

OktaY YERLİKAYA<sup>1\*</sup>  
Özer KINIK<sup>1</sup>  
Necati AKBULUT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü  
35100 Bornova, İzmir  
\* e-posta: oktay.yerlikaya@ege.edu.tr

## Süt Kaynaklı Biyoaktif Peptitler ve Fonksiyonel Özellikleri

Milk-derived bioactive peptides and their functional properties

Alınış (Received): 25.03.2010 Kabul tarihi (Accepted): 27.05.2010

### Anahtar Sözcükler:

Biyoaktif peptitler, süt proteinleri, proteoliz, süt ürünleri

### Key Words:

Bioactive peptides, milk proteins, proteolysis, dairy products

### ÖZET

**S**üt proteinleri, proteinlerin doğal dizilimi içerisinde pasif ancak enzimatik hidroliz yoluyla serbest kalabilen, biyolojik olarak aktif çeşitli bileşenlerin temel kaynağıdır. Bu peptitler yoğurt, diğer fermente süt ürünleri ve peynirde meydana gelebilmektedir. Süt kaynaklı biyoaktif peptitler, antihipertansif, opioid, bağışıklık sistemi düzenleyici, antimikrobiyal, antioksidatif, antitrombotik ve hücre-düzenleyici gibi çeşitli fizyolojik aktiviteler gösterebilmektedir. Bazı biyoaktif peptitler ise diyare, hipertansiyon, tromboz, diş hastalıkları, oksidatif stres, mineral emilim yetersizliği, bağışıklık eksikliği gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılabilmektedir. Bu derleme makalede, süt proteinlerinden elde edilen biyoaktif peptitler, üretimleri ve fermente süt ürünlerinde meydana gelişleri, fizyolojik ve fonksiyonel özellikleri ile sağlığın korunmasında potansiyel kullanımları irdelenmiştir.

### ABSTRACT

**M**ilk proteins are currently the main source of a range of biologically active substances which are inactive within the sequence of native protein but can be released by enzymatic hydrolysis. A great variety of naturally formed bioactive peptides have been found in fermented dairy products, such as yoghurt, sour milk and cheese. Milk borne bioactive peptides have been found to exhibit various physiological activities such as antihypertensive, opioid, immunomodulatory antimicrobial, antioxidative, antithrombotic, and cytomodulatory. Such bioactive peptides may find use in the treatment of diarrhea, hypertension, thrombosis, dental carries, oxidative stress, mineral malabsorption, and immunodeficiency. In this review, current knowledge was discussed about bioactive peptides derived from milk proteins, with emphasis on their production, occurrence in fermented dairy products, physiological functionality, multifunctional properties and potential use for health promotion.

### GİRİŞ

Son yıllarda proteinlerin diyetlerdeki rolü dünya çapında kabul edilmiştir. Proteinler, gastro-intestinal sindirimden sonra vücut fonksiyonları üzerine olumlu etki gösteren fizyolojik olarak aktif bileşenlerin kaynağını oluşturmaktadır. Sütün çeşitli fonksiyonel aktiviteye sahip bileşenleri içerdiği ve enfeksiyonların önlenmesinde koruyucu etki gösterdiği uzun yıllar önce farkına varılan bir konudur. Biyoaktif peptitler her moleküllerinde genellikle 3-20 aminoasit kalıntısı içermektedir (Meisel, 1997; Korhonen & Pihlanto, 2003).

Belli bir peptitin aminoasit dizilimi, peptitin işlevini belirlemektedir. Süt kaynaklı biyoaktif peptitlerin antihipertansif, opioid, bağışıklık düzenleyici, antimikrobiyal, antioksidatif, kan pıhtılaşmasını önleyici ve hücre-düzenleyici gibi çeşitli fizyolojik aktiviteler gösterdiği pek çok makalede bahsedilmiştir. (Korhonen ve Pihlanto-Leppälä, 2006). Kazeinin birincil yapılarının bazı bölgeleri, farklı aktiviteler gösteren ve üst üste gelen dizilimler içermektedir. Bu bölgeler ileri proteolitik parçalanmadan kısmi koruma sağlayan "stratejik bölgeler" olarak nitelendirilmektedir. Çeşitli biyolojik fonksiyonları nedeniyle süt kaynaklı biyoaktif peptitler fonksiyonel gıda, nötrasötik ve farmasötik ilaçların hazırlanmasında potansiyel aktif bileşen olarak kullanılmaktadır (Fiat et al., 1993; Sevérin & Wenshui, 2005).

### **Biyoaktif Peptitlerin Üretimi**

Temel olarak, biyolojik aktif peptitler öncü süt proteinlerinden şu yollar ile üretilebilmektedir: (a) sindirim enzimleri ile enzimatik hidroliz, (b) sütün proteolitik starter kültürler ile fermantasyonu, (c) mikroorganizma veya bitkisel kaynaklı enzimler ile proteoliz. Pek çok çalışmada, (a) ve (b) veya (a) ve (c)'nin kombinasyonlarının kısa fonksiyonel peptitlerin üretiminde etkili olduğu ispatlanmıştır (Korhonen & Pihlanto-Leppälä, 2006). Biyoaktif peptitlerin üretiminde kullanılan uygulamalar ise şu şekilde özetlenebilir;

#### **Enzimatik Hidroliz**

Biyoaktif peptitlerin üretiminde en yaygın yol ham protein moleküllerinin enzimatik hidrolizidir. Bilinen biyoaktif peptitlerin pek çoğu genellikle pepsin ve tripsin gibi gastrointestinal enzimler kullanılarak üretilmektedir. Örneğin, anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ACE) inhibitör peptitler ve kalsiyum-bağlayıcı fosfopeptitler (CPPs) tripsin kullanılarak üretilenlerin en yaygınıdır. Diğer sindirim enzimleri ve alkalaz, kimotripsin, pankreatin, pepsin ve termolisini kapsayan bakteriyel ve fungal kaynaklardan elde edilen enzimler gibi proteinazların farklı enzim kombinasyonları, çeşitli proteinlerden biyoaktif peptit üretiminde de kullanılmaktadır (Korhonen & Pihlanto-Leppälä, 2006; Phelan et al., 2009).

#### **Mikrobiyal Fermantasyon**

Biyoaktif peptitler, fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılan starter veya starter olmayan bakteriler tarafından oluşturulmaktadır. *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Lactobacillus GG* gibi laktik asit bakterilerinin proteolitik sistemleri ayrıntılı bir şekilde karakterize edilmiştir. Anılan sistem, hücre duvarlarına bağlı proteinazlardan ve endopeptidaz, aminopeptidaz, tripeptidaz ve dipeptidazlar gibi çok sayıda

hücre içi peptidazdan meydana gelmektedir (Christensen et al., 1999).

Son yıllarda yayınlanan makale ve kitap bölümlerinde, çeşitli biyoaktif peptitlerin süt proteinlerinin mikrobiyal proteolizi ile medyana geldiği ifade edilmektedir. Bu çalışmaların pek çoğunda, ACE-inhibitörü veya antihipertansif, bağışıklık düzenleyici, antioksidatif ve antimikrobiyal peptitlerin üretimi tanımlanmaktadır (Korhonen & Pihlanto-Leppälä, 2006).

*Lb. helveticus* Emmantel peyniri başta olmak üzere geleneksel fermente süt ürünlerinin üretiminde geniş ölçüde kullanılmakta, yüksek proteolitik *Lb. helveticus* suşları antihipertansif peptitlerin ayrılmasında etkin rol oynamaktadır. Canlı mikroorganizmalara ek olarak, laktik asit bakterilerinden izole edilen proteolitik enzimlerin kullanımı da biyoaktif peptitlerin ayrılmasında başarılı sonuçlar vermektedir. (Korhonen ve Pihlanto-Leppälä, 2006; Phelan et al., 2009).

#### **Süt Ürünlerinde Biyoaktif Peptitlerin Oluşumu**

Biyoaktif peptitler süt ürünlerinin üretimi süresince serbest kalabilmektedir. Aslında, süt ürünlerinin üretiminde kullanılan starter kültürler genellikle yüksek proteolitik aktivite göstermekte, proteinlerin peptit ve aminoasitlere parçalanmasından sorumlu bazı enzimler içermektedir. Sonuç olarak çeşitli biyoaktiviteleri olan peptitler, bazı peynir çeşitleri ve fermente sütler gibi son ürünlerde bulunabilmektedir (Phelan ve ark., 2009). Hipoalerjenik bebek maması formüllerinde kullanılan hidrolize süt proteinleri, bu tür peptitleri yaygın olarak içermektedir (Korhonen & Pihlanto-Leppälä, 2006).

Peynir olgunlaşması süresince pek çoğu biyolojik aktivite gösteren, çok sayıda peptit meydana gelmektedir. Kazeinofosfopeptitler, Comté ve Cheddar peynirlerinde doğal bileşen olarak bulunabilmektedir (Singh et al., 1997). Bundan başka, peynir olgunlaşması süresince meydana gelen ikincil proteoliz, diğer biyoaktif peptitlerin oluşumuna yol açmaktadır ve biyoaktivitenin ortaya çıkması peynirin olgunlaşma safhasına bağlı olmaktadır.

ACE inhibitör aktivitesi, düşük derecede proteolize sahip olan yoğurt, taze peynir ve quark gibi süt ürünlerinde düşük seviyededir. Yukarıdaki bulgular, Ryhänen et al. (2001) tarafından yapılan çalışmalar ile de uyumluluk göstermektedir. ACE inhibitörü peptitlerin gelişimini inceleyen araştırmacılar peynir olgunlaşması süresince bu peptitlerin konsantrasyonlarını aşama aşama incelemişler, Gouda tipi peynirde en yüksek konsantrasyonları 13 haftalık olgunlaşmada belirlemişler, bundan sonra ise yavaş bir azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir. Saito et al. (2000)

bazı peynir çeşitlerinde ACE inhibitör aktivitesi üzerine çalışmışlar ve en yüksek aktiviteyi 2 yıl olgunlaştırılmış Gouda peynirinde belirlemişlerdir. 8 aylık Gouda peynirinde bazı peptitler izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Tanımlanan bu peptitlerden  $\alpha_{s1}$ -kazein f(1-9) ve  $\beta$ -kazein f(60-68) olmak üzere iki peptit, kuvvetli ACE inhibitör aktivitesi göstermiştir. Koyun sütünden üretilen Manchego peyniri yalnızca en az 15 günlük iken nispeten düşük ACE inhibitör aktivitesi göstermiştir (Gomez-Ruiz et al., 2002).

Finlandiya'da üretilen ve ACE-inhibitör aktivitesine sahip peptitleri içeren düşük yağlı yeni tip bir peynir olan Festivo peyniri, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus* türlerinin yanında *Lb. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. gibi probiyotik suşları da içeren ticari starter kültür karışımları kullanılarak üretilmektedir (Ryhänen & Pihlanto-Leppälä, 2001). Festivo peynirinde en yüksek ACE inhibitör aktivitesi 13 haftalık olgunlaşma zamanında belirlenmiştir. Bu peynirin içerdiği  $\alpha_{s1}$ -kazeinden  $\alpha_{s1}$ -kazein f(1-6), f(1-7) ve f(1-9) olmak üzere üç aktif peptit izole edilmiştir. Bu peptitler diğer İskandinav tipi peynirlerin olgunlaşması süresince de meydana gelmektedir (Lund & Ardö, 2004). Yoğurt, ekşi süt ve "Dahi" gibi fermente süt ürünlerinde çeşitli biyoaktif peptitlerin meydana geldiği pek çok çalışmada belirtilmiştir. ACE-inhibitör, immün-düzenleyici ve opioid peptitler, yoğurta ve probiyotik *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* suşu ile fermente edilmiş sütlerde bulunmaktadır (Roka et al., 1997). Pek çok çalışmada fermente süt ürünlerinde antihipertansif peptitlerin üretimi için güçlü proteolitik özellik gösteren *Lactobacillus helveticus* suşları kullanılmıştır. Japonya'da Calpis, Finlandiya'da Valio firmaları tarafından geliştirilen Ameal S™ ve Evolus™ gibi iki süt ürünü hipotensif özellikteki farklı *L. helveticus* suşu ile fermente edilmiştir (Gobbetti et al., 2004; FitzGerald et al., 2004).

## **Biyoaktif Peptitlerin Rolü**

### **Opioid Peptitler**

Son çalışmalar ile süt ürünlerinde bulunan peptitlerin sinir sisteminde aktif bir rol oynadığına dair kanıtlar elde edilmiştir. Sinir sisteminde önemli role sahip olan bu peptitler opioid peptitler olarak bilinmektedir. Opioid peptitler morfinler ile farmakolojik benzerlikler göstermektedir. Bu peptitler agonistik veya antagonistik aktiviteli opioid reseptör bileşikler olup, farklı N-terminal sekanslar ile karakterize edilmektedir. Tipik endojen opioid peptitlerden farklı olan bu peptitler, atipik opioid peptitler olarak bilinmektedir (Teschemacher, 1997). Endojen ve egzojen opioid peptitlerin ortak yapısal özelliği N-

terminalde bir tirozin kalıntısının varlığıdır. Üçüncü ve dördüncü pozisyonda fenilalanin veya tirozin gibi aromatik aminoasit kalıntıları yer alır. Bu durum opioid reseptörlerin bağlanmasında temel bir faktördür. Opioid peptit kaynaklı gıdaların daha ileri hidrolizi, intestinal enzimlere karşı direnç göstermektedir ve spesifik gastrointestinal hedef reseptörleri üzerine direkt etki etmektedirler (Paroli, 1988).

İlk araştırılan opioid peptit olan  $\beta$ -kazomorfinler,  $\beta$ -kazein sekansı fragmentlerinin 60. ve 70. kalıntıları arasında ve  $\mu$ -tip ligandlar olarak karakterize edilmişlerdir (Brantl ve ark., 1979; Teschemacher ve Brantl, 1994). İnek  $\alpha_{s1}$ -kazeini f(90-96), insan ve inek  $\alpha$ -laktalbumini f(50-53) ve inek  $\beta$ -laktoglobulini f(102-105) ile ilgili diğer süt bazlı opioidler sırasıyla eksorfinler,  $\alpha$ -laktorfin ve  $\beta$ -laktorfindir. Laktorfin peptitler opioid reseptörleri için düşük çözünürlüklü  $\mu$ -tip reseptör ligandlarıdır (Chiba & Yoshikawa, 1986; Pihlanto-Leppälä, 2001).  $\alpha$ -Laktorfin çizgisiz kaslara karşı zayıf opioid aktivite göstermektedir.  $\beta$ -Laktorfin ise çizgisiz kaslara karşı büzülme etkisine sahiptir (Antila, 1991). Opioid antagonistler inek ve insan  $\kappa$ -kazeini (kazoksinler) ve insan  $\alpha_{s1}$ -kazeininde bulunmaktadır (Chiba et al., 1989; Yoskikawa et al., 1994).

Süt proteinlerinden elde edilen opioid peptitler, kadınlarda ve yeni doğan bebeklerde fizyolojik öneme sahip etkiler meydana getirmektedir (Teschemacher, 1997). Oral yolla alınan opioid peptitler bağırsaklarda emilim sürecini düzenleyebilmekte ve gastrointestinal işlevi iki yol ile etkilemektedir: İlk olarak, geçiş süresini azaltarak çizgisiz kasları etkilemekte, ikinci olarak da elektrolitlerin intestinal taşınımını etkilemektedir (Daniel et al., 1990). Bu etki ince bağırsaklarının tutulum yüzeylerinin membranlarında epitel altında bulunan opioid reseptörler vasıtasıyla veya özel lümenal bağlayıcı bölgelere aracılık edebilmektedir (Tomé et al., 1987; Murakami et al., 2004).

$\beta$ -kazomorfinlerin kan dolaşımına girer girmez hızlı bir şekilde indirgendiği iddia edilmektedir. Bununla beraber,  $\beta$ -kazeinden elde edilen opioid peptitler ve onların ön taşıyıcıları, süt veya kazeinin oral alınımına bağlı olarak yavru domuzların onikiparmak bağırsak kimusunda, yeni doğan buzağuların plazmasında ve insan ince bağırsağında saptanmıştır (Meisel, 1998; Meisel & FitzGerald, 2000; FitzGerald & Meisel, 2003). Opioid kazein parçaları, yetişkin memelilerin plazmasında belirlenememiştir (Umbach, 1985; Teschemacher, 1997). Sadece yeni doğan bebeklerin bağırsağının kazomorfinleri geçirdiği, bu yüzden onların sakin ve uyku ihtiyaçlarının yüksek olduğu ileri sürülmektedir (Stumer & Chang, 1988).

### **Antiopioid Peptitler**

κ-Kazein ve laktoferrinin peptit hidrolizi sonucunda, opioid antagonisti peptitler olan kazoksinler ve laktoferroksinler salınmaktadır. Yapılan araştırmaların, bağırsak hareketliliği ile ilgili olarak bir kazein diyetinde opioid etkili kazomorfinlerin, kazoksin ve laktoferroksinlere baskın olduğu bildirilmektedir. Buna karşın yüksek laktoferrin ve düşük kazein içeriğine sahip bir diyetle (mastitis sonrası dönem) kazoksin ve laktoferroksinin β-kazomorfine oranları artmaktadır. Bu durumda gıda, bağırsakta daha kısa süre tutulmakta ve atılmaktadır. Bunun sonucunda, süt emme dönemindeki yavruların bağırsak sistemlerinde patojenlerin yerleşmesi engellenirken, kısa bir süre için gerekli olan az miktardaki gıda da vücuda alınabilmektedir (Tunçtürk, 2003).

### **Antihipertansif Peptitler**

Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıkların (KVH) temel risk faktörlerinden biri olarak bilinmektedir. KVH gelişim riski, direkt olarak kan basıncı seviyesi ile ilişkilidir. Kan basıncı kontrolü kısmen renin-anjiyotensin sistemi ile ilişkilendirilmektedir. Anjiyotensin I dönüştürücü enzimi (ACE) farklı dokularda yerleşmiş çok işlevli, hücre dışı bir enzimdir ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İnaktif ön taşıyıcı, renin anjiyotensinojen üzerine etki etmekte, dekapeptit anjiyotensin I serbest bırakılmakta ve ACE ileri aşamalarda ortadan kaldırılmaktadır (Gobbetti et al., 2004). Böylelikle ACE inhibisyonu temel olarak hipotansif etki ile sonuçlanmaktadır. Fakat, bu durum farklı düzenleyici sistemlerin etkisiyle de bağışıklık ve sinir sistemlerinin aktivitesine yol açmaktadır (Meisel, 1993). Süt proteinlerinden elde edilen ACE inhibitörleri, kazokininler olarak adlandırılan kazeinin farklı parçalarını veya laktokininler olarak adlandırılan serum proteinlerini temsil etmektedir (FitzGerald & Meisel, 2000).

Val-Pro-Pro (VPP) ve Ile-Pro-Pro (IPP) yağsız inek sütünün *Lactobacillus helveticus* ve *Saccharomyces cerevisiae* ile fermente edilmesiyle elde edilen "Calpis" adlı alkolsüz içecekten saflaştırılan kuvvetli ACE inhibitör peptitlerdir (Nakamura ve ark., 1995). Kimyasal yolla sentezlenen bu peptitlerin antihipertansif etkisi alımdan 2-8 saat sonra gözlemlenmiştir ve bu etki alım miktarına bağlı olmaktadır. Bu iki tripeptit de *Lb. helveticus* CP790 suşunun hücre dışı proteinaz enzimleri ile hidrolize edilerek izole edilebilmektedir (Yamamoto et al., 1994). Aynı proteinaz enzimini kullanarak Maeno ve ark. (1996) kazein hidrolizatından β-kazein kaynaklı antihipertansif bir peptit tanımlamıştır. β-laktoglobulin f(142-145)den izole edilen bir tetrapeptit olan ve "β-laktosin B" olarak

adlandırılan peptitin, hipertansif fareler tarafından oral yolla alındığında önemli antihipertansif aktiviteye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Murakami ve ark., 2004).

Normal tansiyonlu ve hafif hipertansif gönüllü insanlarda yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca kazeinin triptik parçalanma ürününün günde 10 gram olmak üzere iki kez alınımının antihipertansif etki gösterdiği bildirilmiştir (Sekiya et al., 1992).

### **Bağışıklık Sistemini Aktive Eden Peptitler**

İnsan vücudunun çeşitli istilalara karşı savunmasında oluşturduğu sistemler oldukça karmaşıktır. Diyetin bu konuda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Fonksiyonel peptitlerin rolü ile ilgili araştırmalar oldukça yeni olsa da gelecek vaat eden konular olarak görülmektedir. Peptitlerin iki temel özelliği bağışıklık savunucusu olmaları ve antimikrobiyel aktiviteleridir. Bağışıklık düzenleyici peptitler, insan lenfositlerinin çoğalması, makrofajların patojenik aktivitesi ve antikor sentezlerini teşvik etmek için bulunabilmektedir. Peptitler yeni doğanların özellikle enterik bakteri olmak üzere çok sayıda bakteriye karşı vücudu savunması için T hücreleri ve doğal öldürücü hücrelerin olgunlaşması ve çoğalmasını teşvik edebilmektedir (Clare & Swaisgood, 2000). Aynı zamanda, bağışıklık düzenleyici süt peptitlerinin atopik insanlarda alerjik reaksiyonları hafifletebildiği, gastrointestinal bölgede mukozal bağışıklığın geliştirilmesinde etkili olduğu öne sürülmektedir (Korhonen & Pihlanto, 2003). Bu yolda, bağışıklık düzenleyici peptitler yeni doğanların bağışıklık sisteminin gelişimini düzenleyebilmektedir. Buna ek olarak, sütün fermentasyonu süresince meydana gelen immünopeptitlerin, antitümör etkilerine katkıda bulunduğu belirtilmektedir (Matar et al., 2003).

Şimdiye kadarki en kuvvetli antimikrobiyal peptitlerden biri, serum proteini olan laktoferrinin bir kalıntısı olan laktoferrisindir. Laktoferrisin kalıntısının yapıaktivitesi son on yıldır çalışılmakta olan bir konudur. Laktoferrinin antimikrobiyal, antifungal, antitümör ve antiviral özellikleri peptitin triptofan/arginince zengin olmasıyla ilişkili olabilir iken, antiinflamatuvar ve bağışıklık-düzenleyici özelliklerinin daha çok molekülün pozitif yüklü bölgesi ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir. Laktoferrin hidrolizatlarından elde edilen peptitler bağışıklık düzenleyici etkileri veya kanserden kimyasal kullanılarak korunma sağlamaları nedeniyle klinik uygulamalar için daha kullanışlı olabilmektedir. Laktoferrin türevlerinin ağız sağlığında ve gıda koruyucu olarak kullanımı pek çok araştırmacı tarafından da incelenmiştir (Bellamy et al., 1992; Vogel et al., 2002; Expósito & Recio, 2006).

Inek laktoferrini *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteria*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus stearothermophilus* ve *Bacillus subtilis*'e karşı antimikrobiyal etki gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalarda inek ve insan laktoferrininin ve N-terminal peptitlerinin *Giardia lamblia*'ya karşı giardisidal etki gösterdiği in vitro çalışmalarla kanıtlanmıştır (Tripathi ve Vashishtha, 2006). Bakterilere karşı gösterdiği etkiler yanında laktoferrinin antiviral ve antifungal aktiviteleri de bulunmaktadır (Jenssen & Hancock, 2009).

Daha sonraları,  $\alpha$ -laktalbumin ve  $\beta$ -laktoglobulin diğer peynir altı suyu proteinlerinin bakterisidal parçalarının potansiyel ön taşıyıcıları olarak nitelendirilmiştir. Benzer şekilde antibakteriyel kalıntılar  $\alpha$ <sub>1</sub>-,  $\alpha$ <sub>2</sub>-, ve  $\kappa$ -kazeinden de elde edilebilmektedir. Bu peptitler aktif olarak *Escherichia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, mayalar, funguslar gibi patojen organizmalara karşı geniş spektrumlu etkili olabilmektedir (Lahov & Regelson, 1996; Recio & Visser, 1999).

Hedef bakteriyel suşlara bağlı olarak peptitlerin inhibitör konsantrasyonları değişebilmektedir. Örneğin, antimikrobiyal peptitler  $\alpha$ <sub>2</sub>-kazein f183–207 ve f164–179 gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu 8 - 9  $\mu$ mol/L arasında değişim göstermektedir. Bakterisidal peptitler özellikle yeni doğanların sindirim sisteminde, mikrobiyal bir soruna karşı korunmada yardım edebilmekte, böylelikle bağırsağın immün olmayan savunması desteklenmektedir. Diğer taraftan, bu peptitler gıda güvenliği alanında ve farmasötik üretimi gibi değişik uygulamalarda kullanılabilir (Recio & Visser, 1999; Schanbacher et al., 1997).

Inek laktoferrininin, pepsin ile enzimatik hidrolizi sonucu elde edilen düşük moleküler ağırlıktaki peptit, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Streptococcus bovis* gibi çok sayıda Gram-negatif ve Gram-pozitif mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinliğe sahiptir (González-Chávez et al., 2009).

#### **Kanın Pıhtılaşmasını Engelleyen (Antitrombotik) Peptitler**

Inek  $\kappa$ -kazeini ve insan fibrinojen yapısal homologları arasındaki  $\gamma$ -zinciri Jollès & Caen (1991) tarafından bulunmuştur. Kazoplatelinler olarak bilinen ve triptik izolatlarından elde edilen  $\kappa$ -kazein kalıntısı, fibrinojen bağlayıcı trombositleri engelleyerek antitrombotik aktivite göstermektedir (Jollès & Henschen, 1982; Jollès et al., 1986). Bu peptitler gastroin-testinal sindirim süresince serbest bırakıl-

maktadır ve kan içerisinde emilmektedirler. Bu trombotik peptitlerin potansiyel fizyolojik etkileri henüz kanıtlanamamıştır Ancak bu peptitler, anne sütü ile beslenen veya inek sütü bazlı bebek maması tüketen yeni doğan çocukların plazmasında saptanmıştır (Chabance et al., 1995).

$\kappa$ -Kazeinin tripsin enzimi hidrolizi sonrası elde edilen kazopiastrin (106-110 fragmenti), fibrinojenin bağlanmasını inhibe ederek antitrombotik etki göstermektedir.  $\kappa$ -kazeinin 103-111 arasındaki fragmentleri ise trombositlerin birleşmesini önlemekte fakat trombositlerin reseptörlerine fibrinojenin bağlanmasını etkilememektedir.

Antitrombotik peptitler, çeşitli hayvan türlerinden izole edilen  $\kappa$ -kazeinoglikopeptitlerden de elde edilmektedir. İnsan  $\kappa$ -kazeinoglikopeptitlerinden elde edilen antitrombotik bir peptite 5 günlük bebeklerin emzirme sonrası kan plazmalarında rastlanmıştır. Bu peptitlerin antitrombotik aktivite açısından eczacılıktaki önemiyle ilgili çok fazla bilgi bulunmamaktadır (Şanlıdere & Öner, 2006).

#### **Antioksidatif Peptitler**

İnsan vücudunda ve gıda maddelerinde oksidasyonun önemi geniş ölçüde belirlenmiştir. Oksidatif metabolizma, hücrelerin canlılığı için gereklidir. Bu ilişkinin bir yan etkisi, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin oksidatif değişimler nedeniyle üretimidir. Serbest radikallerin oluşumu fazla olduğu zaman, süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi proteolitik enzimler oluşabilmektedir. Oluşan bu enzimler organ tahrip edici olabilmekte ve öldürücü hücreler oksidize membran lipitleri, hücre proteinleri, DNA ve enzimleri etkilemektedir. Son çalışmalar göstermektedir ki; oksidatif peptitler sindirim enzimleri ve sütün proteolitik laktik asit bakteri türleriyle fermantasyonu sonucu kazeinlerden ayrılabilir (Korhonen & Pihlanto-Leppälä, 2006). Tanımlanan peptitlerin pek çoğu  $\alpha$ <sub>1</sub>-kazein türevidir ve enzimatik ve enzimatik olmayan lipid peroksidasyon engelleyen serbest radikal temizleyici aktivite göstermektedir. Kullisaar ve ark. (2003) sağlıklı insanlarda, fermente keçi sütü tüketiminin hemoroid bölge varisi, lipoprotein fraksiyonunun oksidasyona karşı direncini sürdürme, peroksidize lipoproteinlerin, oksidize LDL,8-izoprostanların, glutatyon redoks reaksiyonlarının seviyelerini düşürme ve toplam antioksidatif aktivitenin artırılması gibi yollarla arttırdığını ifade etmiştir. Bunun yanında düşük antioksidan seviyelerinin koroner kalp hastalıklarını arttırdığı varsayılmaktadır. Antioksidatif peptitlerin insan vücudundaki koruyucu fonksiyonları konularında daha fazla araştırmaya gerek bulunmaktadır (Rival et al., 2001; Kullisaar et al., 2003).

### **Antikanserojenik Peptitler**

Peyniraltı suyu proteinleri kükürt içeren aminoasitlerce zengin bir kaynaktır ve aminoasit miktarının artması ile tümör oluşumu arasında ters bir orantı olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından doğrulanmıştır. Bu aminoasitlerden sistein, tümör oluşumunu engelleme özelliğine sahip olan glutatyonun biyosentezinde görev yapmaktadır. Hücreler yüksek oranda glutatyon gibi fazla miktarda sülfidril içeren bileşikler üreterek kendilerini hasardan korumakta ve böylece tümör oluşumu engellenmektedir. Ayrıca kazein hidrolizatları fekal  $\beta$ -glukuronidaz aktivitesini inhibe etmekte ve bazı immun fonksiyonları arttırmaktadır.

Yapılan bazı çalışmalarda inek sütünde bulunan laktoferrinin, tümör gelişimini engellediği belirlenmiştir. Yine bu çalışmalarda fare besinlerine katılan laktoferrinin ve laktoferrin hidrolizatlarının, kanserli hücrelere etki ettiği, kolon ve akciğer tümörlerinde büyüme hızını azalttığı ve tümörlerin vücudun başka bölgelerine yayılmasına engel olduğu bildirilmektedir (Yılmaz et al., 2008).

### **Mineral Bağlayıcı Peptitler**

Mineral metabolizmasını etkileyen biyoaktif bileşenlerin sütteki varlığı, ilk olarak 1950 yılında Mellander tarafından ortaya atılmıştır. Mellander, kazeinden elde edilen fosforilize peptitlerin, raşitik bebeklerde D vitamininden ayrı olarak kemikte kalsiyum tutulumunu arttırdığını ifade etmiştir (Kırımhan & Gürsel, 2007). Pirinç bazlı bebek mamalarının kazeinofosfopeptitlerle (KFP) zenginleştirildiği bir çalışmada, kalsiyum ve çinko emiliminde bir artış olduğu belirtilmektedir (Yılmaz et al., 2008).

Kazeinofosfopeptitler bir fosforil köküne sahip olan peptitlerdir. Negatif yükteki fosfat peptitlerinin yüksek konsantrasyonu onları ileri proteolizlere karşı dirençli yapmaktadır (FitzGerald, 1998). KFP'ler çözünür organo-fosfat tuzlarından meydana gelebilmekte ve ince bağırsağın uç kısmında kalsiyum çökmesini de sınırlayarak kalsiyum emiliminin artmasına sebep olmaktadır. Negatif yüklenmiş bölge zincirleri (özellikle amino asitlerin fosfat grupları) mineraller için bağlayıcı bölge olmaktadır (Meisel, 1998). KFP ler Ca, Mg, Fe ve Zn ile bağlanmış halde bulunabilmektedir. Bundan dolayı dış hastalıklarının tedavisinde KFP uygulamalarının etkin olduğu bildirilmektedir. Uzun zamanlardan beri KFP lerin mineral maddeleri

bağlayabildiği ve çözdüğü, osteoporoz, diş hastalıkları, hipertansiyon ve anemi gibi rahatsızlıklara karşı korumada fizyolojik yararlarının olduğu bildirilmektedir (Clare & Swaisgood, 2000).

### **Osteoporoz Karşıtı Peptitler**

Bağırsakta yüksek miktarda çözünür veya kullanılabilir kalsiyum emilimi, kemik mineralizasyonunu arttırmakta ve böylelikle kronik bir hastalık olan osteoporozu karşı koruyucu etki sağlamaktadır. Süt kalsiyumun yanında, kemik sağlığı için olumlu etkileri olan pek çok bileşeni de içermektedir. Kazein ve kazeinden elde edilmiş peptitlerin osteoporozdan koruyucu etkiler gösterdiği uzun yıllardır bilinmektedir. Jelatin, gluten, defosforilize kazein, serum proteinleri veya soya proteini izolatları gibi diğer proteinler ile karşılaştırıldığında kazein farelerin intestinal kalsiyum emilimini arttırmaktadır. Bazı durumlarda, kalsiyum birikimi ve kemik mineral bileşimi üzerine hiçbir etki gözlenmemiştir. Peynir altı suyu proteinlerince beslenenler ile karşılaştırıldığında kazein ile beslenen fareler 24 hafta süresince önemli miktarda kalsiyum birikimi göstermiştir. Ancak bu etki yalnız yetişkin farelerde belirlenmiştir (Möller et al., 2008).

### **SONUÇ**

Süt bazlı biyoaktif peptitler insan sağlığı ve beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Hangi çeşit biyoaktif peptitin yararlı, gıda bileşeni veya ilaç olarak cazip olduğu dikkatlice çalışılması gereken bir konudur. Yeni diyet ürünü ve ilaçların tasarlanma olanağı beslenmeye bağlı kronik hastalıkların azalmaya veya kontrolüne yardım etmesine yönelik geleceği parlak görünen bir konudur. ACE inhibitörü peptitler, bağışıklık düzenleyici peptitler ve kazeinofosfopeptitler sağlığa yararlı etkileri nedeniyle gıda maddesi formülasyonlarının hazırlanması için kullanılan en gözde biyoaktif peptitlerdir. Kazeinden türetilen peptitler diyetset eklenti ve tablet, dış macunu ve dış dolgu materyali gibi farmasötik formülasyonlarda ilginç uygulamalar olarak halen bulunmaktadır. Bu peptitlerin insan ve hayvanlarda kullanımının güvenli şartlarda olması gerekmektedir. Ayrıca bu peptitlerin etkinliği ile ilgili çalışmaların henüz sonuçlanmamış olup, araştırmalar halen yoğun şekilde sürdürülmektedir.

### **KAYNAKLAR**

Antila, P, Paakkari, I., Jarvinen, A, Mattila, M.J., Laukkanen, M., Pihlanto-Leppälä, A., Mantsala, P., Hellman, J 1991. Opioid peptides derived from *in vitro* proteolysis of bovine whey proteins. *Int. Dairy J.*, 1, 215–229.

Bellamy, W., Takase, M., Wakabayashi, H., Kawase, K., Tomita, M 1992. Antibacterial spectrum of lactoferrin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *J. Appl. Bacteriol.*, 73, 472–479.

- Brantl, V., Teschemacher, H., Henschen, A 1979. Lottspeich, F. Novel opioid peptides derived from casein (casomorphins) Isolation from bovine casein peptone. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 360, 1211-1216.
- 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 new born plasma after milk ingestion. *Br. J. Nutr.*, 73, 583-590.
- Chiba, H., Tani, F., Yoshikawa, M 1989. Opioid antagonist peptides derived from  $\kappa$ -casein. *J. Dairy Res.*, 56, 363-366.
- Chiba, H, Yoshikawa, M 1986. Biologically functional peptides from food proteins: New opioid peptides from milk proteins. In *Protein Tailoring for Food and Medical Uses*; Feeney, R.E.; Whitaker, J.R. Eds.; Marcel Dekker Inc.: New York, 123-153.
- Christensen, J.E., Dudley, E.G., Pederson, J.A., Steele, J.L. 1999. Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Leeuwenhoek*, 76: 217-246.
- Clare, D.A., Swaisgood, H.E 2000. Bioactive milk peptides: A prospectus, *J. Dairy Sci.*, 83, 1187-1195.
- Daniel, H., Vohwinkel, M., Rehner, G 1990. Effect of casein and  $\beta$ -casomorphin on gastrointestinal motility in rats. *J. Nutr.*, 120, 252-257.
- Expósito, I.L., Recio, I 2006. Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins *Int. Dairy J.*, 16, 1294-1305.
- Fiat, A.M., Migliore-Samour, D., Jolles, P., Drouet, L., Bal Dit Soitier, C., Caen, J 1993. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities. *J. Dairy Sci.*, 76, 301-310.
- FitzGerald, R.J 1998. Potential uses of caseinophosphopeptides. *Int. Dairy J.*, 8, 451-457.
- FitzGerald, R.J., Meisel, H 2000. Milk protein derived inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. *Br. J. Nutr.*, 84, S33-S37.
- FitzGerald, R.J., Meisel, H 2003. Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. In *Advanced dairy chemistry*, Vol. 1, *Proteins*, 3rd ed.; Fox, P.F.; McSweeney, P.L.H.; Eds.; New York, 675-698.
- FitzGerald, R.J., Murray, B.A., Walsh, D.J 2004. Hypotensive peptides from milk proteins. *J. Nutr.*, 134, 980-988.
- Gobbetti, M.; Minervini, F.; Rizzello, C.G 2004. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *Int. J. Dairy Technol.*, 57, 172-188.
- Gomez-Ruiz, J.A., Ramos, M., Recio, I 2002. Angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheeses manufactured with different starter cultures. *Int. Dairy J.*, 12, 697-706.
- González-Chávez, S.A., Arévalo-Gallegos, S., Rascón-Cruz, Q 2009. Lactoferrin: structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents* 33 (2009) 301.e1-301.e8.
- Gobbetti, M., Minervini, F., Rizzello, C.G 2004. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *Int. J. Dairy Technol.*, 57, 172-188.
- Jenssen, H., Hancock, E.W 2009. Antimicrobial properties of lactoferrin. *Biochimie*, 91, 19-29.
- Jollès, P., Henschen, A 1982. Comparison between the clotting of blood and milk. *Trend. Biochemical Sci.*, 7, 325-328.
- Jollès, P., Caen, J.P 1991. Parallels between milk clotting and blood clotting: opportunities for milk-derived products. *Trend. Food Sci. Technol.* 1991, 2, 42-43.
- Jollès, P.; Lévy-Toledano, S., Fiat, A.M., Soria, C., Gillessen, D., Thomaidis, A., Dunn, F.W., Caen, J.B 1986. Analogy between fibrinogen and casein. *Eur. J. Biochem.*, 158, 379-384.
- Kırımhan, E.Ü., Gürsel, A 2007. Sütte bulunan biyoaktif peptitler. *Akademik Gıda* (5) 27, 3-9. Mayıs-Haziran 2009.
- Korhonen, H 2009. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods* 1, 177-187.
- Korhonen, H, Pihlanto, A 2003. Bioactive peptides: New challenges and opportunities for the dairy industry. *Aus. J. Dairy Technol.*, 58, 129-134.
- Korhonen, H., Pihlanto-Leppälä, A 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.*, 16, 945-960.
- Kullisaar, T., Songisepp, E., Mikelsaar, M., Zilmer, K., Vihalemm, T., Zilmer, M 2003. Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. *Br. J. Nutr.*, 90, 449-456.
- Lahov, E., Regelson, W. 1996. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: casecidin, isracidin peptides. *Food Chem. Toxicol.*, 34, 131-145.
- Lund M., Ardö, Y 2004. Purification and Identification of Water-Soluble Phosphopeptides from Cheese Using Fe(III) Affinity Chromatography and Mass Spectrometry *J. Agric. Food Chem.*, 52, 6616-6622.
- Maeno, M., Yamamoto, N., Takano, T 1996. Isolation of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790, *J. Dairy Sci.*, 79, 1316-1321.
- Matar, C., LeBlanc, J.G., Martin, L., Perdigon, G 2003. Biologically active peptides released in fermented milk: Role and functions. In *Handbook of fermented functional foods. Functional foods and nutraceuticals series*; Farnworth, E.D.; Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2003; 177-201.
- Meisel, H. 1993. Casokinins as inhibitors of angiotensin I converting enzyme. In *New perspectives in infant nutrition*; Sawatzki, G.; Renner, B.; Eds.; Thieme: Stuttgart, New York, 153-159.
- Meisel, H 1997. Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins. *Biopolymers*, 43, 119-128.
- Meisel, H 1998. Overview on milk protein-derived peptides. *Int. Dairy J.*, 8, 363-373.
- Meisel, H., FitzGerald, R.J 2000. Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences, *Br. J. N.*, 84, 27-31.
- Meisel, H., Goepfert, A., Günther, S 1997. ACE-inhibitory activities in milk products. *Milchwissenschaft*, 52, 307-311.
- Mizuno, S., Nishimura, S., Matsuura, K., Gotou, T., Yamamoto, N 2004. Release of short and proline-rich antihypertensive peptides from casein hydrolysate with an *Aspergillus oryzae* protease, *J. Dairy Sci.*, 87, 3183-3188.
- Möller, N.P., Scholz-Ahrens, K.E., Roos, N., Schrezenmeir, J 2008. Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *Eur J Nutr* (2008) 47: 171-182.
- Murakami, M., Tonouchi, H., Takahashi, R., Kitazawa, H., Kawai, Y., Negishi, H 2004. Structural analysis of a new antihypertensive peptide ( $\beta$ -lactosin B) isolated from a commercial whey product, *J. Dairy Sci.*, 87, 1967-1974.
- 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.
- Nakamura, Y.; Yamamoto, N.; Sakai, K.; Takano, T 1995. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme, *J. Dairy Sci.*, 78, 1253-1257.

- Paroli, E 1988. Opioid peptides from food (the exorphins) *World Rev. Nutr. Diet*, 55, 58–97.
- Phelan, M., Aherne, A., FitzGerald, R.J., O'Brien, N.M 2009. Casein-derived bioactive peptides: Biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *International Dairy Journal*, 19, 643–654.
- Pihlanto-Leppälä, A 2001. Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: Opioid and ACE-inhibitory peptides. *Trend. Food Sci. Technol.* 11, 347–356.
- Recio, I., Visser, S. 1999. Two ion-exchange methods for the isolation of antibacterial peptides from lactoferrin—in situ enzymatic hydrolysis on an ion-exchange membrane, *J. Chromatography*, 831, 191–201.
- Rival, S.G., Fornaroli, S., Boeriu, C.G., Wichers, H.J 2001. Caseins and casein hydrolysates. I. Lipoygenase inhibitory properties. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 287–294.
- Rokka, T., Syväoja, E-L., Tuominen, J., Korhonen, H 1997. Release of bioactive peptides by enzymatic proteolysis of *Lactobacillus* GG fermented UHT-milk. *Milchwissenschaft*, 52, 675–678.
- Ryhänen, E.L., Pihlanto-Leppälä, A., Pakkala, E 2001. A new type of ripened; low-fat cheese with bioactive properties. *Int. Dairy J.*, 11, 441–447.
- Saito, T., Nakamura, T., Kitazawa, H., Kawai, Y., Itoh, T 2000. Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda cheese. *J. Dairy Sci.*, 83, 1434–1440.
- Schanbacher, F.L., Talhouk, R.S., Murray, F.A 1997. Biology and origin of bioactive peptides in milk. *Liv. Prod. Sci.*, 50, 105–123.
- Sekiya, S., Kobayashi, Y., Kita, E., Imamura, Y., Toyama, S 1992. Antihypertensive effects of tryptic hydrolysate of casein on normotensive and hypertensive volunteers. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.*, 45, 513–517.
- Sevérin, S., Wenshui, X 2005. Milk biologically active components as nutraceuticals: review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 45, 645–656.
- Singh, T.K., Fox, P.F., Healy, A 1997. Isolation and identification of further peptides in the diafiltration retentate of the water-soluble fraction of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, 64, 433–443.
- Sturmer, R.A.; Chang, K.J 1988. Opioid peptide content in infant formulas. *Pediatric Res.*, 23, 4–10.
- Şanlıdere, H., Öner, Z 2006. Süt ürünlerinde bulunan biyoaktif peptitler ve fonksiyonlar. *GIDA* (2006) 31 (6): 311-317.
- Teschemacher, H., Brantl, V 1994. Milk protein derived atypical opioid peptides and related compounds with opioid antagonist activity. In *β-Casomorphins and Related Peptides: Recent Developments*; Brantl, V.; Teschemacher, H. Eds.; VCH: Weinheim, 3–17.
- Teschemacher, H., Koch, G., Brantl, V 1997. Milk protein-derived opioid receptor ligands. *Biopolymers*, 43, 99–117.
- Tomé, D., Dumontier, A.M., Hautefeuille, M., Desjeux, J.F 1987. Opiate activity and transepithelial passage of intact *b* - casomorphins in rabbit ileum. *Am. J. Physiol.*, 253, G737–G744.
- Tripathi, V., Vashishtha, B 2006. Bioactive compounds of colostrum and its application. *Food Reviews International*, 22, 225-244.
- Tunçtürk, Y 2003. Sütte bulunan biyoaktif proteinler ve peptitler. *Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, 22-23 Mayıs 2003, İzmir. S. 335-340 Bildiri No: P33.
- Umbach M, Teschemacher H, Praetorius K, Hirschhäuser R & Bostedt H 1985. Demonstration of a  $\beta$ -casomorphin immunoreactive material in the plasma of newborn calves after milk intake. *Regulatory Peptides*, 12, 223–230.
- Vogel, H.J., Schibli D.J., Weiguo, J., Lohmeier-Vogel, E.M., Epan, R.F., Epan, R.M. 2002. Towards a structure-function analysis of bovine lactoferricin and related tryptophan and arginine containing peptides. *Biochem. Cell Biol.*, 80, 49–63.
- Yamamoto, N., Akino, A., Takano, T 1994. Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *J. Dairy Sci.*, 77, 917–922.
- Yoshikawa, M., Tani, F., Shiota, H., Usui, H., Kurahashi, K., Chiba, H 1994. Casoxin D, an opioid antagonist/ileum-contrcting/vasorelaxing peptide derived from human  $\alpha_1$ -casein. In *β-Casomorphins and Related Peptides: Recent Developments*; Brantl, V.; Teschemacher, H.; Eds.; VCH: Weinheim, 43–48.
- Yılmaz, L., Özcan-Yılsay, T., Akpınar-Bayizit, A 2008. Süt Protein Bazlı Biyoaktif Peptitlerin Fonksiyonel Özellikleri. *Hasad Gıda* Yıl 23, sayı 272. 34-37. Ocak-Şubat.