



## Bioactive Peptides in Milk and Milk products, Antimicrobial Properties and Effects on Human Health

Selda Bulca<sup>1,a,\*</sup>, Burcu Güvenç<sup>1,b</sup>

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, 09100 Efeler/Aydın, Turkey

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 14/08/2019 Accepted : 02/01/2020</p> <p><b>Keywords:</b> Bioactive peptides Functional foods Cow's milk Human health Antimicrobial properties</p>	<p>In recent years, apart from the nutritional values of foods, functional properties have also gained importance. Bioactive peptides are the fragmentation products of proteins that have a positive effect on human health. Bioactive peptides in cow's milk are released as a result of hydrolysis of milk proteins with proteolytic enzymes. Bioactive peptides have biochemical and physiological properties such as immune regulation, mineral binding, antimicrobial, antihypertensive, opioid, anti-oxidative, anti-ulcerative, antithrombotic, antitumor and apoptosis. In this review, bioactive peptides in milk and milk products and their antimicrobial properties and effects on human health were evaluated.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(1): 158-164, 2020

## Süt ve Süt Ürünlerinde Bulunan Biyoaktif Peptitler, Antimikrobiyal Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makale</i></p> <p>Geliş : 14/08/2019 Kabul : 02/01/2020</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Biyoaktif peptitler Fonksiyonel gıdalar İnek sütü İnsan sağlığı Antimikrobiyal özellikler</p>	<p>Son yıllarda gıdaların besin değerinin yanı sıra fonksiyonel özellikleri de önem kazanmıştır. Biyoaktif peptitler, insan sağlığı üzerine olumlu etkilere sahip proteinlerin parçalanma ürünleri olarak tanımlanmıştır. İnek sütünde bulunan biyoaktif peptitler, süt proteinlerinin proteolitik enzimlerle hidrolizi sonucunda açığa çıkar. Biyoaktif peptitler, bağışıklık sistemini uyarıcı, mineral bağlayıcı, antimikrobiyal, antihipertansif, opioid, antioksidatif, antiülseratif, antitrombotik, antitümör ve apoptoz etki gibi değişik biyokimyasal ve fizyolojik özelliklere sahiptir. Bu çalışmada süt ve süt ürünlerinde bulunan biyoaktif peptitler, antimikrobiyal özellikleri ve insan sağlığı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.</p>

<sup>a</sup> [sbulca@adu.edu.tr](mailto:sbulca@adu.edu.tr)

<sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7405-2872> | [burcudemir\\_88@hotmail.com](mailto:burcudemir_88@hotmail.com)

<sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4084-3403>



## Giriş

Son yıllarda yapılan çalışmalarda gıdaların besin değeri ve sağlık etkileri üzerinde durulmaktadır ve bundan dolayı “Fonksiyonel Gıda” terimi ortaya çıkmıştır. Fonksiyonel Gıda, 5996 Sayılı kanuna göre “Besleyici etkilerinin yanı sıra bir ya da daha fazla etkili bileşene bağlı olarak sağlığı koruyucu, düzeltici ve/veya hastalık riskini azaltıcı etkiye sahip olup, bu etkileri bilimsel ve klinik olarak ispatlanmış gıdalar” şeklinde tanımlanmıştır (Anonim, 2004). Bu nedenle gıdaları fonksiyonel hale getirmek için doğal kaynaklara, katkılara ve yeni teknolojilere gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda, gıdalardan elde edilen ve fizyolojik olarak biyoaktif olan proteinler ve peptitler üzerine yapılan araştırmalar önem kazanmıştır (Hartmann ve Meisel, 2007).

Normal ve yeterli beslenmede düzenleyici işlevlere sahip bitkisel veya hayvansal proteinlerden elde edilen peptitlere “gıda kaynaklı biyoaktif peptitler” denilmektedir. Bu biyolojik aktiviteye sahip peptitlerin elde edildiği proteinlerin kaynağı süt, yumurta, et, balık, soya ve buğday gibi gıdalar olabilir. Fakat bu peptitler bugüne kadar en çok süt ürünlerinden izole edilmiştir. Bunlar protein içinde kodlanmış ve inaktif haldedir. İnaktif halde bulunan biyoaktif peptitler, ya sindirim sistemi proteolitik enzimlerinin, ya starter kültür proteolitik enzimlerinin ya da dışarıdan ilave edilen proteolitik enzimlerin etkisi sonucu aktif hale gelir (Hartmann ve Meisel, 2007). Biyoaktif peptitleri açığa çıkarmak için yaygın olarak pepsin, tripsin ve kimotripsin gibi pankreastan salgılanan sindirim sistemi enzimleri kullanılır (Korhonen, 2009).

Sütte bulunan biyoaktif peptitlerin kaynağı kazein (%80) ve serum proteinleridir (%20). Kazein,  $\alpha_s$ ,  $\beta$ - ve  $\kappa$ -kazeinden oluşurken serum proteinleri ise serum albümini,  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -Lg),  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -La), immunoglobülin, laktoperoksidaz, lizozim ve laktoferrinden oluşmaktadır (Haque ve Chand, 2006). Biyoaktif peptitler, 2-20 aminoasitten oluşan, çok fonksiyonlu maddelerdir (Rutherford-Markwick ve Moughan, 2005). Fakat 64 aminoasit içeren glikomakropeptit (GMP) bir istisnadır (Korhonen, 2009). Bu biyoaktif peptitlerin biyolojik aktivitesi, aminoasitlerin çeşidine ve dizilişine bağlıdır (Beermann ve Hartung, 2012). Biyoaktif peptitler, gıdalar ile

alındıktan veya sindirim sisteminde üretildikten sonra bağırsakta hedef bölgelerle etkileşime girer ve daha sonra emilerek organlara ulaşır (Kitts ve Weiler, 2003; Meisel, 2005).

## Antimikrobiyal Peptitler

Gıda teknolojisinde koruyucu olarak antimikrobiyal peptitlerin kullanımı da son yıllarda önem kazanmıştır. Bu peptitler mikrobiyal bozulmaların önlenmesi amacı ile gıdalara ilave edilmektedir. Günümüzde gıdalarda antimikrobiyal olarak genellikle sofraya tuzu, nitrit, nitrat, benzoik asit ve tuzları, odun tütsüsü, baharatlar ve şeker gibi maddeler kullanılmaktadır. Ancak sahip oldukları dezavantajlar nedeniyle bunlara alternatif olarak biyoaktif peptitlerin kullanımı da giderek yaygınlık kazanmaktadır.

Sütte doğal olarak bulunan immünoglobülin, laktoperoksidaz, laktoferrin ve lizozim gibi proteinlerin konsantrasyonu, sütün elde edildiği hayvan türüne bağlı olarak değişmektedir. Bu süt proteinlerinin parçalanması ile ortaya çıkan peptitler antimikrobiyal etki gösterebilmektedir (Ebringer ve ark., 2008). Laktoferrisin (f 17-41), inek sütü laktoferrininin pepsin ile hidrolizi sonucunda açığa çıkar. Katyonik, amfipatik ve  $\alpha$ -heliks yapısından dolayı laktoferrisin hücre membranında iyon kanalları oluşturur ve membran geçirgenliğini artırır. Gram negatif bakterilere ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Schanbacher ve ark. 1998). Kaynağı  $\alpha_{s1}$ -kazein ve  $\alpha_{s2}$ -kazein olan peptitler *Escherichia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella* ve *Staphylococcus* gibi bakteri türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahipken (Korhonen ve Pihlanto-Leppälä, 2006),  $\beta$ -kazein kaynaklı peptitler ise *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Silva ve Malcata, 2005). Bir başka çalışmada  $\alpha$ -kazeinin “isracidin” olarak bilinen fraksiyonu (N terminali f 1-23) fare ve koyunda *Staphylococcus aureus* 'a karşı antibiyotik benzeri etki göstermektedir. İsracidin ayrıca mastitis hastalığına karşı koruma da sağlar (Tome ve Ledoux, 1998). Çizelge 1’de süt proteinleri kaynaklı antimikrobiyal peptitler gösterilmiştir.

Çizelge 1. Antimikrobiyal süt peptitleri

Table 1. Antimicrobial milk peptides

Süt peptit fragmenti	Açığa çıkaran proteaz	Gram + aktivite	Gram - aktivite	Maya ve küfler	R
Casecin $\alpha_s$ ve $\kappa$ -kazein	Kimozin ve Kimotripsin	<i>Staphylococcus Sarcina</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Diplococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>			1
Casocidin-I	Sentetik peptitler	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Escherichia coli</i>			2
Isracidin	Kimozin ve Kimotripsin	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Candida albicans</i>	1
Laktoferrisin B Laktoferrin	Pepsin	<i>Bacillus</i> <i>Listeria</i> <i>Streptococci</i> <i>Staphylococci</i>	<i>E. coli</i> 0111 <i>E. coli</i> 0157H:7 <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Salmonella</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Cryptococcus uniguttulatus</i> <i>Penicillium pinophilum</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	3, 4, 5

R: Referans, 1: Lahov ve Regelson (1996), 2: Zucht ve ark. (1995), 3: Bellamy ve ark. (1994); 4: Shin ve ark. (1998), 5: Tomita ve ark. (1991),



Şekil 1. Biyoaktif peptitlerin farklı fizyolojik sistemler üzerindeki fonksiyonları

(FitzGarald ve Meisel, 2003, Biswas ve ark., 2003, Barac ve ark. 2016)

Figure 1. Functions of bioactive peptides on different physiological systems

(FitzGarald and Meisel, 2003, Biswas et al., 2003, Barac et al. 2016)

Özellikle Süt proteinlerinden elde edilen antimikrobiyal peptitler çeşitli mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici bir etki göstermektedir (Correa ve ark., 2011). Sütün ürünlere işlenmesi sırasında uygulanan fermentasyon işlemi biyoaktif peptitlerin miktarını arttırmaktadır. Bu fermente ürünlerden birisi de peynirdir. Öztürk ve Akin (2010) tarafından, Tulum peynirinde 90 günlük olgunlaşma sonrasında oluşan biyoaktif peptidin *Salmonella typhimurium* ATCC 14028'a karşı inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre zarlarındaki farklılıklardan dolayı peynirden elde edilen peptit ekstraktının inhibisyon etkisi de bakteriden bakteriye değişebilmektedir. Correa ve ark. (2011) araştırmalarında koyun sütü kazein hidrolizatının *Bacillus cereus* ve *Corynebacterium fimi* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Kazein hidrolizatının bu bakterileri inhibe ettiği ve çapları 9,3-11,5 mm arasında değişen ihibisyon alanları (zon) oluşturduğu saptanmıştır. İtalyan peynir çeşitleri ile yaptıkları çalışmada Rizzello ve ark. (2005), *Lactobacillus sakei* A15, *Listeria innocua* DSM 20649, *Bacillus megaterium* F6 ve *Escherichia coli* K12 üzerine antimikrobiyal etkili peptitler tespit etmişlerdir.

### Sütte Bulunan Biyoaktif Peptitler ve Sağlık Üzerine Etkileri

Biyoaktif peptitlerin sağlık üzerine etkileri dört ana başlık altında incelenir. Şekil 1'de biyoaktif peptitlerin farklı fizyolojik sistemler üzerindeki fonksiyonları gösterilmiştir (Korhonen ve Pihlanto-Leppälä, 2006). Biyoaktif peptitler, duysal ve antioksidatif özellikler ile insan sağlığına etkileyebilen fizyolojik fonksiyonlara sahip yüzey aktif peptitler olarak tanımlanmaktadır.

Belirgin bir şekilde tatlı olan glutamik veya aspartik asidin dipeptitleri hariç normalde peptitler tatsız veya acıdır. Dichetopiperazinler ve halkalı dipeptitler gibi acı tada sahip peptitler kazein hidrolizatları ve peynirde saptanmıştır. Acı tat, artan hidrofobisite ve peptit zincirinin uzunluğuyla ilişkilidir. Çizelge 2'de de görüldüğü gibi son yıllarda kazein ve serum proteinleri kökenli biyoaktif peptitlerin sinir sistemi, mide bağırsak, kardiyovasküler ve immün sistemin düzenlenmesine katkı sağladığını gösteren çalışmalar yapılmıştır (Barac ve ark., 2016; Beermann ve Hartung, 2012)

Süt proteinleri çok sayıda biyoaktif peptit bulundurmaktadır. Bu biyoaktif peptitler, fermente süt ürünlerinde fermentasyon için kullanılan *Lactobacillus helveticus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. acidophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve geleneksel yoğurt üretiminde kullanılan *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* gibi laktik asit bakterilerinin (LAB) proteolitik türleri tarafından oluşturulmaktadır. Fermente süt ürünlerinden biri olan peynirde de biyoaktif peptitlerin oluşumunu süte ilave edilen LAB ve rennet ile sütte doğal olarak bulunan plazmin sağlamaktadır. Ayrıca biyoaktif peptitler süt protein hidrolizatları, fermente sütler ve peynir çeşitlerinde de karakterize edilmiştir (De Moreno ve ark., 2005; Korhonen, 2009). Barac ve ark. (2016) çalışmalarında, peynirin olgunlaşma sürecinde  $\alpha$  ve  $\beta$ -kazein kaynaklı biyoaktif peptitlerin antioksidan etkiye sahip düşük moleküler ağırlıklı parçalanma ürünlerinin oluştuğunu tespit etmiştir.  $\beta$ -Laktoglobulinden açığa çıkan peptitler antihipertansif, antitrombotik, opioid, antimikrobiyal, immünomodülatör, kanda kolesterol düzeyinin normalin altına düşürme gibi özelliklere sahiptir (Ebringer ve ark., 2008; Tidona ve ark., 2009). Tüm  $\beta$ -Lg kaynaklı peptitler antioksidatif, radikal tutucu özelliklere sahiptir. Diğer peptitler ise örneğin kazomorfinler, laktotrofin, kazokininler ve immunopeptitler çoklu fonksiyonel özellikler gösterir. Çizelge 2'de biyoaktif peptitler, bunların işlevleri ve sağlığa faydaları verilmiştir (Barac ve ark., 2016).

Probiyotik LAB'nin proteolitik aktivitesi sonucunda oluşan biyoaktif peptitlerin immünomodülatör, antimikrobiyal, antioksidan, antifungal ve antikanserijen aktiviteler gibi sağlığı destekleyici özellikler gösterdiği rapor edilmiştir (Picard ve ark., 2005; Mishra ve ark., 2008). Bazı peptit esaslı ürünler kilo kaybını ve doğal savunma mekanizmasını desteklemek, kemik kalsifikasyonu veya kardiyovasküler sağlığı geliştirmek için piyasada satılmaktadır. Örneğin Calpis, sütün *Lb. helveticus* CP790 ve *Saccharomyces cerevisiae* ile fermente edilmesi sonucu oluşan tripeptit VVP ve tripeptit IPP içermektedir. Bu tripeptitlerin fare denemelerinde yoğun antihipertansif ve insan denemelerinde hafif antihipertansif etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Tidona ve ark., 2009).

Yapılan araştırmalar biyoaktif peptitlerin insanların genel sağlık durumunu düzelttiğini ve kronik hastalıklara yakalanma riskini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Korhonen ve Pihlanto-Leppälä, 2006). Biyoaktif peptitlerin sağlık üzerindeki etkileri, sindirim sistemi, bağışıklık sistemi, kardiyovasküler sistem ve sinir sistemi üzerindeki etkileri olmak üzere dört ana başlık altında incelenebilir.

### Sinir Sistemi Üzerine Etkisi

Sinir sistemi üzerinde etkili olan opioid peptitler, kısa zincirli olup morfine benzer etkiler gösterir. Süt tüketiminden sonra kana karışan peptitler beyine ve çeşitli organlara ulaşırlar. Yatıştırıcı etkisinden dolayı opioid peptitler, insanların uykuya kolay dalmasını ve rahatlamasını sağlamaktadır (Clare ve Swaisgood, 2000).

Çizelge 2. Sütün fermentasyonu sonucunda oluşan biyoaktif peptitler, bunların işlevleri ve sağlık faydaları (Beermann ve Hartung, 2012)

Table 2. Bioactive peptides as a result of fermentation of milk, their functions and health benefits (Beermann and Hartung, 2012)

Biyoaktif peptitler	Fonksiyon	Sağlık faydaları
<ul style="list-style-type: none"> <li>Kazein kökenli peptitler</li> <li><math>\alpha_{S1/2}</math>-kazein kökenli peptitler</li> <li><math>\beta</math>-kazein kökenli peptitler</li> <li><math>\kappa</math>-kazein kökenli peptitler</li> <li>Fosforlanmış kazein kökenli peptitler (Kazeinomakropeptitler)</li> </ul>	Antihipertansif Antimikrobiyal Oksidasyonu önleyici İmmün sistemini uyarıcı	Kardiyovasküler sistemi koruma Kardiyovasküler sistemi koruma Kardiyovasküler sistemi koruma, kanseri önleme, yaşlanmayı geciktirme İmmün sistemini, gastrointestinal sistemi etkilemek, sinir ve immün sistemini etkiler, antialerjenik etkileri
<ul style="list-style-type: none"> <li>Serum proteinleri kökenli peptitler</li> <li><math>\alpha</math>-Laktalbümin kökenli peptitler</li> <li><math>\beta</math>-Laktoglobulin kökenli peptitler</li> <li>Laktoferrin kökenli peptitler</li> </ul>	Opoidagonistik/antagonistik etki, mineral bağlama	Gastrointestinal sistem üzerine etkisi

Çizelge 3. Sığır  $\kappa$ -kazeininin primer yapısındaki antitrombotik peptitler (Silva ve Malcata, 2005)

Table 3. Antithrombotic peptides in primary structure of bovine  $\kappa$ -casein (Silva and Malcata, 2005)

Protein	Peptit segmenti	Aminoasit dizilişi
$\kappa$ -kazein (sığır)	103-111	LSFMAIPPK
	106-116	MAIPPKKNQDDK
	106-112	MAIPPKK
	113-116	NQDK

Biyoaktif peptitlerden kasomorfinler ( $\alpha$  ve  $\beta$ ),  $\alpha$ -laktorfin,  $\beta$ -laktorfin, laktoferoksinler ve kasokinler genel olarak opioid peptitler olarak isimlendirilmektedir (Meisel, 1998; Beermann ve Hartung, 2012). Söz konusu biyoaktif peptitler içerisinde en kuvvetli opioid aktiviteyi gösteren  $\beta$ -kasomorfindir (Schanbacher ve ark., 1998).  $\alpha$ -Laktorfin, kasomorfinler gibi morfine benzer yapıda olup analjezik özelliğindedir. Kasomorfinler ve  $\alpha$ -laktorfinin aksine,  $\kappa$ -kazein ve laktoferrinin parçalanmasıyla üretilen kasokinler ve laktoferoksinler opioid antagonistleri olarak işlev görürler, yani morfin benzeri maddelerin etkisini önleyebilirler (Meisel, 2005). Ayrıca  $\alpha$ -La'nin triptofan aminoasidince zengin olması, beyinde serotonin sentezini de arttırabilmektedir. Bundan dolayı insanların ruh hali kontrol edilebilir (Beulens ve ark., 2004). Akşamüstü  $\alpha$ -La'ce zengin diyet tüketimi uykuyu geliştirir (Markus ve ark. 2005).

### Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi

Biyoaktif peptitler, kardiyovasküler (kalp-damar) sistem üzerinde antihipertansif (tansiyon düşürücü), antitrombotik (damar tıkanıklığını önleyici) ve antioksidatif etki göstermektedir (Beermann ve Hartung, 2012)

Fibrinojen karaciğerde sentezlenen, kan plazmasında (%5) bulunan ve pıhtılaşma olayında önemli rol oynayan kan proteinidir. Fibrinojen, trombin enziminin etkisiyle ve iyonize kalsiyum varlığında fibrine dönüşerek kanın pıhtılaşmasını sağlar (Denizli ve Yavuz, 2011). Fibrinojenin bu etkiyi gösteren kısmı gama zinciri olarak bilinmektedir. Fibrinojenin gama zinciri ile inek sütü  $\kappa$ -kazeininin peptit zinciri arasında yapısal benzerlikler bulunmaktadır. Bu nedenle söz konusu iki proteinin parçalanması ile oluşan peptitler antitrombotik etkiye

sahiptir.  $\kappa$ -Kazeinin tripsin ile hidrolizi sonucu açığa çıkan ve kasoplatelin adı verilen peptitin, fibrinojenin trombositlerin yüzeyinde lokalize olmuş glikoprotein reseptörlerine bağlanmasını inhibe ederek antitrombotik etki gösterdiği saptanmıştır (Smacchi ve Gobbetti, 2000; Silva ve Malcata, 2005). Çizelge 3'te sığır  $\kappa$ -kazeinin primer yapısındaki antitrombotik peptitler verilmiştir.

Karaciğer tarafından üretilen anjiyotensinojen, böbreklerden salgılanan renin enzimi ile anjiyotensin I'e dönüştürülür. Anjiyotensin I ise anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin II'ye dönüştürür. Bu dönüşüm kan damarlarının daralmasına ve kan basıncının yükselmesine neden olur (Gobbetti ve ark., 2004; Bhat ve ark., 2015). Kazeinin hidrolizi ile kazokinler,  $\alpha$ -laktoalbumin ve  $\beta$ -laktoglobulinin hidrolizi sonucunda laktokinler oluşur. Bunlar ACE inhibisyon aktivitesine sahiptirler ve kan basıncının yükselmesini engelleyerek antihipertansif etki gösterirler (Pihlanto-Leppälä ve ark., 1998; Şanlıdere ve Öner, 2006; Ebringer ve ark., 2008; Nielsen ve ark., 2009).  $\alpha_{S1}$ -Kazeinden açığa çıkan peptitlerin özellikle yüksek ACE inhibisyon aktivitesine sahip oldukları belirlenmiştir (Silva ve Malcata, 2005). Çizelge 4'te  $\alpha_{S1}$ -kazeinin yapısındaki antihipertansif peptitler, bunların peptit segmenti ve aminoasit dizilişi verilmiştir.

Japon geleneksel ürünü olan misoya kazein eklenmesiyle elde edilen tripeptitler, farelerde antihipertansif özellik göstermiştir (Inoue ve ark., 2009). Yapılan bir başka çalışmada farelerin ACE inhibitör bakımından zengin gıdalarla beslendiğinde spontan hipertansiyonun düştüğü belirtilmiştir. Aynı zamanda fermente süt içeceklerinin günlük olarak tüketilmesiyle de hipertansiyona sahip insanlarda kan basıncının düştüğü görülmüştür (Pihlanto ve ark., 2010; Fujita ve Yoshikawa, 1999; Seppo ve ark., 2003).

Çizelge 4.  $\alpha_{s1}$ -Kazeinin yapısındaki antihipertansif peptitler (Silva ve Malcata, 2005)

Table 4. Antihypertensive peptides in the structure of  $\alpha_{s1}$ -casein (Silva and Malcata, 2005)

Protein	Peptit segmenti	Aminoasit dizilişi
$\alpha_{s1}$ -kazein	23-24	FF
	23-27	FFVAP
	102-109	KKYKVPQ
	142-147	LAYFYP
	157-164	DAYPSGAW
	194-199	TTMPLW

Çizelge 5. Kazein yapısındaki immünomodülatör peptitler (Silva ve Malcata, 2005)

Table 5. Immunomodulatory peptides in the structure of casein (Silva and Malcata, 2005)

Protein	Peptit segmenti	Aminoasit dizilişi
$\alpha_{s1}$ -Kazein (sığıır)	1-23	RPKHPKHQGLPQEVLENLLRF
	194-199	TTMPLW
$\alpha_{s2}$ -Kazein (sığıır)	1-32	KNTMEHVSSEESIISQETYKQEKMAINPSK
$\beta$ -Kazein (sığıır)	1-28	RELEELNVPGEIVESLSSEESITRINK
	63-68	PGIPN
	191-193	LLY
	193-209	YQEPVLPVVRGPFPIIV
$\beta$ -Kazein (insan)	54-59	VEPIPY

Laktik asit bakterilerinin proteolitik enzimleri etkisiyle kazeinlerden açığa çıkan biyoaktif peptitlerin antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Barac ve ark., 2016). Süt kaynaklı bu peptitler, serbest radikalleri bağlayıcı ve oksidatif stresi önleyici özelliği ile damar sertliği, damar tıkanıklığı gibi bazı kronik kalp rahatsızlıklarını önleyebilmektedir (Solieri ve ark., 2015).

### Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi

Bağışıklık sistemi, vücudumuzu hastalıklara karşı koruyan, patojenleri ve tümör hücrelerini tanıyıp onları yok eden fonksiyonlara sahiptir. Sistem, vücudumuzdaki yabancı maddeyi tarar ve onları, sağlıklı vücut hücrelerinden ve dokularından ayırt eder. Belli aralıklarla ortaya çıkan anormal hücre ve molekülleri saptayıp bunlara yanıt vermek suretiyle kanser gibi hastalıkların gelişmesine engel olmak da bağışıklık sisteminin görevlerindedir (Chinen ve ark., 2006; Parth, 2004).

İmmünopeptitler,  $\alpha$ -kazein,  $\beta$ -kazein ve  $\alpha$ -laktalbüminde elde edilen, bağışıklık sistemini olumlu yönde etkileyen biyoaktif peptitlerdir (Haque ve ark., 2009; Beermann ve Hartung, 2012). Bu peptitlerin antikor üretimi, fagositoz, makrofaj sitotoksik aktivite, lenfosit proliferasyonu, T-lenfositlerini düzenlemesi, hücre öldürücü aktivite gibi immünomodülatör etkileri olabilir. Etkinin uyarıcı ya da baskılayıcı olması doza göre farklılık gösterir. Bazı kasomorfınlerin düşük derişimlerde, lenfosit proliferasyonunu baskıladığı, yüksek derişimlerde ise uyarıcı olduğu bildirilmektedir (Tirelli ve ark., 1997, Gill ve ark., 2000). Kazein ve laktoferrinin enzimatik sindirimi ile oluşan biyoaktif peptitler antitümör ve apoptoz etki gösterirler. Bundan dolayı antikarsinojen özelliktedirler (Meisel, 2005; Yang ve ark., 2004). Ayrıca insan sütünden elde edilen  $\alpha$ -laktalbümin ve türevleri apoptoz gibi mekanizmalarla hücrelerin ölümünü uyarmıştır (Svanborg ve ark., 2003). İnsan ve inek sütündeki  $\alpha$ -laktalbüminin tümör hücrelerini öldürücü etkisi bulunmaktadır.  $\alpha$ -Laktalbüminin oleik asit ile oluşturduğu kompleksin insanlardaki gırtlak (Knyazeva ve ark., 2008) ve akciğer

kanser hücrelerini öldürücü etkisi belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2009). Kasomorfınlerin ( $\alpha$  ve  $\beta$ ) meme kanserine karşı antikarsinojen etki gösterdiği saptanmıştır (Pihlanto-Leppälä, 2001). Çizelge 5'te kazein yapısındaki immünomodülatör peptitler, bunların segmentleri ve aminoasit dizilişleri verilmiştir.

### Sindirim Sistemi Üzerine Etkisi

Biyoaktif peptitlerin sindirim sistemi üzerinde intestinal hareketliliğin düzenlenmesi ve gastrik boşalma etkisi bilinmektedir (Tirelli ve ark., 1997; Pihlanto-Leppälä, 2001).  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ - ya da  $\beta$ -kazeinin sindirimi ile açığa çıkan biyoaktif peptitler kazeinofosfopeptit olarak adlandırılır. Yüksek konsantrasyondaki kazeinofosfopeptitlerin negatif yükleri onların proteolize karşı daha da dirençli olmalarını sağlar ve özellikle yan zincirde fosfat gruplarında bulunan negatif yükler, minerallerin bağlanması için alan oluşturur. Bunlar Ca, Mg ve Fe gibi makro ve Zn, Ba, Cr, Ni, Co ve Se gibi mikro elementleri bağlamaktadır. Böylelikle osteoporozun, diş çürüklerinin, hipertansiyon ve aneminin önlenmesi düşünülmektedir (Korhonen ve Pihlanto-Leppälä, 2006; Silva ve Malcata, 2005).

Peynir üretimi sırasında kimoazin,  $\kappa$ -kazeini 105 ile 106. bağından koparır. 106 ile 169. aminoasitleri içeren kısım glikomakropeptit (GMP) olarak adlandırılır. GMP peynir altı suyuna geçer ve dallanmış zincirli aminoasitlerce zengindir. GMP'nin dallanmış zincirli aminoasitlerce zengin olması nedeniyle çeşitli karaciğer hastalıklarının kontrolüne yönelik diyetlerde karbon kaynağı olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (El-Salam ve ark., 1996). GMP'nin açlığı geciktirici etkisi de bulunmaktadır. Bir çalışmaya göre açlık çeken hayvanlar, GMP ile beslendiğinde hayvanlarda tokluk etkisi oluşmuştur (Stan ve ark., 1988). Başka bir çalışmada, yavru Rhesus maymunlarının besinlerine GMP ve  $\alpha$ -laktalbümin ilavesi yapılmış ve GMP ile  $\alpha$ -laktalbüminin çinko emilimini artırdığı saptanmıştır. Plazma aminoasit düzeyi açısından ise anne sütü ile beslenen maymunlarla benzer olduğu sonucuna varılmıştır (Kelleher ve ark., 2003). GMP'lerin

glikozidik yapıları nedeniyle enterotoksinler (*Vibrio cholerae* ve *Escherichia coli* tarafından salgılanan) GMP'ye bağlanarak kompleks oluşturur ve bağırsaklardan dışarı atılır. Ayrıca GMP'nin prebiyotik olarak da rol oynadığı ve probiyotik bakterilerden bifidobakterilerin gelişimini teşvik ettiği gözlenmiştir (Kasai ve ark., 1992). Son olarak GMP, dallanmış aminoasitlerce zengin olmasına karşın aromatik aminoasitler (fenilalanin, triptofan ve tirozin) açısından fakirdir. Fenilalanin içermediğinden fenilketonüri hastaları için oldukça güvenli bir protein kaynağıdır (Marshall, 2004).

Biyoaktif peptitlerin antiülseratif özelliği, antioksidan peptitlerin dolaylı etkisi ile ortaya çıkmaktadır. Etanol alımının birçok dokuda, özellikle karaciğer ve midede metabolik değişikliklere ve patolojik bozukluklara yol açtığı bilinmektedir. Bunlardan biri de gastrik mukozasında hasara yol açmasıdır. Oksijen kaynaklı serbest radikaller etanolün oluşturduğu hasarları artırır. Antioksidan aktiviteye sahip  $\alpha$ -laktalbümin kaynaklı peptitler, serbest radikaller ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücre ve doku hasarını önlemektedir. Bu da antiülseratif etki olarak açıklanır (Biswas ve ark., 2003)

## Sonuç

Süt proteinlerinden enzim hidroliziyle ya da fermantasyon yoluyla elde edilen biyoaktif peptitlerin insan sağlığı üzerine birçok olumlu etkisi bulunmaktadır. Bunların sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, bağışıklık sistemi ve sindirim sistemi üzerine opioid, antihipertansif, antitrombotik, antioksidatif, immünomodülatör, antimikrobiyal, mineral bağlama, iştah azaltma ve antiülseratif etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca bu etkilerinin yanı sıra doğal ve ekonomik olmaları, biyoaktif peptitlere olan ilgiyi artırmıştır. Süt proteini kaynaklı biyoaktif peptitlerin potansiyel sağlık faydaları ticari fonksiyonel gıdaların gelişimi açısından önemlidir. Piyasada az sayıda ticari ürün satışı da mevcuttur. Süt, insan diyetinin önemli bir parçası olmasının yanı sıra enzimatik olarak proteinlerin parçalanmasıyla da sağlık üzerine etkili biyoaktif peptitlerin oluşumu için önemli bir protein kaynağıdır. Ancak biyoaktif peptitlerin sağlık üzerine olumlu etkilerinin saptanması için daha fazla çalışma yapılmalı ve insan ve hayvan denemeleriyle bilimsel olarak desteklenmelidir.

## Kaynaklar

Anonim. 2004. Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği, Fonksiyonel Gıdalarla ilgili Yasal Düzenlemeler, 5996 Yetki Kanunu  
Barac M, Smiljanic M, Zilic S, Pesic M, Stanojevic S, Vasic M, Vucic T. 2016. Protein profiles and total antioxidant capacity of water soluble and insoluble protein fractions of white cow cheese at different stage of ripening, *Mljekarstvo*, 66(3): 187-197.  
Beermann C, Hartung J. 2012. Physiological properties of milk ingredients released by fermentation. *Food & Function*, 4: 185-189  
Bellamy WR, Yamauchi K, Wakabayashi H, Takase M, Shimamura S, Tomita M. 1994. Antifungal properties of lactoferrin, a peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *Letters in Applied Microbiology*, 18: 230-233  
Beulens JWJ, Bindels JG, de Graaf C, Alles MS, Wouters-Wesseling W. 2004. Alpha lactalbumin combined with a regular diet increases plasma Trp-LNAA ratio. *Physiology & Behavior*, 81: 585-93.

Bhat ZF, Kumar S, Bhat HF. 2015. Antihypertensive Peptides of Animal Origin: A Review; *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, May 5.  
Biswas K, Bandyopadhyay U, Chattopadhyay I, Varadaraj A, Ali E, Banerjee RK. 2003. A novel antioxidant and antiapoptotic role of omeprazole to block gastric ulcer through scavenging of hydroxyl radical. *Journal of Biological Chemistry*, 278: 10993-11001.  
Chinen J, Finkelman F, Shearer WT. 2006. Advances in basic and clinical immunology. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 118: 489-95.  
Clare DA, Swaisgood HE. 2000. Bioactive Milk Peptides: A Prospectus. *Journal of Dairy Science*, 83: 1187-1195.  
Correa APF, Daroit DJ, Coelho J, Meira SM, Lopes FC, Segalin J, Risso PH, Brandelli A. 2011. Antioxidant, antihypertensive and antimicrobial properties of ovine milk caseinate hydrolyzed with a microbial protease. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(12): 2247-2254.  
De Moreno A, de Leblanc, Perdigon G. 2005. Reduction of  $\beta$ -Glucuronidase and nitroreductase activity by yoghurt in a murine colon cancer model, *Biocell*, 29(1): 15-24  
Denizli A, Yavuz H. 2011. Kan liflerinin biyokimyası, *Tübitak Bilim ve Teknik dergisi*, Nisan 2011: 64-67.  
Ebringer L, Ferenčík M, Kraljčević J. 2008. Beneficial Health Effects of Milk and Fermented Dairy Products. *Folia Microbiologica*, 53(5): 378-394.  
El-Salam A, El-Shibiny S, and Buchheim W. 1996. Characteristics and potential uses of the casein macropeptide. *International Dairy Journal*, 6(4): 327-341.  
FitzGerald R. J. and Meisel H. 2003. Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. In *Advanced Dairy Chemistry- Vol 1: Proteins*; Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H., Ed.; Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 675-698.  
Fujita H, Yoshikawa M. 1999. A prodrug-type ACE inhibitory peptide derived from fish protein. *Immunopharmacology*, 44: 123-127.  
Gill HS, Doull F, Rutherford KJ, Cross ML. 2000. Immunoregulatory Peptides in Bovine Milk. *British Journal of Nutrition*, 84: 111-117.  
Gobbetti M, Minervini F, Rizzello CG. 2004. Angiotensin I converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *International Journal of Dairy Technology*, 57: 172-188.  
Haque E, Chan R. 2006. Milk protein derived bioactive peptides. <https://www.dairyscience.info/index.php/exploitation-of-anti-microbial-proteins/111-milk-protein-derived-bioactive-peptides.html>. (Erişim 30 Aralık 2018)  
Haque E, Chand R, Kapila S. 2009. Biofunctional Properties of Bioactive Peptides of Milk Origin. *Food Reviews International*, 25: 28-43.  
Hartmann R, Meisel H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18: 163-169.  
Inoue K, Gotou T, Kitajima H, Mizuno S, Nakazawa T, Yamamoto N. 2009. Release of antihypertensive peptides in miso paste during its fermentation, by the addition of casein. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108: 111-115.  
Kasai T, Honda T, Kiriya S. 1992. Caseinophosphopeptides (CPP) in faeces of rats fed a casein diet. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 56: 1150-1151.  
Kelleher SL, Chatterton D, Nielsen K, Lonnerdal B. 2003. Glycomacropeptide and  $\alpha$ -lactalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(5): 1261-1268.  
Kitts DD, Weiler K. 2003. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Current Pharmaceutical Design* 9: 1309-1323.  
Knyazeva EL, Grishchenko VM, Fadeev RS, Akatov VS, Permyakov SE, Permyakov EA. 2008. Who is Mr. Hamlet Interaction of human  $\alpha$ -lactalbumin with monomeric oleic acid. *Biochemistry*, 47: 13127-13137.

- Korhonen H, Pihlanto-Leppälä A. 2006. Bioactive Peptides: Production and Functionality. *International Dairy Journal*, 16: 945-960.
- Korhonen H. 2009. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1: 177-187.
- Lahov E, Regelson W. 1996. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: caseicidin, isracidin peptides. *Food and Chemical Toxicology*, 34: 131-145.
- Markus CR, Jonkman LM, Lammers JHC, Deutz NEP, MesserMH, Rigtering N. 2005. Evening intake of  $\alpha$ -lactalbumin increases plasma tryptophan availability and improves morning alertness and brain measures of attention. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 1026-1033.
- Marshall K. 2004. Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*, 9: 136-156.
- Meisel H. 1998. Overview on Milk Protein-Derived Peptides. *International Dairy Journal*, 8: 363-373.
- Meisel H. 2005. Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 1905-1919.
- Mishra VK, Mohammad G, Jha A. 2008. Immunomodulation and anticancer potentials of yogurt probiotic, *EXCLI Journal* 7: 177-184
- Nielsen MS, Martinussen T, Flambard B, Sørensen KI, Otte J. 2009. Peptide Profiles and Angiotensin-I- Converting Enzyme Inhibitory Activity of Fermented Milk Products: Effect of Bacterial Strain, Fermentation pH, and Storage Time. *International Dairy Journal*, 19: 155-165.
- Öztürk, HI, Akin N. 2010. Comparison of some functionalities of water soluble peptides derived from Turkish cow and goat milk Tulum cheeses during ripening. *Food Sci. Technol, Campinas*, 38(4): 674-682
- Parth CM. 2004. *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 20: 134-149.
- Picard C, Fioramonti J, Francois A, Robinson T, Neant F, Matuchansky C. 2005. Review article: bifidobacteria as probiotic agents – physiological effects and clinical benefits, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 22: 495-512.
- Pihlanto A, Virtanen T, Korhonen H. 2010. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. *International Dairy Journal*, 20: 3-10.
- Pihlanto A. 2006. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal*, 16 (11): 1306-1314.
- Pihlanto-Leppälä A, Rokka T, Korhonen H. 1998. Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Bovine Milk Proteins. *International Dairy Journal*, 8: 325-331.
- Pihlanto-Leppälä A. 2001. Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: opioid and ACE-inhibitory peptide. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 347-356.
- Rizzello CG, Losito I, Gobbetti M, Carbonara T, Bari M, Zamboni P. 2005. Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties. *Journal of Dairy Science*, 88(7): 2348-2360.
- Rutherford-Markwick KJ, Moughan PJ. 2005. Bioactive peptides derived from food. *Journal of AOAC International*, 88(3), 955-966. PMID:16001873.
- Schanbacher FL, Talhouk RS, Murray FA, Gherman LI, Willet LB. 1998. Milk-borne bioactive peptides, *International Dairy Journal*, 8: 393-403.
- Seppo L, Jauhainen T, Poussa T, Korpela R. 2003. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure lowering effect in hypertensive subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77: 326-330.
- Shin K, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H, Tomita M, Otsuka Y, Yamazaki S. 1998. Antibacterial activity of bovine lactoferrin and its peptides against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* 6: 407-411
- Silva SV, Malcata FX. 2005. Caseins as a Source of Bioactive Peptides. *International Dairy Journal*, 15: 1-15.
- Smacchi E, Gobbetti M. 2000. Bioactive Peptides in Dairy Products; Synthesis and Interaction with Proteolytic Enzymes. *Food Microbiology*, 17: 129-41.
- Solieri L, Rutella GS, Tagliuzucchi D. 2015. Impact of non-starter lactobacilli on release of peptides with angiotensin-converting enzyme inhibitory and antioxidant activities during bovine milk fermentation, *Food Microbiology*, 51: 108-116.
- Stan EI, Ekimovskii AP, Aleinik SI, Zhuravlev BV. 1988. Heterogeneity and physiological activity of bovine k-casein proteolysis products. *Voprosy Pitaniia*, 1: 39-43.
- Svanborg C, Agerstam H, Aronson A, Bjerkvig R, Durringer C, Fischer W, Gustafsson L, Hallgren O, Leijonhuvud I, Linse S, Mossberg A, Nilsson H, Pettersson J, Svensson M. 2003. Hamlet kills tumor cells by an apoptosis-like mechanism cellular, molecular, and therapeutic aspects. *Advances in Cancer Research*, 88: 1-29.
- Şanlıdere H, Öner Z. 2006. Süt Ürünlerinde Bulunan Biyoaktif Peptitler ve Fonksiyonları. *Gıda*, 31(6): 311-317.
- Tidona F, Criscione, A, Guastella AM, Zuccaro A, Bordonaro S, Marletta D. 2009. Bioactive peptides in dairy products, *Italian Journal of Animal Science*, 8: 315-340
- Tirelli, A., De Noni, I., Resmini, P. 1997. Bioactive Peptides in Milk Products. *Italian Journal of Food Science*, 9 (2): 91-98.
- Tome D, Ledoux N. 1998. Nutritional and Physiological Role of Milk Protein Components. *Bulletin of IDF*, 336: 11-16.
- Tomita M, Bellamy WR, Takase M, Yamauchi K, Wakabayashi H, Kawase K. 1991. Potent antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin. *Journal of Dairy Science*, 74: 4137-4142
- Yang N, Strom MB, Mekonnen SM, Svendsen JS, Rekdal O. 2004. The effects of shortening lactoferrin derived peptides against tumour cells, bacteria and normal human cells. *Journal of Peptide Science*, 10: 37-46.
- Zhang M, Yang Jr F, Yang F, Chen J, Zheng CY, Liang Y. 2009. Cytotoxic aggregates of  $\alpha$ -lactalbumin induced by unsaturated fatty acid induce apoptosis in tumor cells. *Chemico Biological Interactions*, 180: 131-142
- Zucht HD, Raida M, Adermann K, Magert HJ, Forssman WG. 1995. Casocidin-I: a casein-alpha s2 derived peptide exhibits antibacterial activity. *FEBS Letters*, 372: 185-188.