimacyjnie.
6. Preparaty z dodatkiem laktozy otrzymane metodą suszenia rozpyłowego cechowała bardzo dobra zwilżalność.

Badania były finansowane ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2012 jako projekt badawczy nr N N312 068639.

Literatura

- [1] Blaner W.S.: Retinol binding protein: the serum transport protein for vitamin A. *Endocr. Rev.*, 1989, **10**, 308-316.
- [2] Bordin G., Cordeiro Raposo F., de la Calle B., Rodriguez A. R.: Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *J. Chrom. A.*, 2001, **928**, **1**, 63-76.
- [3] Chatterton D.E.W., Smithers G., Roupas P., Brodtkorb A.: Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin. Technological implications for processing. *Intern. Dairy J.*, 2006, **16**, 1229-1240.
- [4] De Wit J.N.: Structure and functional behavior of whey proteins. *Neth. Milk Dairy J.*, 1981, **35**, 47-64.

- [5] Gharsallaoui A., Roudaut G., Chambin O., Voilley A., Saurel R.: Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.*, 2007, **40** (9), 1107-1121.
- [6] Jakubczyk E., Gondek E., Głód K.: Charakterystyka właściwości fizycznych proszku jabłkowego otrzymanego metodą suszenia pianowo-sublimacyjnego. *Acta Agrophys.*, 2010, **15** (2), 281-291.
- [7] Jinapong N., Supphantharika M., Jammong P.: Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. Food Eng.*, 2008, **84**, 194-205.
- [8] Kontopidis G., Holt C., and Sawyer L.: Invited review: β -lactoglobulin: Binding properties, structure, and function. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87** (4), 785-796.
- [9] Kowalska J., Lenart A.: The influence of ingredients distribution on properties of agglomerated cocoa products. *J. Food Eng.*, 2005, **68**, 155-161.
- [10] McBee J.K., Kuksa V., Alvarez R., de Lera A.R., Prezdho O., Haeseleer F., Sokal I., Palczewski K.: Isomerisation of all-trans retinol to cis-retinol in bovine retinal pigment epithelial cells: dependence on the specificity of retinoid-binding proteins. *Biochem.*, 2000, **39**, 11370-11380.
- [11] McIntosh G.H., Royle P.J., Le Leu R.K., Regester G.O., Johnson M.A., Grinstead R.L., Kenward R.S., Smithers G.W.: Whey proteins as functional food ingredients. *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 425-434.
- [12] Mellor J.D., Bell G.A.: Freeze-drying. In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Eds. B Caballero, L.C. Trugo, P.M. Finglas. Academic Press Elsevier Science Ltd., Oxford, UK, 2003.
- [13] Murray B.S., Liang H.J.: Evidence for conformational stabilization of β -lactoglobulin when dried with trehalose. *Langmuir.*, 2000, **16**, 6061-6063.
- [14] Perez Dolores M., Calvo M.: Interaction of β -Lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: A review. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 978-988.
- [15] Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A.: *Ogólna technologia żywności*. WNT, Warszawa 1996.
- [16] Ragona L., Colombo G., Catalano M., Molinari H.: Determinants of protein stability and folding: Comparative analysis of beta-lactoglobulins and liver basic fatty acid binding protein. *Proteins*, 2005; **61** (2), 366-376.
- [17] Schwartz S.: Cis/trans isomerization of retinyl palmitate in food. *J. Agric. Food Chem.*, 1987, **35**, 748-751.
- [18] Shittu T.A., Lawal M.O.: Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food Chem.*, 2007, **10**, 91-98.
- [19] Sorensen I., Krag J., Pisecky J., Westergaard V. (Eds.): *Analytical methods for dry milk products*. De Forenede Trykkerier A/S, Copenhagen, Denmark, 1978.
- [20] Sułek A., Domian E.: Wpływ ciśnienia homogenizacji na zawartość tłuszczu powierzchniowego w suszonych rozpyłowo emulsjach stabilizowanych białkami mleka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6** (73), 168-176.
- [21] Szulc K., Lenart A.: Water vapour adsorption properties of agglomerated baby food powders. *J. Food Eng.*, 2012, **109**, 135-141.
- [22] Witrowa-Rajchert D., Samborska K.: Metody suszenia mikroorganizmów i produktów syntezy mikrobiologicznej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **2**(31), 5-15.

ATTEMPT TO USE β -LACTOGLOBULIN AS CARRIER FOR RETINYL PALMITATE IN NON-FAT SYSTEMS

Summary

β -lactoglobulin has a capacity to bind hydrophobic ligands owing to the presence of β -barrel in its structure, and this capacity can be utilized to create compounds with retinyl palmitate. The scope of this

research study comprised the synthesis of complexes of β -lactoglobulin and retinyl palmitate in phosphate buffer solutions of various pH values. The products obtained were spray and freeze dried in order to produce powders thereof due to the universality of their applications functionality in food industry. In the samples produced, there were determined the content of retinyl palmitate by a HPLC method and the physical parameters, i.e: water content, water activity, size of particles, solubility, and wettability as the parameters critical to the quality of final products. The research confirmed the possibility of forming complexes between β -lactoglobulin and retinyl palmitate. It was proved that the temperature of drying process and the pH value had a significant impact on the binding capacity of the β -barrel. The drying method had a significant impact on the particle size of the preparations in the form of powders. The complex obtained by freeze drying was characterized by the largest size of the particles. The studied complexes of β -lactoglobulin and retinyl palmitate had a very good solubility regardless of the drying method and process parameters.

Key words: β -lactoglobulin, retinyl palmitate, binding properties, carrier 