



# SÜT PROTEİNLERİ KAYNAKLI BİYOAKTİF PEPTİTLER

Özer KINIK, Oğuz GÜRSOY

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, 35100-Bornova/İzmir

Geliş Tarihi : 18.03.2002

## ÖZET

Süt proteinleri, sindirim enzimleri veya sütün fermantasyonu sırasında enzimatik olarak meydana gelen çeşitli biyolojik olarak aktif peptitlerin kaynağıdır. Bu peptitler opioid reseptörlere bağlanma, angiotensin I-dönüştürücü enzimin (ACE) inhibisyonu, antimikrobiyal, antihipertansiyon, antioksidatif, antitrombotik etki, immün sistemin düzenlenmesi ve mineral bağlayıcılık gibi farklı biyokimyasal ve fizyolojik etkilere sahiptirler. Bu makalede süt proteini bazı biyoaktif peptitlerin kimyasal yapısı, fizyolojik özellikleri, üretimleri ve ürünlerdeki oluşum mekanizmaları mevcut bilgiler ışığında derlenecek ve bunların fonksiyonel gıda ingrediyesi olarak kullanım potansiyelleri değerlendirilecektir.

**Anahtar Kelimeler :** Biyoaktif peptit, Süt

## MILK PROTEINS-DERIVED BIOACTIVE PEPTIDES

### ABSTRACT

Milk proteins are a source of various biologically active peptides, which are formed enzymatically either by digestive enzymes or during milk fermentation. These peptides have been shown to have different biochemical and physiological effects, such as binding to opioid receptors, inhibition of angiotensin I-converting enzyme (ACE), antimicrobial, antihypertensive, antioxidative, antithrombotic, immunomodulatory and mineral binding effects. This review will focus on chemical structure, physiological properties, production and formation mechanisms in dairy food of milk-derived bioactive peptides and their usage potential as functional food ingredient.

**Key Words :** Bioactive peptides, Milk

### 1. GİRİŞ

Beslenme değeri açısından bakıldığında süt ve süt ürünleri değerli komponentler ve biyolojik aktif maddeler içermektedir. Bunların başlıcalarını; kalsiyum, biyoaktif peptitler, folik asit, B<sub>6</sub> (pidoksin) ve B<sub>12</sub> (siyanokobalamin) vitaminleri ile konjuge linoleik asit (CLA) oluşturmaktadır (Preuffer and Schrezenmeir, 2000). Yapısal protein içinde inaktif olan ancak enzimatik aktivite sonucu açığa çıktığında spesifik özellikleriyle önemli fizyolojik rollere sahip aminoasit zincirleri “fonksiyonel peptitler” olarak tanımlanmaktadır

(Anonymous, 1998). Bunlar çoğunlukla “biyoaktif peptitler” olarak da bilinmektedir (Froetschel, 1996; Tirelli et al., 1997; Anonymous, 1998). Bitkisel kaynaklı proteinler gibi hayvansal kaynaklı proteinler de potansiyel biyoaktif aminoasit zincirleri içermektedir (Anonymous, 2001a) ve bu açıdan süt proteinleri ve özellikle de kazeinler biyolojik aktif peptitlerin önemli bir kaynağı olarak gösterilmektedir (Pihlanto-Leppälä, 2001). Son yıllarda temel peyniraltı suyu proteinleri olarak bilinen  $\alpha$ -laktalbumin ve  $\beta$ -laktoglobulin’inde biyoaktif aminoasit zincirleri içerdiği gösterilmiştir (Tablo 1) (Meisel, 1998; Pihlanto-Leppälä, 2001). Tablo 1’den de görüldüğü gibi, süt proteinleri

kaynaklı biyoaktif peptitlerin antihipertansiyon, antimikrobiyal, antioksidatif, antitrombotik, immunomodulator, mineral bağlayıcılık ve opioid etki (yatıştırıcı etki) gibi farklı fizyolojik biyoaktiviteleri bulunmaktadır (Meisel, 1997; Meisel, 1998; Korhonen and Pihlanto-Leppala, 2000). Sütün fizyolojik bazı biyoaktif etkileri süt içindeki tek bir komponente bağlı iken, bazı biyoaktiviteler komponentlerin ortak etkisi sonucu oluşmaktadır. Bu bağlamda, biyoaktif peptitlerin biyoaktivitelerini tam olarak gösterebilmesi için diğer bazı peptitler ve sütin peptit olmayan diğer

komponentleri ile interaksiyona girmesi gerekebilmektedir. Yani bazı biyoaktiviteler farklı komponentlerin sinerjik etkisinin bir sonucudur (Schanbacher et al., 1998). Proteinlerin yapısında bulunan biyolojik olarak aktif yapıdaki aminoasit zincirleri, in-vitro şartlarda enzimatik olarak ve/veya in-vivo şartlarda proteinlerin gastrointestinal sindirimi sonucu meydana gelmektedir. Ayrıca, kimyasal sentez tekniği potansiyel biyoaktif peptid zincirlerinin doğrulanmasında kullanılabilir (Meisel, 1998).

Tablo 1. Süt Proteinleri Kaynaklı Biyoaktif Peptitler, Kaynakları ve Biyoaktiviteleri

Biyoaktif Peptit	Kaynak Protein	Biyoaktivite
Kasomorfinler	$\alpha$ -, $\beta$ -Kazein	Opioid agonist
$\alpha$ -Laktorfin	$\alpha$ -Laktalbumin	Opioid agonist
$\beta$ -Laktorfin	$\beta$ -Laktoglobulin	Opioid agonist
Laktoferoksinler	Laktoferrin	Opioid agonist
Kasokinler	k-Kazein	Opioid agonist
Kasokininler	$\alpha$ -, $\beta$ -Kazein	ACE* inhibitörü
İmmunopeptitler	$\alpha$ -, $\beta$ -Kazein	İmmünomodulator
Laktoferrisin	Laktoferrin	Antimikrobiyal
Kasoplatelinler	k-Kazein, transferrin	Antitrombotik
Fosfopeptitler	$\alpha$ - $\beta$ -Kazein	Mineral bağlayıcılık

\*: Angiotensin I-dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü

Bu makalede süt proteini bazlı peptitlerin kimyasal yapısı, fizyolojik özellikleri, ürünlerdeki oluşum mekanizmaları mevcut bilgiler ışığında derlenecek ve bunların fonksiyonel gıda ingrediyesi olarak kullanım potansiyelleri değerlendirilecektir.

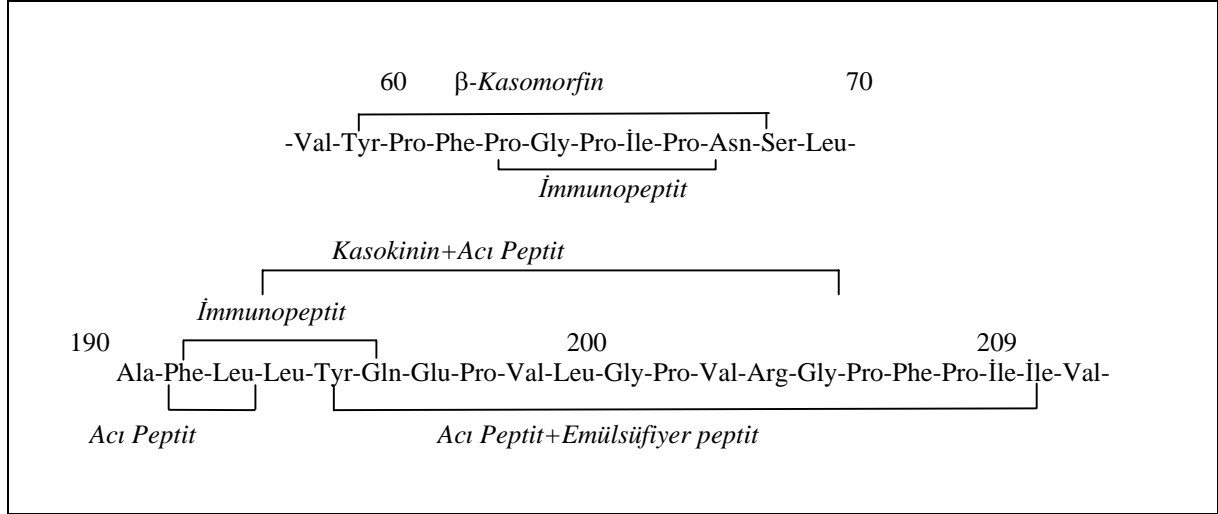
## 2. BİYOAKTİF PEPTİTLERİN KİMYASAL YAPISI

Genel olarak sütün başlıca protein fraksiyonları; kazeinler,  $\alpha$ -laktalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin, immüoglobulinler, laktoferrin, proteoz-peptid fraksiyonları (ısıya stabil, asitte çözünebilen fosfolipoproteinler) ve minör peyniraltı suyu proteinleri olan transferrin ve serum albuminidir. Bu proteinlerden biyoaktif peptitler gastrointestinal proses sırasında açığa çıkabilmektedir. Genellikle bu peptitler hormon benzeri özellikleri ile çeşitli fizyolojik etkilere sahiptirler. Biyoaktif peptitler doğal protein yapısında aminoasit zincirleri içerisine kodlanmışlardır (Clare and Swaisgood, 2000). Biyoaktif peptitler her molekülünde genellikle 3 ila 20 aminoasit kalıntısı bulunduran kısa peptitlerdir (Pihlanto-Leppälä, 2001). Fakat 64 aminoasit içeren kazeinomakropeptit (CMP) bunların istisnasıdır. Küçük boyutlu ve hidrofobik özellikte olmaları daha kolay absorbe edilmelerine yardımcı olmaktadır

(Anonymous, 1998). Bu peptitler protein molekülü içerisinde inaktif durumdadır (Meisel, 1997; Korhonen and Pihlanto-Leppala, 2000). Proteinleri in-vivo ve in-vitro şartlardaki enzimatik sindirim ve parçalanma sırasında açığa çıkarak aktif duruma geçmektedirler. Böylesine parçalanmalar neticesinde de birçok süt bazlı biyoaktif peptit multifonksiyonel özelliklere sahiptir (Meisel, 1997). Spesifik peptid zincirleri iki veya daha fazla biyolojik aktivite gösterebilir. Bu durum peptid zincirindeki aminoasit kompozisyonu ve dizilişine bağlı olup peptitlerin C-terminal veya N-terminal pozisyonundaki aminoasit son derece önem taşımaktadır. Angiotensin I-dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü aktivitesi için, C-terminal pozisyonda prolin aminoasidinin bulunması gerekmektedir. Örneğin  $\beta$ -kazein'nin mikrobiyal bir enzimle parçalanmasıyla elde edilen antihipertansiyon etkisine sahip bir biyoaktif peptid zinciri 7 aminoasitten oluşmaktadır (Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln). Bu peptid kuvvetli bir ACE inhibitörü aktivitesi göstermezken peptid zincirinden glisin (Gln) aminoasidi uzaklaştırıldığında 6 aminoasit içeren peptidin antihipertansiyon etkisi yanında kuvvetli ACE inhibitörü olarak aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Korhonen and Pihlanto-Leppala, 2000). Yapılan çalışmalar 6 aminoasitten oluşan peptidin C-terminal ucundaki prolin aminoasidinin ve aminoasit zincirinin ACE inhibisyonu için önemli olabileceğini göstermiştir.

Bilindiği gibi prolin sindirim enzimleri ile parçalanmaya dayanıklı bir aminoasittir (Korhonen and Pihlanto-Leppala, 2000). Benzer şekilde  $\beta$ -kazein'nin aminoasit zincirindeki farklı peptit grupları farklı biyolojik etkiler gösterebilmektedir.

Bu peptid bölgeleri proteolitik parçalanmadan özellikle korunmakta ve "stratejik bölgeler" olarak isimlendirilmektedir. Şekil 1'de  $\beta$ -kazein'in farklı stratejik bölgelerinden örnekler verilmiştir (Meisel, 1998).



Şekil 1. Süt proteini bazı peptitlerdeki multifonksiyonel aktivitenin şematik gösterimi ve sığır  $\beta$ -kazein'inin temel yapısındaki stratejik bölgeler.

## 2. 1. Opioid Peptitler

Süt proteinleri tarafından sağlanan en merak uyandırıcı biyoaktif etkilerden birisi de opioid peptitler ile antagonistlerinin muhtemel aktiviteleridir. Opioid peptitler sinir sistemi üzerinde olumlu etkiler gösteren (Froetschel, 1996; Pihlanto-Leppälä, 2001) ve morfin benzeri özelliklere sahip (Clare and Swaisgood, 2000) peptitler olarak tanımlanabilmektedir. Opioid peptitler, intestinal epitel ve diğer hücreler üzerindeki opioid reseptörlere bağlanabilen, kasomorfinler ve eksorfinler gibi kısa (5-10 aminoasit içeren) peptitlerdir (Froetschel, 1996; Schanbacher et al., 1998). Bu peptitler,  $\beta$ -kazein (60.-70. fraksiyon:  $\beta$ -kasomorfin),  $\alpha_{s1}$ -kazein (90.-96. fraksiyon:  $\alpha$ -kasomorfin),  $\beta$ -laktoglobulin (102.-105. fraksiyon:  $\beta$ -laktorfin) ve  $\alpha$ -laktalbumin (50.-53. fraksiyon:  $\alpha$ -laktorfin) kaynaklıdır ve bunlar içerisinde de en kuvvetli opioid aktivite gösteren biyoaktif peptit  $\beta$ -kasomorfin'dir (Schanbacher et al., 1998). Kasomorfinler gastrik boşalma ve intestinal hareketlilik oranını düşürerek gastrointestinal fonksiyonlara etki ederler (Anonymous, 1998; Froetschel, 1996; Schanbacher et al., 1998; Pihlanto-Leppälä, 2001). Ayrıca aminoasitlerin (L-lösin) ve elektrolitlerin emilimini de arttırmaktadırlar. Son yapılan çalışmalarda da  $\alpha$  ve  $\beta$ -kasomorfin'lerin insan göğüs kanserine yol açan T47D hücrelerindeki

somatostatin reseptörlerinin çoğalma ve interaksyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Pihlanto-Leppälä, 2001).

Bütün "tipik opioid" peptitlerin ön bileşiği; proopiomelanokortin (endorfinler), proenkefalin (enkefalinler) ve prodynorfin (dynorfinler) olarak isimlendirilen 3 proteindir (Tirelli et al., 1997; Pihlanto-Leppälä, 2001). Bütün tipik opioid peptitler aynı N-terminal zincire sahiptirler (Tyr-Gly-Gly-Phe). Opioid peptitler aktivitelerini hedef hücrelerin spesifik reseptörlerine bağlanarak göstermektedir. Bu reseptörler spesifik fizyolojik etkilerden sorumludur. Örneğin  $\mu$ -reseptörü heyecanlı davranışlar ve intestinal hareketliliğin baskılanması,  $\sigma$ -reseptörü heyecanlı davranışlar ve  $k$ -reseptörü yatıştırıcı etki ve gıda emiliminden sorumludur (Pihlanto-Leppälä, 2001). Opioidler gastrointestinal fonksiyonlara ise iki şekilde etki etmektedir:

1. Düz kaslara etki ederek geçiş süresini kısaltma
2. Elektrolitlerin intestinal taşınımına etki [opioid peptitlerin anti-salgı (antisecretory effect) özelliklerini göstermektedir].

Bu iki tip etki, intestinal opioid reseptörlerin farklı alt tipleri üzerindeki yatıştırıcılarla ilgili olabileceği sanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda periferel dokularda en az 5 alt reseptör tipinin bulunduğu

gösterilmiştir:  $\mu$ ,  $\sigma$ ,  $k$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$  (Lazarus and Bryant, 2001; Pihlanto-Leppälä, 2001). Bunlar opioid reseptör ligantlar olarak tanımlanabilir.

Farklı ön proteinlerden oluşan opioid peptitler “tipik olmayan” opioid peptitler olarak da bilinmektedir. Bunlar N-terminal bölgelerinde (tirosin dışında) farklı aminoasit zincirleri taşımaktadırlar. Tipik olmayan opioid peptitlerin N-terminal zinciri Tyr-X-Phe veya Tyr-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-Phe şeklindedir (Tirelli et al., 1997; Pihlanto-Leppälä, 2001). N-terminal uçta tirosin rezidüsü ve 3. ve 4. pozisyonda diğer bir aromatik aminoasidin bulunması, opioid reseptörlerin bağlanma bölgeleri için uygun, en önemli yapısal düzenleme şeklindedir (Pihlanto-Leppälä, 2001).

## 2. 2. Angiotensin I-Dönüştürücü Enzim İnhibisyonu Aktivitesine Sahip Peptitler (ACE-inhibitörü Biyoaktif Peptitler)

Angiotensin I-dönüştürücü enzim (ACE) ekzo-peptidazdır ve çeşitli peptit substratlarının C-terminal uçlarından dipeptitleri açığa çıkarmaktadır (Schanbacher et al., 1998; Pihlanto-Leppälä, 2001). ACE (EC 3.4.15.1) klasik olarak perifer kan basıncını düzenleyen renin-angiotensin sistemi ile ilişkilendirilmektedir (Meisel et al., 1997). ACE, angiotensinojen’den açığa çıkarılan angiotensin I’i kuvvetli damar daraltıcı angiotensin II’ye renin ile dönüştürerek kan basıncını artırmaktadır (Kınık ve Akbulut, 1994; Schanbacher et al., 1998; Donagh et al., 1999; Pihlanto-Leppälä, 2001). ACE ayrıca damar genişletici (vasodilative) brady-kinin enzimini parçalamakta ve adrenal kortekste aldosteron’un açığa çıkmasını da stimüle etmektedir (Kınık ve Akbulut, 1994; Donagh et al., 1999; Clare and Swaisgood, 2000; Pihlanto-Leppälä, 2001). ACE-inhibitörü peptitler bu etkileri bloke ederek kan basıncını düzenlemektedir (Schanbacher et al., 1998; Pihlanto-Leppälä, 2001). Genel olarak ACE-inhibitörü peptitlerin C-terminal uçlarında arginin aminoasidi bulunmaktadır (Meisel, 1998). ACE-inhibitörleri ilk olarak yılan zehirinden elde edilmişlerdir. Ardından çeşitli ACE-inhibitörleri, enzimatik hidrolizatlar ve kazein, jelatin ve mısır gibi gıdaların proteinlerinin spesifik peptitlerinde belirlenmişlerdir (Pihlanto-Leppälä, 2001). Günümüzde kazein ve serum proteini kaynaklı birçok ACE-inhibitörü peptit tanımlanmıştır. Örneğin  $\alpha$ -laktalbumin’in pepsin ile muamelesi sonucu ortaya çıkan 50.-53. fragment, tripsin ile muamelesi sonucu açığa çıkan 99.-108. ve 104.-108. fragmentler, önce pepsin ardından tripsin ve kimotripsin ile muamele sonucu açığa çıkan 50.-52. fragmentler ACE-inhibitörü etki göstermektedir (Pihlanto-Leppälä, 2001). Yine  $\alpha$ <sub>s1</sub>-kazeinin peptit zincirindeki 23.-34, 23.-27.ve 294.-299.

fraksiyonları,  $\beta$ -kazein’in 177.-183. fraksiyonları ve k-kazeinin 63.-65. fraksiyonları da ACE-inhibitörüdür ve kasokininler olarak isimlendirilmektedirler (Schanbacher et al., 1998; Clare and Swaisgood, 2000; Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2000).

## 3. BİYOAKTİF PEPTİTLERİN ÜRETİMİ

Biyoaktif peptitler çeşitli şekillerde meydana gelebilmektedir. Bunların en çok bilinenleri; gıda proteinlerinin enzimatik hidrolizi, fermente gıdalardaki mikrobiyal aktiviteye bağlı oluşum ve gıdaların işlenmesi sırasında kullanılan ısı, alkali veya asit şartların etkisi sonucu protein hidrolizi ile biyoaktif peptit oluşumudur (Tirelli et al., 1997; Pihlanto-Leppälä, 2001). Süt proteinleri açısından bakıldığında ise, biyoaktif peptitler süt proteinlerinden 3 farklı yolla üretilebilmektedir (Tablo 2) (Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2000).

Tablo 2. Biyoaktif Peptitler Süt Proteinlerinden Üretim Yöntemleri

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sindirim enzimleri ile enzimatik hidroliz</li> <li>• Proteolitik starter kültürler ile sütün fermantasyonu</li> <li>• Proteolitik mikroorganizma kaynaklı enzimlerin etkisi ile</li> </ul> |
|---|

Biyoaktif peptitler proteinlerin sınırlı hidrolizi sonucu açığa çıkmaktadır. Şimdiye kadar biyoaktif peptitlerin üretimi için en bilinen yol farklı endüstriyel büyüklükte tekniklerin kullanımıyla yapılan enzimatik parçalanmadır. Pankreatik enzimler, özellikle tripsin, bilinen birçok biyoaktif peptidin kimyasal karakterizasyonu ve tanımlanması için kullanılmaktadır. Örneğin ACE-inhibitörü peptitler yaygın olarak tripsin kullanılarak üretilmektedir. Bununla beraber bazı alkalaz, kimotripsin, pankreatin, pepsin gibi enzimler ile bakteriyel ve fungal kaynaklı enzimlerin de içinde bulunduğu proteinazların farklı kombinasyonları kullanılarak biyoaktif peptitler üretilebilmektedir (Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2000; Pihlanto-Leppälä, 2001).

Proteinlerin hidrolizinden sonra, hidrolizatlardaki farklı peptitler fraksiyonalize edilmekte ve çeşitli yöntemlerden faydalanılmak suretiyle zenginleştirilmektedir. Ultrafiltrasyon membranları (membran filtrasyon teknikleri) spesifik peptit fraksiyonlarının zenginleştirilmesinde başarıyla kullanılmaktadır (Bargeman et al., 2000; Pihlanto-Leppälä, 2001). Bu amaçla ultrafiltrasyon membran reaktör, antitrombotik peptitlerin üretimi için biyoaktif fragmentler ile zengin permeatın sürekli

ekstraksiyonu için kullanılmaktadır. Pihlanto-Leppälä et al. (1996) tarafından yapılan bir çalışmada, peyniraltı suyu proteini kaynaklı opioid peptitleri içermesine rağmen ( $\alpha$  ve  $\beta$ -laktorfinler), pepsin ile hidrolize edilmiş  $\alpha$ -laktalbumin'den ve hem pepsin ve tripsin hem de pepsin, tripsin ve kimotripsin karışımları kullanılarak  $\beta$ -laktoglobulin'den elde edilen 1kDa'dan küçük fraksiyonların opioid özellikler göstermediği bildirilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda aynı araştırmacılar buradaki 1kDa'dan küçük fraksiyonlarda ACE-inhibitörü aktivitesi belirlemişler ve bu aktiviteyi test edilen diğer fraksiyonlardan daha yüksek bulmuşlardır. Bu sonuçlar, peyniraltı suyu proteini kaynaklı ACE-inhibitörü peptitlerin zenginleştirilmesi için ultrafiltrasyon tekniğinden yararlanılabileceğini göstermektedir. Bu reaktörlerde negatif yüklü membranlar, peyniraltı suyu hidrolizatlarından tuzun ayrılması ve antibakteriyel özellikli peyniraltı suyu kationik peptitlerinin zenginleştirilmesi için kullanılmaktadır. Daha açık bir ifade ile biyoaktif peptitler ile membran yüzeyi arasındaki elektriksel yük etkileşimlerinin sonucu olarak peptitlerin ayrılması sağlanabilmektedir (Bargeman et al., 2000). Bu teknik ve özellikle son yıllarda tanımlanan elektro-membran filtrasyon (EMF) tekniği (Bargeman et al., 2000) düşük moleküler kütleli peptitlerin ayrılmasında yeni fırsatlar sağlamaktadır. Teknikle gram hatta kilogram seviyelerinde zenginleştirme yapılabilmektedir. Benzer başka çalışmalarda,  $\alpha$ -laktorfin'nin ultrafiltrasyon reaktöründe keçi sütü kaynaklı peyniraltı suyunun sürekli hidrolizi ile elde edilebildiği belirtilmektedir (Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2000; Pihlanto-Leppälä, 2001).

#### 4. SÜT ÜRÜNLERİNİN ÜRETİMİ SIRASINDA BİYOAKTİF PEPTİTLERİN OLUŞUMU

Biyoaktif peptitler süt ürünlerinin üretimi sırasında açığa çıkabilmektedir (Tirelli et al., 1997). Hidrolize süt proteinleri, hipoallerjenik bebek formülasyonları (reçeteleri), klinik uygulamalar ve gıda ingrediye olarak kullanılmaktadır. Süt yapısında bulunan plazmin gibi doğal proteinazlar, gıda işleme ve depolama sırasında proteinleri hidrolize edebilmektedir. Bunların yanında bakteriyel starter kültürler, protein yapısı içindeki peptit ve aminoasitlerin parçalanmasından sorumlu çok sayıda proteolitik enzime (hücre duvarına bağlanan proteinaz ve birçok hücre içi peptidaz) sahiptir (Pihlanto-Leppälä, 2001). Laktik asit bakterilerinin proteolitik enzim sistemi, aminoasitler, dipeptitler,

tripeptitler ve en çok 18 aminoasit içeren oligopeptitler için spesifik taşıma sistemi sağlamaktadır. Daha uzun oligopeptitler hücre içine transfer edilememekte ve hücre lizisinden sonra hücre içi peptidazlar ile parçalandığında fermente süt ürünlerinde biyoaktif peptitlerin oluşumunu sağlayabilmektedir. Gastrointestinal sistemde, sindirim enzimleri uzun oligopeptitleri ileri parçalanmaya uğratabilir ve bu durum biyoaktif peptitlerin serbest kalmasını sağlar. Bağırsakta serbest kalan bir biyoaktif peptit, lokal olarak fizyolojik etki gösterebilir veya intestinal hücre duvarından geçerek kan dolaşımı ile, sonradan oluşacak fizyolojik şartlara bağlı olarak, sinir sistemi, immün sistem, vasküler ve endokrin sistemdeki bir organa ulaşır (Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2000).

Fermantasyon sırasında kazeinin parçalanmasıyla çeşitli uzunlukta oligopeptitler açığa çıkmaktadır. Bu peptitler diğer enzimler ile parçalandığında biyoaktif peptitlerin veya bunların ön bileşiklerin oluşumu gerçekleşmektedir (Tirelli et al., 1997; Pihlanto-Leppälä, 2001). Yukarıda da belirtildiği gibi, fermente süt ürünleri içinde, laktik asit bakterilerinin hücre içi peptidazları, lizisten sonraki ileri parçalanmalarla ilişkilidirler.

Fermente süt ürünlerinde kasomorfınler, ACE-inhibitörü peptitler ve fosfopeptitlerin tespiti ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde, fermente süt ürünlerinden peynirin, doğal bir bileşen olarak fosfopeptitleri içerdiği ve peynir olgunlaşması sırasındaki sekonder proteoliz aşamasının ACE-inhibitörü peptitler gibi biyoaktif peptitlerin oluşumunda önemli bir basamak olduğu belirtilmektedir (Pihlanto-Leppälä, 2001). Sütteki ACE-inhibitörü aktivitenin, starter kültür olarak *Lactobacillus helveticus* ve *Saccharomyces cerevisiae* içeren Calpis ekşi süütünün fermantasyonu sırasında arttığı bulunmuştur. İki ACE-inhibitörü peptit, Val-Pro-Pro ve Ile-Pro-Pro Calpis ekşi süttünden izole ve identifiye edilmiştir (Nakamura et al., 1995). Buna karşın Pihlanto-Leppälä et al. (1998) tarafından yapılan çalışma, ticari laktik starterlerin, peyniraltı suyu veya kazein proteinlerinden ACE-inhibitörü peptitleri üretmediğini göstermiştir ve araştırmacılar tarafından bu aktivite için daha ileri proteoliz gerektiği bildirilmiştir. Diğer taraftan aynı araştırmacılar tarafında Finlandiya'da üretilen yöresel bir fermente süt ürününde ACE-inhibitörü peptit tanımlanmıştır. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Lactococcus lactis subsp. cremoris* suşları tarafından üretilen bir çok kazein kaynaklı ACE-inhibitörü peptidin fermente sütlerinde bulunduğu bildirilmektedir (Pihlanto-Leppälä, 2001).

Belem et al. (1998) tarafından *Kluyveromyces marxianus* ile peyniraltı suyu fermantasyonundan biyoaktif peptit zinciri üretimi çalışılmıştır. Moleküler ağırlıkların değerlendirilmesi ile tanımlanan ve  $\beta$ -laktoglobulin kalıntısı olan iki biaktif peptit zinciri (f98-132 ve f4-31) elde edilmiştir. Bu peptit zincirlerinin opioid ve antihipertansiv etkileri olan tetra peptit  $\beta$ -laktorfini içerdiği için, *K. marxianus* ile peyniraltı suyu fermentasyonu sonucu elde edilen oligopeptitlerin de opioid ve antihipertansiv olabileceklerine işaret edilmektedir. Haileselassie et al. (1999) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus casei* enzimi kullanılarak yapılan peynirlerde biyoaktif peptitlerin varlığı araştırılmıştır. Üretilen peynirlerde özellikle antihipertansiv peptitlerin varlığı belirlenmiştir.

## 5. BİYOAKTİF PEPTİTLERİN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİLERİ

Biyoaktif peptitler ile ilgili olarak süt ürünleri tüketiminin etkileri başlıca 4 alanda incelenebilir: sindirim sistemi, bireysel savunması sistemi veya immün sistem, kardiyovasküler (kalp-damar) sistem ve sinir sistemi. Bunun dışında sindirim sistemindeki mevcut bakterilerin gelişiminin desteklenmesi ve mineral absorpsiyonunun artması da diğer etkiler olarak sıralanabilir.

### 5. 1. Sindirim Sistemi Üzerine Etkiler

Biyoaktif peptitlerin en bilinen gastrointestinal etkileri gastrik boşalma ve intestinal hareketliliğin azaltılmasıdır (antidiyareal etki) (Tirelli et al., 1997; Anonymous, 1998; Donagh et al., 1999; Pihlanto-Leppälä, 2001). Bu etki naloxone tarafından önlenmektedir. Naloxone opioid reseptörlerin spesifik antagonistidir. Naloxone aktivitesi, opioid aktiviteli peptitleri içeren maddelerin tanımlanmasında mutlak dikkate alınması gereken bir noktadır. Bazı fonksiyonel peptitlerin, tavşan ileumunda (bağırsağın son kısmı) anti-salgı etkisi ve köpeklerde kan insülin seviyelerini düzenleyici etkisi belirlenmiş ve bu etkiler insanlar üzerinde de doğrulanmıştır (Anonymous, 1998). Yine, k-kazein kaynaklı kazeinomakropeptit (CMP) sıçanlarda, intestinal hücreler tarafından salgılanan ve doyumluk hissi veren cholecystokininin (CCK) üretimini azaltmaktadır (Anonymous, 1998; Tome and Ledoux, 1998). Yapılan çalışmalarda insanlarda da aynı etkinin gözlemlendiği belirlenmiştir (Anonymous, 1998). Bu sonuçlar gastrointestinal rahatsızlıkların önlenmesi ve tedavisi için yeni bir perspektif açmaktadır.

### 5. 2. İmmün Sistem Üzerine Etkiler

Bireysel savunma mekanizmaları oldukça farklı ve karmaşık bir yapıya sahiptir. Diyet bileşimi de bunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu bağlamda özellikle fermente süt ürünleri, protein içerikleri ve aktif starter kültürleri içermelerinden dolayı son derece önemlidirler. Fonksiyonel peptitlerin immün sisteme etkileri, antimikrobiyal etki (patojen bakterilerin inhibisyonu) ve immünomodülatör etki (immün cevabın stimülasyonu) olarak iki alt başlık altında incelenebilir.

#### 5. 2. 1. Antimikrobiyal Etki

İmmüoglobulin, laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozim antimikrobiyal proteinler olarak bilinmektedir. Bunların ve diğer süt proteinlerinin parçalanmasıyla ortaya çıkan biyoaktif peptitlerin de antimikrobiyal aktivitesi bulunmaktadır (Donagh et al., 1999; Hoer and Bostwick, 2000). Örneğin, in-vitro şartlarda laktoferrin fragmentlerinin patojenik bakterilerin gelişimini inhibe ettiği görülmüştür (Tome and Ledoux, 1998).  $\alpha$ -kazeinin "isracidin" olarak bilinen fraksiyonu (N-terminal 1.-23. fragment) fare ve koyunlarda *Staphylococcus aureus*'a karşı antibiyotik benzeri etki göstermektedir (Anonymous, 1998; Tome and Ledoux, 1998). Yine  $\beta$ -kazein fragmentleri ise *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı koruyucu etkiye sahiptir (Anonymous, 1998). Bu sonuçlar ilgili peptitlerin hayvanlara enjeksiyonu ile elde edilmiştir. Sindirim ile olabilecek etkiler ise halen araştırılmaktadır. Ancak mevcut bilgiler süt ve ürünlerinin özellikle anne sütünün bebeklerin korunmasında son derece önemli rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca sindirim sistemindeki proteolitik aktivitenin sınırlı oluşu nedeniyle süt ve ürünleri ile yüksek konsantrasyonlarda biyoaktif peptit alımı önem taşımaktadır. Bu durum fermente süt ürünlerinin önemini bir kat daha artırmaktadır.

#### 5. 2. 2. İmmünomodülatör Etki

Bilindiği gibi immün sistem bireyin bakteriyel, viral, parazitik ve fungal enfeksiyonları ve kansere karşı korunmasında merkezi bir rol oynamaktadır. Biyoaktif peptitlerin, fagositoz, antikor üretimi, makrofaj sitotoksik aktivite, lenfosit proliferasyonu (arttırımı), T-lenfositlerini düzenleme, hücre öldürücü aktivite gibi etki ve mekanizmalarla immünomodülatör etki gösterdiği bildirilmektedir (Tirelli et al., 1997; Gill and Rutherford, 1998; Tome and Ledoux, 1998; Anonymous, 2001b). Ancak söz konusu etkiler doza bağlı olarak değişmektedir. Örneğin bazı kasomorfinlerin düşük konsantrasyonlarda lenfosit proliferasyonunu

baskıladığı, yüksek konsantrasyonlarda ise stimüle ettiği bildirilmektedir (Gill and Rutherford, 1998).

### 5. 3. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkiler

Süt ve fermente süt ürünü kaynaklı aktif peptitlerin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri antitrombotik ve antihipertansiv peptitlere bağlıdır (Anonymous, 1998).

#### 5. 3. 1. Antitrombotik Etki

Fibrinojen, trombositlerin (2-3 mikron çapında renksiz, çekirdeksiz, küresel bir kan elementi olup kanın pıhtılaşmasında önemli rolü vardır) yüzeyine lokalize olmuş glikoprotein reseptörlerine bağlanmak suretiyle kanın pıhtılaşmasında önemli rol oynamaktadır. Fibrinojenin bu etkiyi gösteren kısmı gama zinciri olarak bilinmektedir. Fibrinojenin gama zinciri ile inek sütü k-kazeininin peptit zinciri arasında yapısal benzerlikler bulunmaktadır. Bu durum fibrinojen peptidinin yapısal benzeri olmasının sonucu olarak, k-kazeine ait peptit zinciri, trombosit reseptörleri için fibrinojenin gama zinciri ile birleşmekte böylece trombosit agregasyonunu inhibe etmektedir (Tirelli et al., 1997; Anonymous, 1998; Anonymous, 2001a). Söz konusu aktiviteyi gösteren biyoaktif peptitler anne sütü veya inek sütü proteinlerinin sindirimi sırasında açığa çıkmaktadır (Chabance et al., 1995). Yapılan çalışmalarda yetişkinlerde 500 ml süt ve yoğurt alınından sonra, midede, onikiparmak bağırsağında ve kanda özellikle antitrombotik zincire sahip kazeinoglikopeptitlerin varlığı gösterilmiştir (Chabance et al., 1998).

#### 5. 3. 2. Antihipertansiv (Tansiyon Düşürücü) Etki

Peptitlerin antihipertansiv aktivitesi onların angiotensin I-dönüştürücü enzimi (ACE) inaktive etmeleri kaynaklıdır. ACE bir çok dokuda bulunur ve C-terminal pozisyonundaki 2 amino asidi ayırma (peptitten koparma) potansiyeline sahiptir. Bu özellik sayesinde angiotensin I'i hayli hipertansiv oktapeptit olan angiotensin II'ye dönüştürmektedir. Fonksiyonel peptitler ayrıca ACE'yi inhibe eden aktif bölgelere sahiptirler (Anonymous, 1998; Donagh et al., 1999).

### 5. 4. Sinir Sistemi Üzerine Etki

Günlük yaşamda bir çok insanın süt içtikten sonra daha kolay uyduğunu ve bebeklerin anne sütü veya inek sütü ile beslendikten sonra sakinleştiğini görürüz. Son yıllara kadar, bu durumun hipoglisemi (kandaki şeker miktarının azalması) ile ilgili bir durum olduğu sanılmaktaydı. Ancak son yıllarda

yapılan çalışmalar, bu etkinin biyoaktif peptit grubu olan opioid peptitlerle ilişkili olabileceğini göstermiştir. Söz konusu peptitler kana enjekte edildiğinde yatıştırıcı ve analjezik etki göstermektedir. İnsanlarda, inek sütü tüketiminden sonra opioid etki gösteren kasomorfinler ince bağırsakta belirlenmiş, yine bazı opioid peptitlerde mide ve onikiparmak bağırsağında bulunmuştur (Anonymous, 1998).

### 5. 5. Diğer Etkiler

Yapılan çalışmalarda kazein fosfopeptitlerinin bağırsak lümeninde çözünmeyen kalsiyumfosfat oluşumu engelleyerek intestinal kalsiyum absorpsiyonunu arttırdığı belirlenmiştir. Benzer etki demir emiliminde de gözlenmiştir (Tome and Ledoux, 1998; Donagh et al., 1999; Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2000). Otani and Yamada (1995) tarafından domuzlar üzerinde yapılan çalışmalarda bazı süt peptitlerinin, çeşitli allerjik durumların etkisi ile ortaya çıkan anafilaktik reaksiyonların baskılanmasında rol oynadığı tespit edilmiştir.

## 6. YENİ PERSPEKTİFLER VE SONUÇ

Son beş yıl içerisinde, süt proteinlerinin amino asit zincirleri içerisinde bulunan biyoaktif peptitler ile ilgili çalışmalar yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmalarda, süt proteinlerinin hormon salgılanması, immün sistemin aktivasyonu, besin öğelerinin emilimi ve sinir sisteminde olumlu etkiler gibi fizyolojik fonksiyonlara kritik olarak etki eden çok sayıda biyoaktif peptit içerdiği tespit edilmiştir. Bunların yanında gerek süt ve ürünlerinin sindirimi gerekse süt ürünleri üretiminde kullanılan mevcut starter kültürler ile sütün fermentasyonu sırasında çeşitli biyoaktivitelere sahip peptitlerin açığa çıktığı bilinmektedir. Genel olarak laktik asit bakterilerinin etkilerinin sonucu olarak doğal süte oranla fermente süt ürünlerinin yüksek seviyelerde peptit içerdiği ve bu durumun starter kültürlerin proteolitik potansiyellerine bağlı olduğu söylenebilir. Burada, ürünlerin olgunlaşma süresi ve şartları ile kullanılan starterler önemli rol oynamaktadır. Bu durum bazı geleneksel süt ürünlerinin günlük diyetin bir bölümü olarak alındıklarında biyoaktif peptitlerin tüketiciler için yararlı özel sağlık etkilerini oluşturabileceğini göstermektedir. Fonksiyonel peptitler alanında çalışan uzmanlar biyoaktif peptitlerin in-vitro aktivitesi için küçük miktarlarının yeterli olduğu yargısında görüş birliğinde olmalarına karşın, bazı yararlı etkilerin belirlenebilmesi için daha fazla in-vivo çalışma yapılması gerektiğini belirtmektedirler.

Fizyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinden dolayı süt proteini kaynaklı biyoaktif peptitler, sağlığı

destekleyici fonksiyonel gıdalar veya farmasötik preperasyonlar için de bir hayli popüler ingredientler olarak görülmektedir (Meisel, 1997; Anonymous, 2001a). Günümüzde süt kaynaklı biyoaktif peptitlerin ticari olarak da temin edilebilmesi mümkündür. Örneğin kapsül şeklinde süt kaynaklı biyoaktif peptit içeren Pnt200® markalı ürün (Wellnss Technologies Inc.) ticari olarak temin edilebilmektedir (Anonymous, 2001c). Aynı şekilde  $\alpha$ -kazein (90.-96. fraksiyon: H-Arg-Tyr-Leu-Gly-Tyr-Leu-Glu-OH) kaynaklı biyoaktif peptit, PR3764 ürün kodu ile ticari olarak satılmaktadır (Advanced ChemTech®) (Anonymous, 2001d). Biyoaktif peptitler yakın bir gelecekte daha yaygın bir şekilde endüstriyel olarak üretilecek ve gıda veya farmasötik ürünler için ingredient olarak kullanılabilirlerdir.

## 7. KAYNAKLAR

- Anonymous, 1998. Danone World Newsletter. No: 17, September 1998 (via [http://www.danonevitapole.com/nutri\\_views/search\\_Archives/index.html](http://www.danonevitapole.com/nutri_views/search_Archives/index.html)).
- Anonymous, 2001a. Bioactive Peptides: Potential Nutraceuticals For Food and Pharmaceutical Applications (via <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/2121/biop ep.html>).
- Anonymous, 2001b. Peptides For immunotherapy of AIDS? (via <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/2121/pepays.html>).
- Anonymous, 2001c. <http://www.pnt200.net>.
- Anonymous, 2001d. <http://www.peptide.com/chemical-products/peptides.pdf>.
- Bargeman, G., Dohmen-Speelmans, M., Recio, I., Timmer, M., Van Der Horst, C., 2000. Selective Isolation of Cationic Amino Acids and Peptides By Electro-Membrane Filtration. *Lait* 80: 175-185.
- Belem, M. A. F., Gibbs, B. F., Lee, B.H., 1998. A Bioactive Peptide Sequence Obtained From Whey Fermentation By *Kluyveromyces Marxianus* (Via <http://www.confex.com/ift/98annual/accepted/752htm>).
- Chabance, B., Jollès P., Izquierdo, C., Mazoyer, E., Francoual, C., Drouet L. & Fiat A. M. 1995. Characterization of an Antithrombotic Peptide From Kappa-Casein in Newborn Plasma After Milk Ingestion. *Brit. J. Nut.* 73: 582-90.
- Chabance, B., Marteau P., Rambaud J.C., Migliore-Samour, D., Boynard M., Perrotin P., Guillet R., Jollès, P. & Fait A. M. 1998. Casein Peptide Release and Passage to the Blood in Humans During Digestion of Milk or Yogurt. *Biochimie* 80: 155-65.
- Clare, D. A., Swaisgood, H. E. 2000. Bioactive Milk Peptides: A Prospectus (Invited Review). *J. Dairy Sci.* 83: 1187-1195.
- Donagh, D. Mc., Lawless, F., Gardiner, G. E., Ross, R. P., Stanton, C., Donnelly, W. J. 1999. Milk and Dairy Products For Better Human Health. Teagasc, Publications, NDC 199 (Via <http://www.teagasc.ie/publications/ndc199/paper8.htm>).
- Froetschel, M. A. 1996. Bioactive Peptides in Digesta that Regulate Gastrointestinal Function and Intake. *J. Anim. Sci.* 74: 2500-2508.
- Gill, H. S., Rutherford, K. J. 1998. Immunomodulatory Properties of Bovine Milk. *Bulletin of IDF* 336: 31-35.
- Haileselassie, S. S., Lee, B. H., Gibbs, B. F. 1999. Purification and Identification of Potentially Bioactive Peptides From Enzyme-Modified Cheese. *J. Dairy Sci.* 82: 1612-1617.
- Hoerr, R. A., Bostwick, E. F. 2000. Bioactive Proteins and Probiotic Bacteria: Modulators of Nutritional Health. *Nutrition* 16 (7/8): 711-713.
- Kınık, Ö., Akbulut, N., 1994. Sütün Yapısındaki Biyoaktif Peptitler. *Ege Üniv., Zir. Fak., Derg.* 31 (2-3): 269-275.
- Korhonen, H., Pihlanto-Leppälä, A. 2000. Milk Protein-Derived Bioactive Peptides- Novel Opportunities For Health Promotion. *Bulletin of IDF* 363: 17-26.
- Lazarus, L. H., Bryant, S.D . 2001. Development of  $\delta$ - and  $\mu$ - Opioidmimetic Peptide Ligands. Project 1 (via <http://www.dir.niehs.nih.gov/diricbra/Peptideproject1.htm>).
- Meisel, H. 1997. Biochemical Properties of Regulatory Peptides Derived From Milk Proteins. *Biopolymers* 43 (2), 119-128.
- Meisel, H, Goepfert, A., Günther, S., 1997. ACE-inhibitory activities in Milk Products. *Milchwissenschaft* 52(6): 307-310.
- Meisel, H., 1998. Overview on Milk Protein-Derived Peptides. *Int. Dairy Journal* 8: 363-373.



Nakamura, Y., Yamamoto, M., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S., Takano, T., 1995. Purification and Characterization of Angiotensin I-converting Enzyme Inhibitors From Sour Milk. *J. Dairy Sci.* 78: 777-783.

Otani, H., Yamada, Y. 1995. Effects of Bovine k-kazein and Lactoferrins on Several Experimental Models of Allergic Diseases. *Milchwissenschaft* 50 (10): 549-552.

Pihlanto-Leppälä, A., Koskinen, P., Paakkari, I., Tupasela, T., Korhonen, H. 1996. Opioid Whey Protein Peptides Obtained by Membrane Filtration. *Bulletin of IDF* 311: 36-38.

Pihlanto-Leppälä, A., Rokka, T., Korhonen, H., 1998. Angiotensin I-converting Enzyme Inhibitory Peptides derived From Bovine Milk Proteins. *Int. Dairy J.* 8: 325-331.

Pihlanto-Leppälä, A. 2001. Bioactive Peptides Derived From Bovine Whey Proteins: Opioid and Ace-Inhibitory Peptides. *Trends in Food Sci. and Technol.* 11: 347-356.

Preuffer, M., Schrezenmeir, J. 2000. Bioactive Substances in milk with properties decreasing risk of cardiovascular Disease. *The British Journal of Nutrition* 84 (1): 155-159.

Schanbacher, F.L., Talhouk, R.S., Murray, F. A., Gherman, L. I., Willett, L. B. 1998. Milk-Borne Bioactive Peptides. *Int. Dairy Journal* 8: 393-403.

Tirelli, A., De Noni, I., Resmini, P. 1997. Bioactive Peptides in Milk Products. *Ital. J. Food Sci.* 9 (2), 91-98.

Tome, D., Ledoux, N., 1998. Nutritional and Physiological Role of Milk Protein Components. *Bulletin of IDF* 336: 11-16.