

GIDALARDA BİYOAKTİF PEPTİT OLUŞUMU VE AKTİVİTESİ ÜZERİNE ISIL İŞLEM VE FERMANTASYONUN ETKİLERİ

Fadime Begüm Otağ*, Mehmet Hayta

Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

Geliş tarihi / *Received*: 01.02.2013

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 05.05.2013

Kabul tarihi / *Accepted*: 00.00.2013

Özet

Gıdalarda doğal olarak bulunan proteinlerden sindirim sırasında enzimatik hidrolizle veya fermantasyon yoluyla fizyolojik olarak pek çok faydası bulunan biyoaktif peptitler oluşur. Bu peptitlerin biyolojik aktivitesi antimikrobiyel etki, kan basıncını düşürücü etki (Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE) inhibitörü), kolesterol düşürme, antitrombotik ve antioksidan etki, mineral absorpsiyonu/biyoyararlılığını artırma, immunomodülatör ve opioid etkiler olarak sıralanabilir. Birçok gıda tüketime sunulmadan önce çeşitli proseslerden geçer. Gıda teknolojisinde yaygın olarak kullanılan ısı işlem ve fermantasyon gibi prosesler protein yapısını dolayısıyla biyoaktif peptit aktivitesini etkilemektedir. Bu derlemede gıda işleme proseslerinin biyoaktif peptit oluşumu ve aktivitesi üzerine etkilerinin ele alındığı çalışmalar incelenmiş ve ısı işlem ve fermantasyonun biyoaktif peptitler üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Biyoaktif peptitler, ısı işlem, fermantasyon

EFFECTS OF HEAT TREATMENT AND FERMENTATION ON THE FORMATION AND ACTIVITY OF BIOACTIVE PEPTIDES IN FOODS

Abstract

Bioactive peptides, which are physiologically useful, result from proteins which exist in foods naturally by enzymatic hydrolysis during digestion or fermentation. Biological activities of these peptides can be listed as antimicrobial activity, antihypertensive activity (Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE) inhibitors), cholesterol lowering effect, antitrombotic and antioxidant effect, mineral absorption/bioavailability increasing activity, immunomodulatory and opioid activity. Many foods are processed before consumed. Processes such as thermal treatment and fermentation which are commonly used in food technology have an effect on protein structure and thereby bioactive peptides activity. In this review, studies about formation of bioactive peptides and their activities have been investigated and effects of thermal treatment and fermentation on bioactive peptides have been researched.

Keywords: Bioactive peptides, heat treatment, fermentation

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ begumotag@gmail.com,

☎ (+90) 352 437 5755,

☎ (+90) 352 437 5784

GİRİŞ

Proteinlerin diyetteki fizyolojik aktif bileşenler olarak rolü giderek artmaktadır. Gıda maddelerinde doğal olarak bulunan pek çok protein, fizyolojik aktivitesini direkt olarak veya in vitro/in vivo enzimatik hidroliz sonrası göstermektedir. Son yıllarda diyetle alınan proteinin zengin bir biyoaktif peptit kaynağı olduğu anlaşılmıştır (1). Gıda kaynaklı biyoaktif peptitler, normal ve yeterli beslenmede metabolizmada düzenleyici fonksiyonları bulunan bitki ve hayvan kaynaklı peptitleri ifade eder (2). Bu peptitler bulunduğu protein dizisinde inaktif haldedir ve üç yolla aktif hale geçebilir (1):

- (a) sindirim enzimleri tarafından hidroliz yoluyla,
- (b) proteolitik mikroorganizmalar tarafından hidroliz yoluyla,
- (c) mikroorganizma veya bitkilerden salınan proteolitik enzimlerin etkisiyle

Biyoaktif potansiyele sahip, pek çok sayıda hayvan veya bitki kaynaklı peptit bulunmuş ve bu peptitler bugüne kadar en çok süt kaynaklı ürünlerden izole edilmiştir. Bu biyolojik aktiviteye sahip proteinler süt, yumurta, et ve balık gibi hayvan kaynaklı veya soya ve buğday gibi bitki kaynaklı olabilir (2).

Biyolojik aktivite, antimikrobiyel etki, kan basıncını düşürücü etki (Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE) inhibitörü), kolesterol düşürme, antitrombotik ve antioksidan etki, mineral absorpsiyonu/ biyoyararlılığını artırma, immunomodülatör ve opioid etkiler gibi geniş bir yelpazede tanımlanmaktadır (3).

Gıda üretimi sırasında uygulanan prosesler dolayısıyla, hammaddede bulunan proteinler fonksiyonel ve biyolojik özellikleri bakımından hızla değişime uğrarlar. Örneğin pH değişikliğine yol açan kimyasal işlemler, bir veya daha fazla amino asidin modifiye olmasıyla proteinlerin fonksiyonel özelliklerini ve besleyici değeri belirleyen sindirilebilirliği etkileyebilmektedir. Yine ısı işlemler denatürasyona bağlı olarak enzim inhibitör aktiviteleri üzerine etkili olabilmektedir. Ayrıca enzimatik hidroliz sonucu peptitlerin ve diğer potansiyel birçok reaksiyonun meydana gelmesi söz konusudur (4, 5).

Bu derlemede gıda işleme proseslerinin biyoaktif peptit oluşumu ve aktivitesi üzerine etkilerinin ele alındığı çalışmalar hakkında bilgi verilmesi

böylelikle gıdaların fonksiyonel değerlerini muhafaza edebilmelerini sağlamada dikkat edilecek hususlar ile ilgili olarak temel bilgi oluşturulması amaçlanmıştır. Gıda teknolojisinde çok farklı proses uygulamaları bulunmaktadır. Ancak ısı işlem ve fermantasyon gibi işlemler sıklıkla kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu çalışma kapsamında bu proseslerin biyoaktif peptitler üzerine etkileri gözden geçirilecektir.

ISIL İŞLEM

Isıl işlem gıda endüstrisinde kullanılan en eski ve yaygın yöntemdir. Gıdalarda sterilizasyonu sağlama, kıvam ayarlama ve gıdaların yenilebilir hale gelmesi gibi pek çok alanda ısı işlem kullanılmaktadır. Isıl işlemin yoğunluğuna bağlı olarak proteinlerde yapısal modifikasyonlar meydana gelerek hem teknolojik açıdan önemli olan fonksiyonel özelliklerde hem de proteinlerin biyolojik değerini belirleyen besin özelliklerinde pozitif veya negatif yönde değişimler ortaya çıkabilmektedir (6).

Süt ve süt ürünleri

Neredeyse bütün süt ürünlerinin üretiminde ısı işlem kullanılması sebebiyle, ısı etkisi süt ve süt ürünlerinin kimyasında önemli bir yere sahiptir. Isıl işlem termizasyondan (65 °C'de 15 saniye) sterilizasyona (120 °C'de 10-20 dakika) ya da yüksek sıcaklık (UHT) işlemine (138-142 °C'de birkaç saniye) kadar geniş bir alanda uygulanmaktadır (7).

Süt ısıtıldığı zaman yarışmacı ve genellikle birbirine bağlı birçok reaksiyon oluşur ve her bir reaksiyonun önemi, süt kompozisyonu ve konsantrasyonu gibi faktörlerin yanında ısıtma koşullarıyla da belirlenir. Süt proteinleri bileşimi göz önüne alındığında özellikle önemli olan reaksiyonlar serum proteinlerinin denatürasyonu, denatüre serum proteinlerinin diğer proteinlerle (kazein miselleri de dâhil olmak üzere) interaksiyonları ve kazein misel ayrışma reaksiyonlarıdır. Bu üç reaksiyon sütün fizikokimyasal özelliklerini modifiye eder, süt stabilitesinin belirlenmesinde ve fonksiyonel performansında önemli rol oynar (7).

Serum proteinleri sütte bulunan ısıya duyarlı, globüler, suda çözülebilen proteinler ve enzimleri kapsayan gruptur. Isıya karşı dayanıklı olan kazeinlere kıyasla globüler serum proteinleri (özellikle alfa-laktalbümin ve beta laktoglobülin) sadece belirli bir sıcaklık aralığında doğal konformasyonlarını koruyabilirler.

Süt proteinleri ısı ile muamele edildiğinde, ısıtma koşullarına bağlı olarak serum proteinleri yapısal değişikliğe uğrayarak denatüre olur. Isıl işlem süresince sıcaklığın veya sürenin artmasıyla büyüyen, beta-laktoglobülin agregatları oluşur (8). Sıcaklık veya ısıl işlem süresi arttığında alfa-laktalbümin denatürasyonu başlar. Bu, denatüre beta-laktoglobülin agregatlarıyla ve kazein misellerinin yüzeyine bağlanmış proteinlerle kompleks şekilde oluşur. Serum proteinlerinin denatürasyonunun ardından kappa-kazeinlerle reaksiyon gerçekleşir (9).

Süt proteinlerinin alkali işlem varlığında veya yokluğunda ısıyla muamelesi aminoasitlerin çapraz bağlanmasını ve rasemizasyonu indükler. Böylece, proteoliz hassasiyeti etkilenerek bu proteinlerden elde edilen ACE inhibitörü ve antihipertansif biyoaktif peptitler de değişir. Peptitlerdeki biyoaktif bölgelerin yapı değişikliği sonucu aktivite etkilenebilir (10).

Pek çok spekülasyon yaklaşım olmasına rağmen, Maillard reaksiyonları sırasında oluşan biyoaktif peptitlerin konformasyonu ve bunların aktivitesindeki değişimlerden dolayı süt protein ve peptitlerindeki glikolizasyon göz ardı edilemez. Beta-laktoglobülinlerin glikolizasyonunun bir sonucu olarak proteinlerin konformasyonel stabilitesinde ikincil yapıdaki değişimlerden kaynaklı farklılıklar olduğu bildirilmiştir (11). Bu farklılıklar molekül içi hidrojen bağlarındaki değişikliğe dayanmaktadır. Glikolizasyonun prolindeki cis/trans izomeri üzerine etkileri dolayısıyla C-terminalinde prolin içeren ACE inhibitörü peptitlerin aktivitesinin etkilenebileceği belirtilmiştir (12). Çünkü ACE inhibitörlerinin C-terminalindeki prolinin trans formdan cis forma dönüşümü, inhibitörün enzimle interaksyonunda önemli değişimlere sebep olmaktadır (10).

Beta-laktoglobülin ile yapılan bir çalışmada enzimatik hidroliz öncesinde termal denatürasyon uygulamasının enzimatik hidrolizi kontrol etmede ve yönlendirmede etkili bir yol olduğu kanıtlanmıştır. Bu sayede hem hidroliz süresi kısaltmakta hem de peptit çeşitliliği azaltılabilmekte ve böylelikle istenilen peptitin zenginleştirilmesi kolaylaştırılabilmektedir (13).

Isıl işlem serum proteinlerinin biyoyararlılığını olumsuz olarak etkiler. Yüksek aktiviteli hidrolizatlar elde etmede ısıl işlem, protein kaynağı ve enzim tipi kombinasyonunun doğru yapılmasının önemi

büyüktür. Isıl işlem ve mekanik tahribat gıda proteinlerinin biyoaktivitesini azaltabilir (14). Enzimler daha önceden ulaşılmaz olan protein bölümlerini hidrolize edebildiği için gastrointestinal sindirim sırasında salınan peptit profili değişebilir (15). 65 °C'de muamele edilmiş izolatların ACE inhibitörü aktivitesinin 95 °C'ye kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (16). Aktivitedeki bu farklılık, farklı ısıl işlemlerle serum protein izolatlarındaki yapısal değişikliğin indüklenmesiyle açıklanabilir. 65 °C'de ısıtma muhtemelen serum proteinlerindeki eriyik damla durumu olarak bilinen, hidrofobik kümelerin varlığıyla karakterize edilen katlanmamış konformasyonu indükler (17). Bu sıcaklık işlenmemiş haldeyken enzim aktivitesine engelli olan bölgelerdeki yapının değişmesine ve enzimlerin bu bölgelere ulaşarak aktivite göstermesine izin verir. Sıcaklık 90 °C'ye çıktığında yüksek molekül ağırlıklı, çözünmez agregat oluşumuyla sonuçlanan hidrofobik interaksyonlar meydana gelir (18).

Et ve et ürünleri

Enzimatik hidrolizden önce 98 °C'de 10 dakika ısıl işleme tabi tutulan domuz etinde miyozinden kaynaklı ACE inhibitör etkisinin devam ettiği kanıtlanmıştır (19). Bu konuda yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Diğer gıda maddeleri

Baklagiller zengin protein içerikleriyle önemli bir biyoaktif peptit kaynağıdır. Kuru fasulyeyle yapılan bir çalışmada 15 dakika kaynatılarak elde edilen hidrolizatların ısıl işlem uygulanmayan hidrolizatlara göre daha yüksek ACE inhibitör aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (20). Kuru fasulye, barbunya ve mercimeğin kullanıldığı bir diğer çalışmada 121 °C'de 50 dakikalık ısıl işlemin üç örnekte de ACE inhibitör aktivitesini artırdığı bulunmuştur (21).

Soya ürünlerinin prosesi sırasında, özellikle fermantasyon veya ısıl işlem boyunca, bir çok kanser hücresinde sitotoksik etki gösteren düşük molekül ağırlıklı peptitlerin oluştuğu kanıtlanmıştır (22).

Bir çalışmada iki farklı sıcaklıkta fermente edilen soya sosundan 45 °C'de fermente edilenin, 15 °C'de fermente edilenden daha fazla ACE inhibitör peptit içerdiği saptanmıştır. Bunun sebebi sıcaklıkla peptidaz aktivitesinin düşmesi olarak bildirilmiştir (23).

Çeşitli tahıl türleriyle yapılan bir çalışmada ısı işleminin karabuğday ve yulaftaki ACE inhibitör aktivitesini artırdığı, ancak mısırdakini azalttığı bildirilmiştir (24).

Bakla ile yapılan bir çalışmada sıcaklık 25 °C'den 50 °C'ye çıkarıldığında ACE inhibitör ve antioksidan aktivitede artış meydana geldiği kanıtlanmıştır (25).

Ekmek kabuğundaki peptit miktarının pişirme boyunca değişmediği bildirilmiştir. Bazı biyoaktif peptitlerin miktarı kabukla ekmek içi arasında farklılık göstermezken IPP ve LPP gibi peptitlerin kabukta daha az miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (26).

Kızartılmış yumurta örneklerinin kaynatılmış yumurtadan daha düşük IC50 değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Kızartılmış yumurta kaynatılmış olana göre daha yüksek sıcaklığa maruz kaldığından, sıcaklığın biyoaktif peptitlerin salınımını etkilediği belirtilmiştir. Ayrıca kızartmada direkt sıcaklığa maruz kalırken kaynatmada kabuktan iç kesimlere doğru kademeli bir sıcaklık artışı olabileceği ve proteinlerin tam olarak denatüre olmamasının, kaynatılmış yumurtada daha düşük sindirilebilirlik ve düşük ACE inhibitör aktivitesi gözlenmiş olmasına yol açabileceği ifade edilmiştir (27). Benzer bir çalışmada çiğ yumurta akının pepsin ile hidrolizinden sonra elde edilen IC50 değerinin (0.05mg/mL), yumurta akı kaynatıldığında (0.142 mg/mL) ve kızartıldığında (0.063 mg/mL) arttığı tespit edilmiştir (28).

Yumurta, sosis, ekmek gibi ürünlerde işleme sırasındaki ısıya bağlı olarak endojen bir siklik dipeptit olan siklo histidin-prolinin olduğu bildirilmiştir (29). Bu antioksidatif peptit çinko ile beraber alındığında diyabette glisemik kontrol mekanizmasını geliştirmektedir (30, 31).

Isıl işlemlerin protein-enzim interaksiyonunu indüklediği, bu nedenle enzimatik hidroliz neticesinde biyoaktif peptitlerin salınımını artırdığı bildirilmiştir (32).

FERMANTASYON

Doğal veya kontrollü fermantasyon, binlerce yıldır insanoğlunun gıdaların besin içeriklerini ve duysal özelliklerini korumak veya değiştirmek için kullandığı bir yöntemdir. Fermente ürünlerin tipik örnekleri peynir çeşitleri, sucuk, fermente soya fasulyesi (tofu), fermente tahıl ürünleri (ekmek) ve fermente sebze ürünleridir. Fermantasyon prosesi hammaddede doğal olarak bulunan veya

sonradan eklenen mikroorganizma yani starter kültür gerektirmektedir. Bu mikroorganizmalar gelişme sürecinde şekerleri ve proteinleri hidroliz ederler. Böylece farklı aminoasit dizilimine sahip peptitler ve serbest aminoasitler oluşur. Proteoliz derecesi bakteri türüne ve fermantasyon koşullarına bağlıdır. Fermantasyon sırasında gıdalardan elde edilen bu peptitler ve aminoasitler genellikle fermente ürünün fonksiyonel, reolojik, duysal ve biyolojik özelliklerini değiştirir (15).

Süt ve süt ürünleri

Yüksek miktarda biyoaktif peptit içeren fermente süt, *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 kullanılarak üretilmiştir (10).

Sütün fermantasyonu ve peynirin olgunlaşması sırasında majör süt proteinleri, sütte doğal olarak bulunan enzimlerin (özellikle plazmin), eklenen koagülant ve mikrobiyel enzimlerin özellikle starter olan veya olmayan LAB enzimlerinin aktivitesiyle çok sayıda biyoaktif peptite degrade olur (10).

Fermantasyon sırasında, LAB proteinazları, sütteki kazeini hidroliz ederek büyük peptit parçalarını oluşturur. Bunlar hücre içine taşınarak hücre içi peptidazlarla parçalanıp çeşitli büyüklükte peptitlere dönüşür ve bu peptitler genellikle ACE inhibitör aktivitesine sahiptir. Bazı ACE inhibitörü peptitler hücre dışı proteinazların ürünüdür (33), bazıları ise yoğurttaki gibi hem proteinazlar hem de peptidazların aktivitesiyle oluşur (34).

Farklı LAB ile fermente edilen sütlerdeki ACE inhibisyon aktivitesi incelenmiş ve aktivitenin fermantasyon boyunca arttığı gözlenmiştir (35). Dört farklı *Enterococcus faecalis* türüyle yapılan çalışmada proteolitik aktiviteye sahip bakterilerin durağan faza geçene kadar fermente sütteki ACE inhibitör aktivitesinin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiş ve ACE inhibitör aktivitesinin proteoliz derecesiyle yakından ilgili olduğu bildirilmiştir. Çalışmada fermantasyonun 24. saatinden sonra proteolizin düşük bir oranda olsa da artmaya devam ettiği, fermantasyon boyunca ACE inhibitör aktivitesinde ilk 6 saatte küçük bir artış olduğu, esas aktivite artışının ise 24 saatlik süreçte meydana

gelerek fermentasyon süresi 48 saat olduğunda aktivitede azalma görüldüğü kaydedilmiştir (36).

Sütün fermentasyonu boyunca immün sistemi düzenleyici peptitlerin oluştuğu ve bu peptitlerin alerjik reaksiyonları azalttığı, gastrointestinal sistemdeki mukozal bağışıklığı artırdığı dolayısıyla yenidoğanlarda immün sistemin gelişmesine katkı sağladığı bildirilmiştir (37). Fermentasyon sırasında oluşan immün düzenleyici peptitler antitümör aktiviteye de katkıda bulunmaktadır (38, 39).

Sütün laktik asit bakterisiyle beraber proteaz ile fermente edilmesi peptit içeriğini 5,6 kat artırmış bunun yanında ACE inhibisyon aktivitesi de artmıştır (40).

Peynir altı suyu, peynir yapımında bir yan ürün olarak ortaya çıkar ve sütün peynir mayası ile mayalanmasının ardından oluşan peynir pıhtısının alınmasından sonra geriye kalan sıvı kısımdır. Peynir altı suyunda bulunan biyoaktif peptitlerin ACE inhibitörü aktive gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca kolon kanseri, lenf kanseri ve beyin tümörüne karşı koruyucu etki gösterdiği hayvanlarla yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (41).

Çeşitli peynir mikrofloraları ile peynir altı suyu fermente edilmiş ve daha sonra elde edilen hidrolizatlarda ACE inhibitör aktivitesi incelenmiştir. Bu çalışmanın sonunda fermente edilmeyen peynir altı suyu hidrolizatında %14 olan ACE inhibitör aktivitesinin, fermentasyon sonunda %31 ile %56 arasında artış gösterdiği gözlenmiştir (42).

Gouda, Edam, Emmental, Camembert, Havarti ve Blue cheese gibi peynirlerin olgunlaşması sırasında oluşan peptitlerin ACE inhibitör aktivitesine sahip diziler içerdiği (43), olgunlaşmış peynirlerde düşük moleküler ağırlıklı ACE inhibitör peptitlerin bulunduğu bildirilmiştir (44). Genellikle belirli bir proteoliz artışı, ACE inhibitör aktivitesinde artışa yol açmış, fakat belli bir seviyeyi geçtikten sonra aktivitede azalma gözlenmiştir. Örneğin orta derecede olgunlaştırılan Gouda peynirinin ACE inhibitör aktivitesinin, uzun süre olgunlaştırılan Gouda peynirindeki aktiviteden yaklaşık iki kat fazla olduğu tespit edilmiştir (45).

Biyoaktif peptit oluşumunda fermentasyon koşulları ve kullanılan starter kültür önemli rol oynar. pH 3.5'e ulaşana kadar, pH düşüğe fermente sütteki (calpis) ACE inhibitörü aktivitesinde artış belirlenmiştir (46, 47).

Et ve et ürünleri

Sucukların olgunlaşması sırasında gerçekleşen proteoliz, sarkoplazmik ve miyofibriler proteinlerden kaynaklı biyoaktif peptit oluşumuyla sonuçlanır. LAB ortam pH'sını düşürerek kaslarda doğal olarak gerçekleşen proteaz aktivitesini artırır (48). Toplam kuru maddenin %1'ni oluşturan peptit ve aminoasitler sucukların fermentasyonu sırasında üretilmektedir (49). Farklı fermente et ürünleriyle yapılan bir çalışmada fermente olmayan et ürünlerinin ACE inhibitör aktivitesinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (50).

Geleneksel fermente et ürünü ile yapılan bir çalışmada olgunlaşma süresince ACE inhibitör aktivitesinin arttığı, yeni antioksidan peptitlerin oluştuğu belirtilmiştir (51).

Bakteriyosinler, genellikle LAB tarafından üretilen, antogonistik ve antimikrobiyel aktiviteye sahip peptitlerdir (52, 53). Sucuk ve salam gibi fermente et ürünlerinin olgunlaşması süresince pek çok bakteriyosin üretilmektedir (53).

Diğer gıda maddeleri

Mercimek ekstraktlarının ACE inhibitör aktivitesi doğal flora ile fermentasyona bırakıldığında %67.5'tan %90'a çıkarken, *Lactobacillus plantarum* ile yapılan fermentasyonda bu oran daha da artmış ve %93'e çıkmıştır. *Bacillus subtilis* ile fermente edildiğinde ise daha düşük aktivite gözlenmiştir. Mercimekler hem sıvı fazda hem de katı fazda fermente edilmiş ve sıvı fazda daha yüksek ACE inhibitör aktivitesi gözlenmiştir. Bunun sebebinin katı faz için uygulanan buharın proteinleri denatüre etmesi ve çöktürmesi olabileceği bildirilmiştir (54).

Fermente soya ürünleri sağlığa faydalı etkileri olan peptitlerin kaynağı olarak görülmektedir. Çünkü fermentasyon sürecinde soya proteinlerinin enzimatik hidrolizinin bir sonucu olarak biyoaktif peptitler üretilmektedir (55). Fermente soya ürününde ACE inhibitörü, antitrombotik, yüzey aktif ve antioksidan özellikler gösteren pek çok biyoaktif peptit bulunmuştur (56). Çin'de geleneksel olarak üretilen fermente soya ürünü Douchi'nin fermentasyonu sırasında ACE inhibitör aktivitesinin değişimi incelenmiş ve iki haftalık fermentasyon süresi boyunca aktivitenin arttığı ancak süre uzadıkça azalmaya başladığı görülmüştür (57). Fermente pirinç ve soya fasulyesinden hazırlanan Japon geleneksel ürünü

miso'da da fermentasyon boyunca ACE inhibitör aktivitesinin arttığı belirtilmiştir. Ayrıca kazein eklenmiş misodan elde edilen tripeptitlerin (Val-Pro-Pro ve Ile-Pro-Pro) spontan hipertansif farelerde antihipertansif etki gösterdiği bildirilmiştir (58).

Mısır, buğday veya pirincin maya ve laktik asit bakterileriyle fermentasyonu yoluyla üretilen bozada ACE inhibitörü peptitlerin varlığı tespit edilmiştir (59).

Fermente edilmiş ekmeğin hamurundaki ACE inhibitörü peptitlerin fermente olmayana göre 100 kat fazla olduğu bildirilmiştir (60).

SONUÇ

İnsan beslenmesinde önemli bir yer kaplayan süt, et ve baklagiller yüksek protein içerikleri yönüyle de dikkat çekmektedir. Bu gıdalarda bulunan proteinlerden enzimatik veya mikrobiyel hidroliz ile elde edilen peptitler insan sağlığı açısından faydalı pek çok aktivite göstermektedir. Gıdaların işlenmesinde kullanılan fermentasyon ve ısı işlem gibi proseslerin biyoaktif peptit oluşumuna etkileri sözkonusudur. Isıl işlem sütte biyoaktif peptit oluşumunu olumsuz etkilerken, baklagil ve tahıllarda yapılan çalışmalarda ısı uygulamasının aktiviteyi artırdığı gözlenmiştir. Et proteini hidrolizatlarından üretilen biyoaktif peptitler üzerine ısı işlemin etkisi konusundaki çalışmalar yetersizdir. Ancak bu konuda yapılan bir çalışmada ısı işlemin biyoaktiviteyi artırdığı belirtilmiştir. Fermentasyon sürecinde mikrobiyel hidrolizle fermente et, süt ve baklagil ürünlerinde biyoaktif peptitler oluşarak bu ürünlerin fonksiyonel değerlerinin artışı mümkün olabilmektedir. Protein kaynaklarından özellikle de gıda işleme yan ürün ve atıklarından biyoaktif peptit üretiminin gerçekleştirilmesi ve katma değeri artırılmış fonksiyonel bileşenlerin üretilmesi konusunda çalışmalar yapılması bilimsel ve teknolojik açıdan faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Korhonen H, Pihlanto A. 2006. Bioactive peptides: production and functionality. *Int Dairy J*, 16: 945-960.
2. Hartmann R, Meisel H. 2007. Food derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr Opin Biotechnol*, 18: 163-169.

3. Meisel H. 2004. Multifunctional peptides encrypted in milk proteins. *Biofactors* 21: 55-61.
4. Anantharaman K, Finot P A. 1993. Nutritional aspects of food proteins in relation to technology. *Food Rev Int*, 9: 629-655.
5. Finot, P A. 1997. Effects of processing and storage on the nutritional value of food proteins. In: *Food Proteins and Their Applications*, Danodaran S (Ed), Marcel Dekker Inc, New York, USA, pp. 551-578.
6. Boye J I, Ma C Y, Harwalkar V R. 1997. Thermal denaturation and coagulation of proteins. In: *Food Proteins and Their Applications*, Danodaran S (Ed), Marcel Dekker Inc, New York, USA, pp. 25-56.
7. Anema S G. 2009, The whey proteins in milk: Thermal denaturation, physical interactions and effects on the functional properties of milk. In: *Milk Proteins: From Expression to Food*, Thompson A (Ed), Elsevier Inc, USA, pp. 239-281.
8. Jang H D, Swaisgood H E. 1990. Disulfide bond formation between thermally denatured b-lactoglobulin and k-casein in casein micelles. *J Dairy Sci*, 73:900-904.
9. Raikos V. 2010. Effect of heat treatment on milk protein functionality at emulsion interfaces. A review, *Food Hydrocoll*, 24:259-265.
10. Lopez-Fandino R, Otte J, van Camp J. 2006. Physiological, chemical and technological aspects of milk protein derived peptides with antihypertensive and ACE inhibitory activity. *Int Dairy J*, 16:1277-1293.
11. Broersen K, Voragen A G J, Hamer R J, de Jongh H H J. 2004. Glycoforms of beta lactoglobulin with improved thermostability and preserved structural packaging. *Biotechnol Bioeng*, 86:78-87.
12. Rickert K W, Imperiali B. 1995. Analysis of the conserved glycosylation site in the nicotinic acetylcholine receptor potential roles in complex assembly. *Chem Biol (Lond)*, 2: 751-775.
13. Leeb E, Kulozik U, Cheison S. 2011. Thermal pre-treatment of β -Lactoglobulin as a tool to steer enzymatic hydrolysis and control the release of peptides. *Procedia – Food Science*, 1:1540-1546.
14. Phelan M, Kerins D. 2011. The potential role of milk-derived peptides in cardiovascular disease. *Food & Function*, 2: 153-167
15. Korhonen H, Pihlanto-Leppala A, Ranramaki P, Tupasela T. 1998. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends in Food Science and Technology*, 9: 307-319.

16. Da Costa E L, da Rocha Gontijo J A, Netto F M. 2007. Effect of heat and enzymatic treatment on the antihypertensive activity of whey protein hydrolysates. *Int Dairy J*, 17: 632-640.
17. Hirose M. 1993. Molten globule state of food proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 4: 48-51.
18. La Fuente M A, Hemar Y, Tamehana M, Munro P A, Singh H. 2002. Process-induced changes in whey proteins during the manufacture of whey protein concentrates. *Int Dairy J*, 12: 361-369.
19. Muguruma M, Ahhmed A M, Katayama K, Kawahara S, Maruyama M, Nakamura T. 2009. Identification of pro-drug type ACE inhibitory peptide sourced from porcine myosin B: Evaluation of its antihypertensive effects in vivo. *Food Chem*, 114: 516-522.
20. Rui X, Boye J I, Simpson B K, Prasher S O. 2012. Angiotensin I converting enzyme inhibitory properties of Phaseolus vulgaris bean hydrolysates: Effect of different thermal and enzymatic digestion treatments. *Food Res Int*, 49: 739-746.
21. Akilloğlu H G. 2009. Bazı Kurubaklagillerden Elde Edilen Protein Ekstraktları ve Fraksiyonlarının ADE İnhibisyon Aktiviteleri: Isıl İşlem ve *In Vitro* Sindirilirliğin Etkisi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 104 s.
22. Kitts D D, Weiler K. 2003. Bioactive proteins and peptides from food sources: applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Curr Pharm Des*, 9: 1309-1323.
23. Nakahara T, Yamaguchi H, Uchida R. 2012. Effect of temperature on the stability of various peptidases during peptide-enriched soy sauce fermentation. *J Biosci Bioeng*, 113 (3): 355-359.
24. Randhir R, Kwon Y, Shetty K. 2008. Effect of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 355-364.
25. Siow H, Gan C. 2013. Extraction of Antioxidative and Antihypertensive Bioactive Peptides from *Parkia speciosa* Seeds. *Food Chem*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.030>
26. Zhao C J, Hu Y, Schieber A, Gänzle M. 2013. Fate of ACE-inhibitory peptides during the bread-making process: Quantification of peptides in sourdough, bread crumb, steamed bread and soda crackers. *J Cereal Sci*, 57:514-519.
27. Majumder K, Wu J. 2009. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from simulated *in vitro* gastrointestinal digestion of cooked eggs. *J Agric Food Chem*, 57: 471-477.
28. Miguel M, Recio I, Gomez-Ruiz, J A, Ramos M, Lopez-Fandino R. 2004. Angiotensin I converting enzyme activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *J Food Prot*, 67: 1914-1920.
29. Prasad C, Hilton C W, Lohr J B, Robertson H J R. 1991. Increased cerebrospinal fluid cyclo (His-Pro) content in schizophrenia. *Neuropeptides*, 20: 187-190.
30. Minelli A, Bellezza I, Grottelli S, Galli F. 2008. Focus on cyclo (His-Pro): History and perspectives as antioxidant peptide. *Amino Acids*, 35: 283-289.
31. Samaranayaka A G P, Li-Chan E C Y. 2011. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Foods*, 3: 229-254.
32. Inouye K, Nakano K, Asaoka K, Yasukawa K. 2009. Effects of thermal treatment on the coagulation of soy proteins induced by subtilisin Carlsberg. *J Agric Food Chem*, 57: 717-723.
33. 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.
34. Yamamoto N, Maeno M, Takano T. 1999. Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yoghurt-like product fermented by *Lactobacillus helveticus* CPN4. *J Dairy Sci*, 82: 1388-1393.
35. Gonzalez-Gonzalez C R, Tuohy K M, Jauregi P. 2011. Production of angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk fermented with probiotic strains: Effects of calcium, pH and peptides on the ACE-inhibitory activity. *Int Dairy J*, 21: 615-622.
36. Quiros A, Ramos M, Muguerza B, Delgado M A, Miguel M, Aleixandre A, Recio I. 2007. Identification of novel antihypertensive peptides in milk fermented with *Enterococcus faecalis*. *Int Dairy J*, 17: 33-41.
37. Korhonen H, Pihlanto-Leppala A. 2003. Food-derived bioactive peptides: opportunities for designing future foods. *Curr Pharm Des*, 9: 297-1308.

38. 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*. Farnworth E R (Ed), CRC Press, USA, pp.177-201.
39. Sharma S, Singh R, Rana S. 2011. Bioactive Peptides: A Review. *International Journal of Bioautomation*, 15: 223-250.
40. Tsai J S, Chen T J, Pan B S, Gong S D, Chung M Y. 2008. Antihypertensive effect of bioactive peptides produced by protease-facilitated lactic acid fermentation of milk. *Food Chem*, 106: 552-558.
41. Yerlikaya O, Kımık Ö, Akbulut N. 2010. Peynıraltı suyunun fonksiyonel özellikleri ve peynıraltı suyu kullanılarak üretilen yeni nesil süt ürünleri. *GIDA*, 35 (4): 289-296.
42. Didelot S, Bordenave-Juchereau S, Rosenfeld E, Fruitier-Arnaudin I, Piot J M, Sannier F. 2006. Preparation of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory hydrolysates from unsupplemented caprine whey fermentation by various cheese microflora. *Int Dairy J*, 16: 976-983.
43. 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.
44. Meisel H. 1997. Biochemical properties of bioactive peptides derived from milk proteins: Potential nutraceuticals for food and pharmaceutical applications. *Livest Prod Sci*, 50: 125-138.
45. Gobbetti M, Minervini F, Rizzello C G. 2004. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *Int J Dairy Technol*, 57: 173-188.
46. Nakamura Y, Yamamoto N, 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.
47. Nielsen M S, Martinussen T, Flambard B, S rensen K I, 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. *Int Dairy J*, 19: 155-165.
48. Kato T, Matsuda T, Tahara T, Sugimoto M, Sato Y, Nakamura R. 1994. Effects of meat conditioning and lactic fermentation on pork muscle protein degradation. *Biosci Biotechnol Biochem*, 58: 408-410.
49. Dainty R, Blom H. 1995. Flavor chemistry of fermented sausages. In: *Fermented Meats*, Campbell-Platt G, Cook PE (Eds), Blackie Academic Press, UK, pp. 176-193.
50. Arihara S, Umeyama A, Bando S, Kobuke S, Imoto S, Ono M. 2004. Termiticidal constituents of the black-heartwood of *Cryptomeria japonica*. *Mokuzai Gakkaishi*, 50: 413-421.
51. Vastag Z, Popovic´ L, Popovic´ S, Petrovic´ L, Pericin D. 2010. Antioxidant and angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity in the water-soluble protein extract from petrovac sausage (petrovská kolbása). *Food Control*, 21: 1298-1302.
52. Akkoç N, Şanlıbaba P, Akçelik M. 2009. Bakteriyosinler: Alternatif gıda koruyucuları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 25: 59-70.
53. Zhang W, Xiao S, Samaraweera H, Lee E J, Ahn D U. 2010. Improving functional value of meat products. *Meat Sci*, 86: 15-31.
54. Torino M I, Lim n R I, Mart nez-Villaluenga C, Mäkinen S, Pihlanto A, Vidal-Valverde C, Frias J. 2013. Antioxidant and antihypertensive properties of liquid and solid state fermented lentils. *Food Chem*, 136: 1030-1037.
55. Rho S J, Lee J S, Chung Y I, Kim Y W, Lee H G. 2009. Purification and identification of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from fermented soybean extract. *Process Biochem*, 44: 490-493.
56. Gibbs B F, Zougman A, Masse R, Mulligan C. 2004. Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. *Food Res Int*, 37: 123-131.
57. Wang H, Li Y, Cheng Y, Yin L, Li L. 2013. Effect of the Maillard reaction on angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of douchi during fermentation. *Food Bioprocess Technol*, 6: 297-301.
58. 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. *J Biosci Bioeng*, 108:111-115.
59. Kancabaş A, Karakaya S. 2013. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of boza, a traditional fermented beverage. *J Sci Food Agric*, 93: 641-645.
60. Gänzle, M G., Vermeulen N, Vogel R F. 2007. Carbohydrate peptide, and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiol*, 24:128-138.