

Kazeinin Yapısal ve Fizikokimyasal Özellikleri

Özge Duygu Okur, Zeynep Güzel-Seydim*
Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

ÖZET

Kazein, inek sütünde toplam proteinin % 80 i olarak yer alan ve bünyesinde α_{s1} -, α_{s2} -, β - ve κ - olmak üzere farklı özelliklere sahip dört fragmentten oluşan kendine özgü yapısı ile çok özel bir proteindir. Bu makalede; kazeinin yapısı, özellikleri ile ilgili teoriler ve bu konudaki son gelişmeler anlatılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Süt, protein, kazein

ABSTRACT STRUCTURAL AND PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF CASEIN

Casein is a unique milk protein occurring as 80% of total protein in bovine milk. It mainly consists of α_{s1} -, α_{s2} -, β -, and κ -caseins possessing different properties. In this article structural characteristics of caseins were discussed.

Key Words: Milk, protein, casein

1. GİRİŞ

.....Doğanın yavruya ilk armağanı olan süt, canlının gereksinimlerini karşılayabilecek bütün besin maddelerini başta su olmak üzere proteinleri, lipitleri, karbohidratları, mineral maddeleri, vitaminleri- yeterli ve dengeli bir biçimde içerisinde bulunduran tek gıdadır. Bileşimi, farklı memelilerin sütlerinde farklılık göstermektedir. Hayvan türlerine göre, sütün kuru madde oranı %11-38, yağ oranı %1.9-22, protein oranı %2-10.5, laktoz oranı %1.8-6.7 ve mineral madde oranı

da %0.5-1.7 arasında değişmektedir. Ürün bazında önem arz eden inek sütünün bileşiminde ise, kuru madde %10.5-14.5, yağ %2.5-6, protein %2.9-5.0, laktoz %3.6-5.5, mineral madde %0.6-0.9 olarak yer almaktadır [22].

.....Süt proteinleri üzerine ilk araştırma makalesi 1814'de Berzelius tarafından yayınlanmıştır. İlk olarak 'Protein' terimini 1838 yılında Mulder'in kullandığı bilinmesine karşın, 'kazein' terimi daha önce 1830 yılında Brocconnet tarafından kullanılmıştır. Süt proteinleri üzerine ilk araştırmalar 1880'de Hammersten'in çalışmalarıyla başlamış 1930'dan itibaren hız kazanmıştır. Yapısal özelliklerinin çok özel ve kendine has olmasından dolayı süt proteinlerinin çeşitli yönleri üzerine yoğun araştırmalar günümüze kadar devam etmiş ve çeşitli temel bilgilerin yeni analitik metodlarla güncellenmesi ve bu bilgilerin de kullanılmasıyla da halen devam etmektedir [20, 21, 5, 6, 7, 23, 25, 1, 2, 24, 9, 10, 19].

Süt proteinleri, 20°C de pH 4.6 da çözünebilirliklerine bağlı olarak ikiye ayrılırlar. Bu şartlar altında, kazeinler pıhtılaşırken serum veya peyniraltı suyu (PAS) proteinleri pH 4.6 da çözünebilir kalan proteinler olarak bilinmektedir. Kazein, inek sütündeki toplam azotun yaklaşık %80'i olarak yer almakta, insan sütünde ise proteinin sadece %40'ını oluşturmaktadır. Kazein ve PAS protein fraksiyonlarının her ikisi de oldukça heterojendir ve çok farklı moleküler ve fiziko-kimyasal özelliklere sahiptirler. Süt proteinleri değişik fiziko-kimyasal özelliklerinden dolayı farklı fonksiyonel ve

-Sütün fiziksel ve organoleptik özelliklerinde önemli değişiklikler olmaksızın, sterilize edilebilmesi, konsantre edilebilmesi veya kurutulabilmesi ile geniş ürün yelpazesine izin veren yüksek ısı stabilitesi,

-Fermente süt ürünlerinin, peynirlerin ve fonksiyonel süt proteinlerinin üretimine izin veren pH 4.6 izoelektrik noktada kazeinlerin koagüle olmaları önem taşımaktadır.

2. KAZEİNİN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ

İnek sütünde kazeinler, α_1 - α_2 - β - ve κ - olmak üzere farklı özelliklere sahip olan başlıca dört fragmentten oluşmakta ve tüm kazeinde, sırasıyla bunların yüzdeleri %38, %10, %36, %12 olarak verilmektedir [7, 10]. Kazeinlerin moleküler özellikleri aşağıda özetlenmiştir:

1- Moleküler özellikleri: Kazeinler, moleküler ağırlıkları 20-25 kDa ve çapları 50-500 nm olan küçük moleküllerdir. Kazeinlerin yoğunlukları (hidrate olmuş) 1.0632 g/cm^3 , sütteki partikül sayıları ortalama 10^{14} - 10^{16} /ml, peptit zincir sayısı 10^{14} - 10^{16} dır [9].

2- Fosfor içerikleri: Tüm α_1 -kazein molekülleri 8-9 PO_4 grubu, β - kazein genellikle 4-5 PO_4 grubu, α_2 -kazein ise 10-13 PO_4 grubu içerir. Çoğu κ - kazein molekülleri de nispeten daha az 1-3 PO_4 grubu içerebilmektedir [10].

3- Katyonlarla bağ oluşturma özellikleri: Fosfat grupları önemli bileşimler olup sütte güçlü derecede polivalent katyonlarla ester bağları oluşturabilirler. Sütte bağlanan başlıca katyon kalsiyum olup, nadir olarak çinko gibi diğer katyonlara da bağlanabilirler. Bu katyonlar besinsel olarak da çok önemlidir. Katyonların bağlanması, yük nötralizasyonuna ve 30°C de Ca^{2+} konsantrasyonu 6 mM dan fazla olduğunda α_1 - α_2 - ve β -kazeinlerin moleküler stabilizasyonunu kaybederek çökmesine sebep olmaktadır. İnek sütü 30 mM Ca içerdiği için sütte bu kazeinlerin çökmesi beklenilmektedir. Fakat, 1 PO_4 grubu içeren κ -kazein katyonlara zayıf derecede bağlanmakta ve onlar tarafından çöktürülmemektedir. κ -kazeinin kalsiyum iyonlarına duyarlı olmaması ve kendi ağırlığının 10 katı kadar kalsiyuma hassas kazeinleri stabilize edebilmesi kazein misellerinin stabilizasyonunda çok önemli yapısal bir özelliktir [10].

4- Disülfid bağ oluşturma

şekilleri: Sadece α_2 - ve κ - kazein sistein içermekte ve dolayısıyla fragmentler arası disülfid bağları oluşabilmektedir. α_2 -kazein genellikle disülfid bağlı dimerler halindedir. En azından 10 κ - kazein molekülüne kadar intermoleküler disülfid bağlarıyla polimerize olabilmektedir. α_1 - ve β -kazeinlerdeki sistein aminoasitinin yokluğu esnekliklerini arttırmaktadır [11].

5- Prolin içerikleri: Tüm kazeinler, özellikle de β - kazein fazla miktarda prolin içermektedir. β - kazeindeki 209 aminoasitin 35 tanesi prolin olup molekülde homojen olarak dağılmıştır. Yüksek prolin içeriği, α -heliks, β -sheet ve β -turn yapılarının oluşumunu dolayısıyla ikincil yapı oluşumunu engellemektedir [18]. Prolin bir imino asit olduğundan amino grubuna sahip değildir ve helikslerde yer alan prolin residülerinin hidrojen bağlanma bölgelerini engelleyebildikleri düşünülmektedir.

6- Reomorfik yapı: Teorik hesaplamalar, kazeinlerin bazı yüksek yapıya sahip olduğunu göstermesine karşın, deneysel çalışmalar kazeinlerin düşük seviyelerde ikincil ve üçüncül yapıya sahip olduğunu göstermiştir. Yukarıda bahsedildiği gibi, ikincil yapıların eksikliğinden dolayı kazeinler çok stabil olmayan esnek yapılara sahiptir; bu yapılar 'reomorfik' olarak tanımlanır. Dayanım kazandıran ikincil ve üçüncül yapıların eksikliği, kazeinleri ısı uygulaması veya üre gibi denatüre edici maddelere karşı dayanıklı hale getirmekte, onların yüksek yüzey aktivitesine (iyi bir köpük oluşumu ve emülsifiye özellikleri gelişimi) katkıda bulunmakta, onları gıda uygulamalarında protein hidrolizatlarının üretimi için ve peynir olgunlaşmasında lezzet bileşenlerinin oluşumu için önemli olan proteolize karşı kolayca hassas hale getirmektedir [11].

7- Hidrofobik özellikleri: Kazeinler nispeten hidrofobiktir. Özellikle, farklı yapılarından dolayı yüksek yüzey hidrofobikliğine sahiptirler. Hidrofobik, polar ve yük içeren bileşenler, dizilimler boyunca homojen dağılmamıştır; hidrofobik ve hidrofilik kısımlar olarak meydana gelmektedirler. Dolayısıyla bu güçlü amfipatik kısımlar yüksek yüzey aktif özellik vermektedirler. Bununla bağlantılı olarak, bu yapıları yüksek yüzey aktif yapan, güçlü amfipatik yapılar vermeleridir. κ - kazeinin 2/3 si olan azot ucu hidrofobik iken, 1/3'i olan karbon ucu güçlü derecede hidrofildir. Bu yapısal özellik, kazein misellerinin stabilitesi ve özellikleri için çok önemlidir. Hidrofobik özelliği, çoğu peynir çeşidinde kazeinlerin önemli duyusal bir kusur olan acılığa yüksek eğilimde olmasının nedenini açıklamaktadır [11].

Yapılan çoğu çalışmada, β -kazein için gözlemlenen merkezi hidrofobik çekirdek ve kirpi benzeri dış yüzeyi oluşturan hidrofilik peptitlerle oluşturulan deterjan benzeri misel yapısına, çoğunlukla



Şekil 1. Bazı Kazein Fraksiyonlarının Yapıları [16].

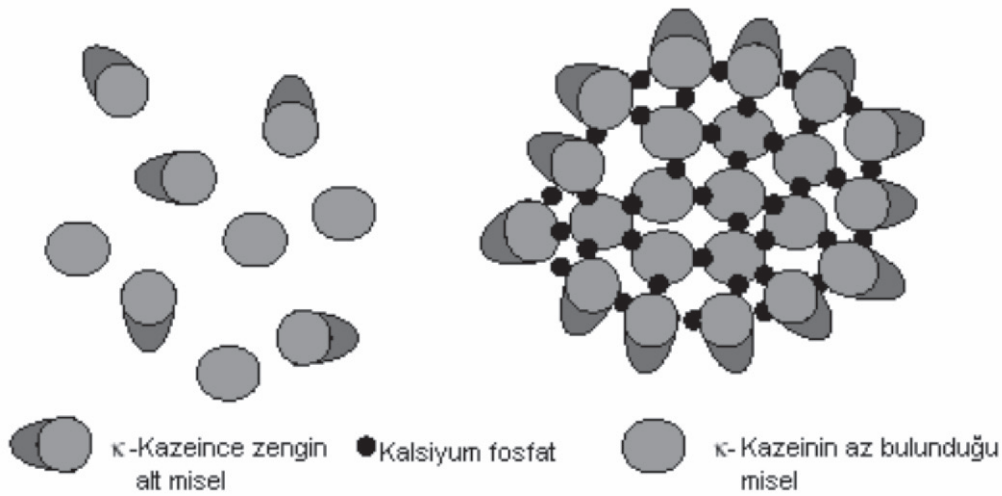
8- Kazeinlerin karbonhidrat içerikleri: κ -kazein, tek glikoz içeren kazeindir. κ -kazein'in C-uç bölgesinde oligosakkaritlerin varlığı onun hidrofiliğini arttırmaktadır [11].

9- Kazein fragmentlerinin plazmine hassasiyetleri: Plazmin sütte bulunan, ısı işlem sonrasında belli düzeyde kalabilen doğal bir enzimdir. Kazeinin minör komponentleri γ -kazeinler olup, bu yapılar β -kazeinin (f29-209, f106-209, f108-209) C-uç fragmentleri olarak yer almakta ve sütteki plazminin etkisiyle meydana gelmektedir. Uygun azot uç fragmentleri, süt proteininin proteoz-pepton (PP) fraksiyonunda dahil edilmektedir. Örneğin, PAS'da ayrılabilen PP 5 (β -CN f1-105/7), PP 8 hızlı (f1-28), PP 8 yavaş (f29-105/7) yapılar örnek verilebilir.

Solüsyondaki α_{s2} -kazein, aynı zamanda plazmine karşı oldukça hassastır. Fakat α_{s2} -kazeinden sütte tanımlanmamış olan peptitler üretilmektedir. α_{s1} -kazein plazmine karşı α_{s2} -kazein veya β -kazeinden daha az hassastır. Sütte α_{s1} -kazein kaynaklı peptitler minör bir grup olarak λ -kazeini içermektedir. κ -kazein, plazmine oldukça dayanıklıdır. Süt; katepsin B, katepsin D ve muhtemelen diğer doğal proteinazları içermektedir. Bu proteinazların sütte bazı tanımlanmamış peptitleri üretmesi muhtemel olmaktadır [8].

3. KAZEİN YAPISI İLE İLGİLİ TEORİLER

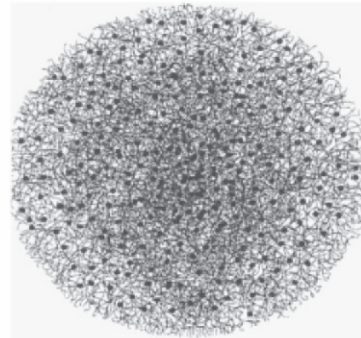
1- Kazeinlerin Alt Misel Yapısı: Eskiden kabul edilen görüş, kazein misellerinin yaklaşık 5×10^6 Da kütlelerinde alt misellerden oluştuğu şeklindedir. Kalsiyuma hassas



Şekil 2. Alt misel Oluşumu [7].

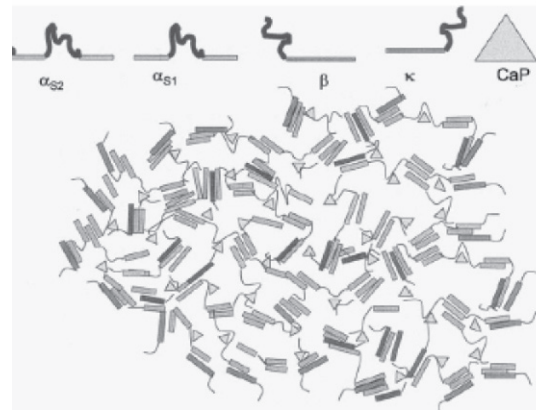
κ -kazeinin hidrofobik N-uç kısmı hidrofobik olarak, kalsiyuma hassas kazeinlerle interaksiyona girerken, hidrofilik C-uç tarafı yüzeyden çıkıntı oluşturmaktadır; bu da kazein miselinin tüylü yapısını oluşturmaktadır (Şekil.2).

2- Kazeinlerin Mikrojel Yapısı ve İkili Bağlanma Modeli: Kazein miselinin alt-misel modeli artık kabul görmez iken misel yapısıyla ilgili son görüşler daha az organize bir yapı olduğu şeklindedir. Bu görüşlerden birisi Holt [12,13] tarafından önerilmiştir: kazein molekülleri, kalsiyum fosfatın nano-kristalleri çevresinde mikro-jel yapısını



Şekil 3.a. Holt Modeli Kazein Yapısı (Mikro Jel Yapısı).

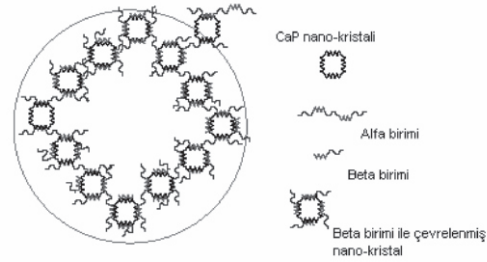
B. Horn Modeli Kazein Yapısı [13, 15, 16].



İplik benzeri yapılar kazein monomerleri olarak yer alırken, koyu daireler kalsiyum fosfat nano-kristallerini göstermektedir (Şekil 3.a). Kazein monomerlerinin kullanımıyla kazein misel yapısının ikili bağlanma modeli Şekil 3.b'de gösterilmiştir. Protein hidrofilitik bölgeleri (spiral veya ilmik görünümlü yapılar) kalsiyum fosfat kristallerine (üçgen şeklindeki yapılar) bağlanırken, protein-protein interaksyonları hidrofobik bölgeler (dikdörtgensel çubuk yapılar) arasında meydana gelmektedir [13, 15, 16].

Horne [15, 16]'a göre, kazein molekülleri, ikili

bağlanma modeli olarak isimlendirilen kalsiyum fosfat nano-kümelere ve hidrofobik bağların kombinasyonu ile bir araya gelmektedir. Horne, ayrıca bireysel kazeinlerin yüzey kimyasını değerlendirmiş ve gerçekte asıl önemli etkenin reomorfik yapıda alınan modelin esas tutulmasıyla protein-protein interaksyonlarının olduğunu açıklamıştır. Bu bakış açısıyla, kazeinlerin ampifilik yapısının, onları çok daha fazla değişen yük ve hidrofobikliğin blok kopolimerleri olarak davranmaya itmektedir [4].



Şekil 4. Holt Modelinde Ağ oluşumu [17].

Şekil 4 de; α -kazein ikili fonksiyonel, β -kazein ise tekli fonksiyonel olarak gösterilirken, kalsiyum fosfat nano-kristalleri dört tarafı kapalı yapı ile gösterilmiştir. α -yapısının farklı nano-kristallere bağlanması, zincir gelişimini sağlayan köprüler olmaktadır. Şeklin üst sağ tarafında, zincir eklenme bölgeleri görülmektedir. Şeklin sağ tarafında yer alan yapı ise, tekli fonksiyonel β -zincirleri ile çevrelenmiş kalsiyum fosfat nano-kristal yapısını göstermektedir. Mavi (spiral iplik yapıları) renkli bölgeler, hidrofobik kısımları göstermektedir [17].

Tüm durumlarda, κ -kazein yüzeyde baskın olarak kabul edilmekte ve misel stabilize edici rolü önceden de bahsedildiği gibi ön plana çıkmaktadır [12, 13, 14, 15, 16, 3].

3. SONUÇ

Süt proteinleri yaklaşık 200 yıldır devam eden bir araştırma konusu olmuştur. Süt protein kimyasındaki ilerleme protein kimyasındaki gelişmelere bağlıdır. Protein yapısındaki temel bilgiler arttıkça yeni biyolojik fonksiyonlar keşfedilmektedir. Kimyasal, enzimatik veya fiziksel metotlarla yapılacak protein modifikasyonları ve elde edilecek biyolojik fonksiyonlar fermenta ürünlerin yapısal ve fonksiyonel özellikleri açısından da önemli olacaktır. Süt proteinlerinin kimyası ve teknolojik özellikleri üzerine çalışmalar önümüzdeki yıllarda da hızla devam edecektir.

4. KAYNAKLAR

1. Bart, C.A., Schlimme, E., 1988. Milk Proteins: Nutritional, Clinical, Functional and Technological Aspects, Springer-Verlag, New York.
2. Cayot, P., Lorient, D., 1998. Structures et Technofonctions des Proteines du Lait, Lavosier Techniques and Documentation, Paris.
3. De Kruijff, K.G., Holt, H., 2003. Casein micelle structure, functions and interaction. Pages 233-276 in Advanced Dairy Chemistry, vol. 1, Proteins, 3rd edition, Fox, P.F., McSweeney, P.H.L., (eds), Kluwer Academic Plenum Publishers, New York.
4. Farrell Jr, H.M., Malin, E.L., Brown, E.M., Qi, P.X. 2006. Casein micelle structure: What can be learned from milk synthesis and structural biology. Current Opinion in Colloid & Interface Science. Article in Press.
5. Fox, P.F., 1982. Developments in Dairy Chemistry, Volume 1, Proteins, Applied Science Publishers, London.
6. Fox, P.F., 1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. Journal

- of Dairy Science, 72, 13791400.
7. Fox, P.F., 1992. Advanced Dairy Chemistry, Volume 1, Proteins, Elsevier Applied Science Publishers, London.
8. Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 1996. Proteolysis in cheese during ripening. Food Reviews International, 12 (4), 457509.
9. Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 1998. Dairy Chemistry and Biochemistry, Chapman and Hall, London.
10. Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 2003. Advanced Dairy Chemistry, volume 1, Proteins, 3rd edition, Kluwer Academic-Plenum Publishers, New York.
11. Fox, P.F., Kelly, A.L., 2004. Milk proteins: Technological aspects. Proceedings of International Dairy Symposium "Recent Developments in Dairy Science and Technology", Guzel-Seydim, Z., Ekinci Kitiş, Y., Seydim, A.C., eds., p.17. Isparta, Turkey.
12. Holt, C., 1992. Structure and properties of bovine casein micelles. Advanced Protein Chemistry, 43: 63-151.
13. Holt, C., 1994. The biological function of casein. Pp.60-68 in Yearbook 1994, The Hannah Institute, Ayr, Scotland.
14. Holt, C., Horne, D., 1996. The hairy casein micelle: evolution of the concept and its implications for dairy technology. Neth Milk Dairy J. 50: 85-111.
15. Horne, D., 1998. Casein interactions: casting light on Black Boxes, the structure in dairy products. International Dairy Journal, 8, 171-177.
16. Horne, D., 2002. Milk Proteins. Caseins-micelle structure. In: Encyclopedia of Dairy Sciences, Roginski, R, Fuquay, J, Fox, P.F., (eds), pp. 1902-1909. Academic Press. London.
17. Horne, D.S., 2005. Casein micelle structure: Models and muddles. Current Opinion in Colloid and Interface Science. Article in press.
18. Lesk, A. M., 2001. Introduction to Protein Architecture. The structural biology of proteins. Univ. of Cambridge. Oxford Univ. Press. pp. 347.
19. Lopez-Fandino, R., 2006. High pressure-induced changes in milk proteins and possible applications in dairy technology. International Dairy Journal, 16(10), 1119-1131.
20. McKenzie, H.A., 1970. Milk Proteins: Chemistry and Molecular Biology, Volume 1, Academic Press, New York.
21. McKenzie, H.A., 1971. Milk Proteins: Chemistry and Molecular Biology, Volume II, Academic press, New York.
22. Üçüncü, M., 2005. Süt ve Mamulleri Teknolojisi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Meta Basım, 571 s, İzmir.
23. Walstra, P., Jenness, R., 1984. Dairy Chemistry and Physics. John Wiley and Sons, New York.
24. Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jelma, A., Van Boekel, M.A.J.S., 1999. Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker, New York.
25. Wong, N.P., 1988. Fundamentals of Dairy Chemistry, 3 edition, AVI