

# Kazein Misellerinin Yapısı, Kompozisyonu ve Stabilitesi

Yard. Doç. Dr. Celâlettin KOÇAK

A.Ü. Ziraat Fakültesi, Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü — ANKARA

## 1. GİRİŞ

Toplam süt proteinlerinin yaklaşık % 85'ini oluşturan kazein, sütte kazein miselleri adı verilen partiküller halinde kolloit bir sistem oluşturur. Bu sistemin devamlılığı, kazein misellerinin stabilitesine bağlıdır. Kazein misellerinin stabilitesinin de, değişik faktörlerin etkisi, ile kolayca bozularak, sütün doğal niteliğini koruyamayıp pıhtılaşmasına neden olduğu bilinen bir gerçektir. İstem dışı oluşan pıhtılaşmalar sütün bozulmasına neden olarak sorunlar yaratır. Bunun yanında bazı süt ürünlerinin (yoğurt, peynir vb.) yapılabilmesi için de gerekli olup, kontrollü koşullarda gerçekleştirilir. Yani, olay her iki yönden de önemlidir. Bu durum da, kazein miselleri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmasına neden olmuştur. Bu çalışmalarda, bazı konular henüz aydınlığa kavuşmamış olmakla beraber kazein misellerinin yapısı, kompozisyonu ve stabilitesi ile ilgili önemli bilgiler elde edilmiştir.

Bu derlemede de, kazein misellerinin yapısı, kompozisyonu ve stabilitesi üzerindeki araştırma sonuçları ve ileri sürülen görüşler bir araya getirilmeye çalışılmıştır.

## 2. Kazein Miselinin Yapısı

### 2.1. Basit Miselin Yapısı

Kazein misellerinin içsel yapısının elektron mikroskobu ile incelenmesi sonucunda, kazein miseli için bir alt birim modeli önerilmiştir (1). Küresele yakın şekli,  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\kappa$ -kazein komplekslerinden oluşan yapısı, yaklaşık  $3 \times 10^5$  dalton molekül ağırlığı ve 10 nm çapı ile belirlenmiş olan bu alt birim, en basit misel (submicella) olarak tanımlanmıştır. Bunlar değişik oranlarda  $\kappa$ -kazein ihtiva etmekle birlikte, kompozisyonları hızlı bir değişim göstermez. Basit misellerin yüksek oranda  $\kappa$ -kazein ihtiva edenleri bir araya gelerek küçük bir misel oluşturur. Buna karşın, daha az  $\kappa$ -kazein ihtiva eden daha fazla sayıdaki basit miseller birleşerek daha büyük bir misel oluştururlar. Jel filtrasyonu ile yapılan araştırmalarda, dışar-

dan ilave edilen  $\kappa$ -kazeinin misellerle birlikte kolondan çıktığı gözlenmiştir. Bu da kazein bileşenlerinin, tesadüfi olarak tekrardan düzenlenmenin olabileceği dinamik bir sistem içinde bulunduğunu gösterir (2). Basit misellerin büyüklüğü, bileşimi ve molekül ağırlığı, bulunduğu ortamın kazein konsantrasyonu, pH'sı ve sıcaklığı ile belirlenir. Basit misellerinin boyutları sabit olmayıp, serum kazein monomerleri ve basit miseller arasında, bir denge sistemi içerisinde oluşan, karşılıklı değişimler vardır (2). Bu değişim basit miseller arasındaki kalsiyum-fosfat köprüleri tarafından sınırlanır. Çünkü, bu köprüler, misel oluştuktan sonra kazein moleküllerini belli bir pozisyonda kitleme eğilimindedir.

Basit misellerin yüzeyinde sadece  $\kappa$ -kazein bulunmaz. Bunun yanında  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  ve  $\beta$ -kazeinler de yüzeyde yüklü bölgeler oluşturur (3). Basit miseller içerisindeki her bir protein zincirinin apolar kısmı radyal olarak içeriye yöneliktir. Buna karşın kalsiyuma hassas kazeinlerin asidik kısımları ile  $\kappa$ -kazeinin karbonhidrattan oluşan hidrofilik kısmı yüzeyde yerleşiktir. Buda hidrofobik bir merkez ve bunun etrafını çevreleyen polar bir tabakanın oluşumuna neden olur.  $\kappa$ -kazein esas olarak basit miselin bir bölgesine lokalize olmuştur (4). Bu nedenle yüzeyde fosfatca zengin ve fosfatsız bölgeler bulunduğu gibi, hidrofilik ve hidrofobik bölgelerde bulunur (5). Yüksek derecelerde yüklü bölgelerin, hidrofobik bölgelerden ayrılması sonucu amfi-polar bir yapı ortaya çıkar ki; bu da küçük agregatların oluşumunu mümkün kılar. Jel filtrasyonu ile basit misellerin kazein misellerinden ayrılması sonucunda, basit misellerin  $\alpha_{s1}$  ve  $\beta$ -kazein kompleksinden veya  $\kappa$ -kazein ile  $\alpha_{s1}$  ve  $\beta$ -kazein polimerlerinden oluştuğu ortaya çıkmıştır (6). Bunlar içinde en fazla kabul gören model ise, çok sayıda alt birimden oluşandır (Şekil 1). Kalsiyuma hassas olan  $\alpha_{s1}$  ve  $\beta$ -kazein basit miselleri, kazein misellerinin iç bölgelerini oluşturur.  $\alpha_{s1}$  ve  $\kappa$ -kazein kompleksinden oluşan basit miseller ise daha çok misel yüzeyine yerleşiktir.

## 2.2. Basit Misellerin Agregasyonu ile Kazein Misellerinin Oluşumu

Basit miseller kazein misellerinin yapı taşları olup, bunların agregasyonundan kazein miselleri oluşur. Birbirine yakın basit miseller arasındaki iyonik bağlar kalsiyum köprüleri ile oluşturulabilir. Bunun sonucunda negatif yükteki azalma, hidrofobik interaksyonları daha da güçlendirir.  $\alpha_{s1}$  veya  $\beta$ -kazeinlerden oluşan yüzey alanları ile  $\kappa$ -kazeinden oluşan yüzey alanları arasındaki temel farklılıkta, birincilerin fosfat gruplarının kalsiyum bağlanması için muhtemel yerler olmasındadır.

Misel oluşumunda ki ilk aşama, basit misellerin tetrahedral olarak düzenlenmesini içerir (7).  $\kappa$ -kazein içeriği, misel büyüklüğünü etkilemekte, yüzeyde az  $\kappa$ -kazein bulunması daha büyük misellerin oluşumuna neden olmaktadır. Misel oluşumunda, bir alternatif olarak, farklı kompozisyondaki basit misellerin farklı fonksiyonlar göstereceği kabul edilmektedir (8). Çünkü, misel büyüklüğü ve büyüklük dağılımı geometrik olmaktan ziyade, fonksiyonların interaksyonu ile yönlendirilir.

## 2.3. Misel Büyüklüğünün Regülasyonu

Miselin büyümesi, misel yüzeyindeki  $\kappa$ -kazeince zengin olan basit misellerin konsantrasyonu ile sınırlıdır. Birbiri ile interaksyona giren yüzeylerde, içeriye ve yanlara doğru muhtemel olan hidrofobik interaksyonlar basit misellerin birleşmesi sırasında hidrofilik bölgeleri radyal olarak dışarıya doğru uzayacak şekilde düzenler. Miselin bükülme yarı çapının büyümesi, sterik engellemeler nedeni ile, ileri interaksyonlar için, misel yüzeyinde daha küçük alanlar bırakır.

Basit miseldeki  $\kappa$ -kazein miktarı arttıkça da  $\kappa$ -kazeince daha zengin bir yüzey oluşur. Hidrofobik yüzey alanı az olan (% 50) basit miseller, birlikte agregat oluşturamadıkları için misel yüzeyinde yer alırlar (3). Bu nedenle basit miseldeki,  $\kappa$ -kazein oranının artması, yüzeydeki hidrofobik interaksyonları azaltarak, küçük misellerin oluşumuna, bunun aksi olarak  $\alpha_{s1}$ -kazeinin artması ise, büyük misellerin oluşumuna yol açar. Artan gerilimin de, misel büyüklüğünün regülasyonunda etkili olduğu öne sürülmektedir. Çünkü, her basit misel bü-

yümekte olan misele, bağlanırken serbest enerjisini maksimuma çıkarmak için distorsiyona uğrar (9). Buda agregasyon esnasında, sonradan ilâve olacak basit miselin, bir önce eklene göre daha fazla distorsiyona uğramasını gerektirir. Agregasyon, bu şekilde artan gerilimin serbest enerjisinin, bağ enerjisine eşit olması durumuna kadar devam eder ve serbest enerjinin daha fazla artması ile durur.

## 2.4. $\kappa$ -kazeinin Misel Yapısındaki Fonksiyonu

Misel yapısında  $\kappa$ -kazeinin iki fonksiyonu vardır. Bunlardan birincisi,  $\alpha_{s1}$ -kazeinle hidrofobik interaksyona girmek, ikincisi ise, misel yüzeyinde hidrofilik alanlar sağlamaktır. Bu özelliği onun primer yapısından kaynaklanır.  $\kappa$ -kazeinin N-terminal kısmından başlayan 2/3 lük bölümü hidrofobik, C-terminal ucuna kadar uzanan 1/3 lük bölümü (makropeptid) ise hidrofiliktir. Molekülün hidrofobik olan para  $\kappa$ -kazein kısmı, dışarı doğru yönelmiş bulunan hidrofilik makropeptid kısmını kazein miseline bağlama işine yarar. Böylece misele negatif yüklü bir yüzey sağlar.

Polipeptid zincirindeki genetik farklılıklar ile makropeptide bağlı olan karbohidratın miktarındaki değişikliklerden dolayı  $\kappa$ -kazeinler önemli derecede heterojenlik gösterir (3). Karbohidrat içeriğindeki değişimlerin,  $\kappa$ -kazeinin  $\alpha_{s1}$ -kazeini stabilize etme yeteneğini etkilemediği görülmüştür. Makropeptid kısmı bağlı kaldığı sürece  $\kappa$ -kazein stabilize edici yeteneğini muhafaza eder (10, 11). Rennetten etkilenmiş misellerin net yüklerinin negatif, para  $\kappa$ -kazeinin ise pozitif olması, miselin dış yüzeyinin sadece  $\kappa$ -kazeinden oluşmadığını gösterir. Tüm kazein içerisinde  $\kappa$ -kazeinin,  $\alpha_{s1} + \beta$ -kazeine oranı 1/5 olarak hesaplanmıştır. Misel yüzeyinde ise bu oranın 1/1 şeklinde olduğu görülmüştür (12). Küçük miselin yüzeyinde  $\kappa$ -kazein oranının daha da yüksek olabileceği belirtilmektedir.

## 2.5. $\beta$ -Kazeinin Misel Yapısındaki Fonksiyonu

Misellerdeki  $\beta$ -kazeinin bir kısmının, nisbeten yüksek proteolitik hassasiyete sahip olması, miselden ayrılabilme özelliğinden kaynak-

lanır.  $\beta$ -Kazein, diğer kazeinlere göre daha hidrofobdur. Bu nedenle çözünübilirliği ısıdan oldukça etkilenir (13).  $\beta$ -Kazeinin bir kısmı, misele zayıf olarak bağlanmış (hidrofobik interaksyon) olup, düşük sıcaklıklarda miselden geri dönüşümlü olarak ayrılabilir (14). Geri kalan kısım (% 50) ise, misele oldukça sıkı bir şekilde bağlanmış olup, kolayca ayrılamaz.

$\beta$ -Kazeinin misele bağlanmasına koloidal kalsiyum fosfat (KKF) aracılık eder (15). Bu nedenle, soğutma sonucu miselden ayrılan koloidal kalsiyum miktarı,  $\beta$ -kazeinin miselden ayrılmasını etkiler (14). KKF'nin çözünür hale gelmesi,  $\beta$ -kazein ile misel arasındaki kalsiyumfosfat köprülerinin bozulmasına neden olur. Bu durum ise, sadece hidrofobik interaksyonlarla bağlı bulunan  $\beta$ -kazein oranını yükselterek, dengeyi çözülmeye doğru saptırır. Mineral göçü engellendiğinde, soğutma sırasında ayrılan  $\beta$ -kazein misellere sadece hidrofobik interaksyonlarla bağlanır (14).

### 2.5. Kazein Birleşmeleri ve Misel Yapısındaki Fonksiyonu

Kazeinler, çok kolay interaksyona giren proteinler olduğu için fizyolojik şartlarda monomer halinde bulunmazlar. Kazein molekülleri arasında değişik birleşme mekanizmaları vardır. SH- $\kappa$ -kazein için, değişik koşullar altında, elektrostatik veya hidrofobik interaksyonlar yaygın olabilir (3).  $\alpha_{s1}$  ve  $\beta$ -kazein varlığında ise, moleküller arası hidrofobik interaksyonlar yaygındır. Miseller içindeki SH- $\kappa$ -kazeinin oksidasyonu, kovalent bağlı  $\kappa$ -kazein polimerlerini oluşturur ki; bu da,  $\kappa$ -kazeinlerin misel içerisinde birbirine yakın olduğunu gösterir (3). Disülfid bağları gerekli olmasada  $\kappa$ -kazeinlerin birbirleriyle birleşmelerine veya  $\alpha_{s1}$  kazeinin stabilizasyonuna katkıda bulunabilir (16).  $\kappa$ -kazein molekülleri arasındaki elektrostatik çekim, basit miseller üzerinde farklı hidrofilik yüzey alanları oluşturur. Yüzeyin geri kalan kısmı ise, esas olarak  $\alpha_{s1}$  ve  $\beta$ -kazeinlerden oluşur. Bunlarda hidrofobik interaksyonlar için uygundur:

$\alpha_{s1}$  ve  $\kappa$ -kazein arasındaki kompleks oluşumu, misel yapısında önemlidir.  $\alpha_{s1}$ -kazein polimerlerinin açıkta kalan hidrofobik yüzeyleri, kompleks oluşumu ile kompleks içine gömülür (17). Bu da  $\alpha_{s1}$ ,  $\kappa$ -kazein kompleks-

lerinin hem hidrofobik hemde elektrostatik interaksyonlarla oluştuğunu gösterir.

Misel yapısında,  $\kappa$ -kazein vasıtası ile  $\alpha_{s1}$  ve  $\beta$ -kazeinin stabilizasyonu, bunlar arasındaki spesifik interaksyonları içerir. Bu interaksyonlar da muhtemelen hidrofobik bölgelerde oluşur (18).  $\kappa$ -kazein ile  $\alpha_{s1}$  veya  $\beta$ -kazein arasındaki kompleks oluşumu,  $Ca^{+2}$  varlığına göre değişiklik gösterir (18). İnteraksyonlar direk olarak kalsiyum bağları ile olabilir. Bu durumda,  $Ca^{+2}$  bağları kazeinin negatif yüklerini nötralize ederek iyonik olmayan interaksyonlara neden olabilir. İyonik interaksyonlar maksimum stabilizasyonu devam ettirmede önemli, fakat stabilizasyonda gerekli değildir (18).  $Ca^{+2}$  yokluğunda hidrofobik interaksyonlar, kazein moleküllerinin dağılmasını önleyecek kadar kuvvetli değildir. Apolar yan grupların interaksyonunu ve kuvvetli hidrojen bağları, kompleks oluşumunu etkileyen esas faktörler olmakla beraber, misellerin  $\alpha_{s1}$  ve  $\kappa$ -kazein kompleksleri ( $Ca^{+2}$  varlığında) ile büyümesi,  $Ca^{+2}$  ile  $\alpha_{s1}$ -kazein moleküllerinin esterleşmiş fosfat gruplarının interaksyonuna bağlıdır (19).

$\alpha_{s1}$ -Kazeinlerin, kendi aralarında birleşmeleri, esas olarak elektrostatiktir (20, 4).  $Ca^{+2}$  iyonlarının kazeine bağlanması, misel sentezinde önemlidir. Çünkü  $\alpha_{s1}$  ve  $\beta$ -kazeinleri presipitasyona hassas hale getirir (20).  $Ca^{+2}$  iyonları kazeine bağlanarak, yeni oluşumlara neden olur. İlk iki  $Ca^{+2}$  iyonu, fosfoserin gruplarına bağlanırken, bunu takip eden  $Ca^{+2}$  iyonları da, karboksilat gruplarına bağlanır (21, 8). Bu durum bağlanmalarda, kazein fosfat esterlerinin rolü olduğunu gösterir.  $\alpha_{s1}$ -Kazeinin 8 fosfoserin gurubuna karşılık  $\beta$ -kazeinin 5 fosfoserin grubu vardır. Buna karşın  $\kappa$ -kazeinin fosfor içeriği düşüktür. Bu da stabil misel oluşumu için bir gereksinimdir. Bu durum, kazeinlerin doğal oluşum esnasında, niçin ayrı, ayrı fosforizasyona uğradığını açıklar.

### 2.6. Koloidal Kalsiyum Fosfatın Misel Yapısındaki Fonksiyonu

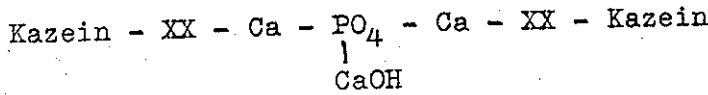
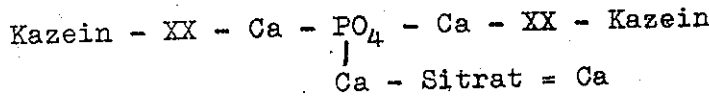
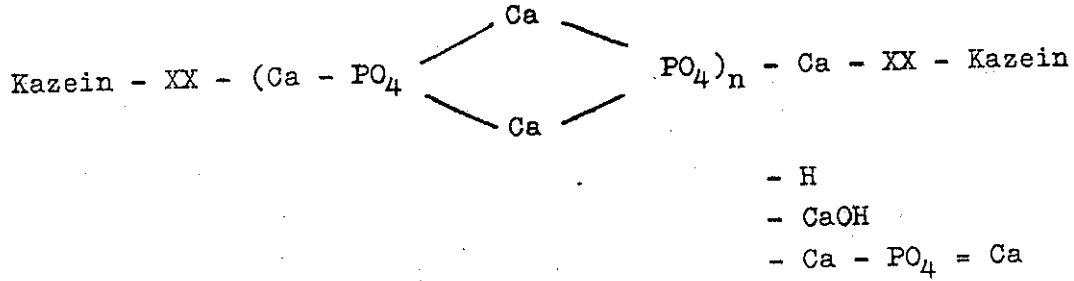
Kalsiyum, süt içerisinde değişik şekillerde bulunur (22). Yağsız sütte bulunan 32 mM kalsiyumun, 22 mM'ü koloidal, 10 mM da çözülmüş haldedir. Çözülmüş olan kısmın, sadece 3 mM'ü iyonik kalsiyumdur. Serum fazında ser-

best iyon halinde olmayan kısmı, sitrat, fosfat veya serum proteinleri ile kompleks halindedir. Kolloidal halde iken, kazein misellerinde fosfat esteri ve karboksil grupları ile kompleks halinde bulunabildiği gibi, fosfat veya sitratla kompleks oluşturarak miselle de bağlanabilir. (23,24). Yağsız süt 30 mM fosfat içerir. Bunun 19 mM'lü kolloidal, 5 mM'lü serbest ve 6 mM'lü de kalsiyuma bağlı haldedir. 8,4 mM sitratin ise, 0,4 mM'lü kazein misellerine bağlanmış haldedir.

Yağsız sütle yapılan dializ çalışmaları ne-

ticesinde, kalsiyumun hemen hemen tamamının (iyonlaşmış kalsiyumda dahil), dializ edilemeyen bileşenlerle, en azından gevşek şekilde bağlı olduğu ileri sürülmüştür (25). Misel yapısının 24 saatlik dializden sonra, KKF içeriğinde çok az bir değişim olmakla birlikte esas olarak sabit kalması, KKF'ın çözünme hızının yavaş olduğunu ve serum ortamı ile gerçek bir renge haline bulunmadığını göstermiştir (25). KKF ağı içerisinde, kazein ile KKF arasında çeşitli tiplerde bağlantılar vardır (Tablo 1).

Tablo 1. Kazein ile KKF arasındaki bağlantı tipleri



XX = Karboksilat veya fosfoserin grubu

Serumdaki kazein içeriği, fosfat veya asid ilavesi veya KKF'nın misellerden ayrılması ile artırılabilir (26). Ca<sup>+2</sup> aktivitesi kritik seviyenin altına düşerse, misellerin molekül ağırlığı, kazeinlerin ayrılması (esas olarak β ve k-kazein) sonucunda azalır (3). Ca<sup>+2</sup> iyonlarının daha fazla ayrılması miselin çözülmesine yol açar. Ca<sup>+2</sup> ilavesi ise, çözünebilir kazeini miselle transfer ederek, miselin büyümesine neden olur (3). Kazein miselleri ile birleşmiş olan iyonlar, ya kolayca ayrılabilen bir dış sistemde, ya da ayrılmaya dirençli bir iç sistemde bulunur. Kalsiyumun kazein miselleri içindeki dağılımı, homojenlik göstermeyen bir ağı sistemini andırır (3). Bu ağı, basit miseller arasındaki birleşme yerlerine tekabül eder. Bu durumda misel oluşumunun, bir çekirdek görevi yapan KKF tarafından desteklenebileceğini gösterir (3). Ayrıca, kalsiyum fosfatın bir görevide misel ve serum fazları arasındaki kalsiyum

değişimini yavaşlatmak olabilir.

### 3. Kazein Misellerinin Kompozisyonu

Kazein miselleri, oldukça yüksek oranda su içeren (3.7 gr.H<sub>2</sub>O/gr.protein) süngerimsi kolloidal partiküllerdir (22, 27, 28). Bu suyun nisbeten az bir miktarı (0.5 gr.H<sub>2</sub>O/gr.protein) proteinlere bağlıdır. Geri kalan kısmı ise miselin içinde tutulur. Kazein misellerinin büyüklükleri, fiziksel ve kimyasal prensiplere bağlı olarak geniş bir dağılım gösterir. Misellerini % 80'inin (ağırlık olarak) çaplarının 100 - 200 nm, % 95'inin ise, 80 - 440 nm arasında değiştiği ortalama çapında 160 nm olduğu belirlenmiştir (3). Kazein misellerin delikli bir yapı gösteren yüzeylerinde aynı zamanda dışarıya doğru uzantılarda bulunur. Tam küresel görünümlü bir yüzeye de sahip olmayan kazein misellerinin diğer bazı karakteristikleri tablo 2'de, ortalama kompozisyonunda tablo 3'de verilmiştir.

**Tablo 2. Kazeinin misellerinin bazı karakteristikleri**

Karakteristikler	Ortalama Değerler
Çap	130 - 160 nm
Yüzey	$8 \times 10^{-10}$ cm <sup>2</sup>
Hacim	$2.1 \times 10^{-15}$ cm <sup>3</sup>
Yoğunluk	1.0632 gr/cm <sup>3</sup>
Kütle	$2.2 \times 10^{-15}$ gr.
Su içeriği	% 63
Bir gramının süt içinde kapladığı hacim (Voluminosity)	4.4 cm <sup>3</sup> /gr
Molekül ağırlığı (sulu)	$1.3 \times 10^9$ dalton
Molekül ağırlığı (susuz)	$5 \times 10^8$ dalton
1 ml süttteki sayısı	$10^{14} - 10^{16}$
Toplam yüzey alanı	$5 \times 10^4$ cm <sup>2</sup> /ml süt

**Tablo 3. Kazein misellerinin ortalama kompozisyonu**

Bileşenler	Miktarlar (gr/100 gr misel)
$\alpha_{s1}$ - kazein	35.6
$\alpha_{s2}$ - kazein	9.9
$\beta$ - kazein	33.6
$\kappa$ - kazein	2.3
Minör kazeinler	2.3
Kalsiyum	2.9
Fosfat	2.9
Mağnezyum	0.1
Sodyum	0.1
Potasyum	0.3
Sitrat	0.4
Sialik asit	0.3
Galaktoz	0.2
Galaktozamin	0.2

#### 4. Kazein Misellerinin Stabilitesi

##### 4.1. Misel Yükünün Etkisi

Hidrofobik kolloitler genel olarak yüzey yükü ile stabilize edilir. Çiftli tabakalar arasındaki itme, onların agregasyonunu engeller. Bununla birlikte, kazein misellerinin stabilitesi sadece yüzey yüküne bağlanamaz. Çünkü elektrokinetik potansiyeli 20-30 mV'dan düşük olan hidrofobik kolloitler (kazein misellerinde

olduğu gibi) genellikle stabil değildir (29). Yüzey yükünün kazein misel stabilitesine kesin katkısı henüz tam olarak belirlenememiştir. Kazein misellerinin koagülasyonunu, sadece itici ve çekici elektrostatik güçler dengesinin tersine dönmesi olarak kabul etmek, meseleyi aşırı derecede basite indirmektedir. Bunun yanında, daha spesifik interaksyonlar söz konusudur.

Katyonik maddeler, miseller tarafından hızlı ve yaygın bir şekilde absorbe edilirler. Fakat bunun sonucunda misellerin yükündeki düşme, koagülasyona neden olacak kadar değildir (30). Lizozim (lysozyme) kazein misellerindeki negatif yükü aynı miktarda pozitif yük taşımasına rağmen, kazein misellerinin pıhtılaşmasına neden olmaz. Aynı zamanda misel stabilitesi, sıcaklığın yükselmesi ile, yüzey yükü arttığı halde, azalır. Bu da, misel agregasyonunda hidrofobik interaksyonların söz konusu olduğunu gösterir (31). Gerçekten de, kazeinler tüm proteinler içerisinde en hidrofobik olanlardandır. Bu nedenle, misellerin stabilitesinde hidrofobik interaksyonlar önemlidir (24, 10).

Katyonik maddeler, hem rennetin  $\kappa$ -kazeine affinitesini hem de agregasyon hızını artırarak rennetle pıhtılaşma süresini kısaltır. Bir misel üzerindeki pozitif yüklü para- $\kappa$ -kazein ile diğer bir misel üzerindeki  $\alpha_{s1}$  ve  $\kappa$ -kazeinin negatif yüklü gruplarının spesifik interaksyonları da agregasyonda rol oynayabilir. Kalsiyumun kazeine bağlanması,  $Ca^{+2}$  aktivitesinin bir fonksiyonudur. Soğutma ile  $Ca^{+2}$  aktivitesi, KKF'nin misellerden ayrılmasından dolayı, artar (32). Bunun için, ısı düştükçe kazeine bağlı kalsiyum miktarı artarken, miselin net negatif yükü de azalır. Misel yükü, aynı zamanda pH'nın kazein izoelektrik noktasına doğru düşmesi ile de azalır. Fakat, kazein miselleri 4.6 pH da ve 5°C'nin altında, net yükleri ihmal edilecek kadar düşük olduğu halde koagüle olmazlar (29). Buda elektrostatik güçlerin misel stabilitesinde etkili olduğunu, fakat bu etkinin tam belirgin olmadığını gösterir.

##### 4.2. Yüzey Proteinlerinin İnteraksiyonu

Kazein misellerinin stabilitesinde yüzey proteinlerinin sterik interaksyonları da önemli-

dır (33). İyonik interaksyonlar, monomerik protein stabilitesine, hidrofobik bir ortamda oluşabilecek bir iyonik bağ dışında, çok az katkıda bulunur (24). İyonik interaksyonlar spesifik kümelerin uygun şekilde oluşumunda ve yakın bir şekilde dizilişinde önemlidir. Kazein içerisinde fosfat-kalsiyum-fosfat köprüleri gibi özel iyon çiftleri oluştuğunda, bunlar proteinin dördüncül yapısını stabilize eder (9). Böyle interaksyonlar kazein yapısında, diğer proteinlere göre çok daha önemlidir. Yüksek asidik grup içeriği kalsiyum bağlama kapasitesini ve karşılıklı bağlantıyı artırır. Makro mole-

küler tabakalar birbirleriyle iç içe oldukları zaman, iki partikül arasındaki interaksyon bölgesinde, polimer kısmın artan konsantrasyonu, lokal bir ozmotik basınç etkisi yaratır. İnteraksyon bölgesindeki makro moleküller iç içe olmasalar da baskı oluşturabilirler. Bu durum yüzeyinde yoğun bir şekilde su içeriği yüksek protein bulundurmasından dolayı kazein miselleri için daha uygundur. Baskı meydana geldiğinde, interaksyon bölgesindeki protein molekülleri çarpışma durumunda grublaşma entropilerini kaybederek agregasyonu önleyecek itici enerji sağlarlar.

#### KAYNAKLAR

1. SHIMMIN, P.D., R.D. HILL, 1964. An electron microscope study of casein micelles. *J. Dairy Res.* Vol. 31, P. 285.
2. CREMER, L.K., G.P. BERRY, 1975. A study of the properties of dissociated bovine casein micelles. *J. Dairy Res.* Vol. 42, P. 169.
3. Mc MAHON, D.J., R.J. BROWN, 1984. Composition, structure and integrity of casein micelles. *J. Dairy Sci.* Vol. 67, P. 499.
4. Mc GANN, T.C.A., P.F. FOX, 1973. Casein micelle structure: susceptibility of various casein systems to proteolysis. *J. Dairy Res.* Vol. 40 P. 299.
5. PARKER, T.G., D.G. DALGLEISH, 1981. Binding of calcium ions to bovine  $\beta$ -casein. *J. Dairy Res.* Vol. 48, P. 71.
6. ONO, T., S. ODAGIRI, T. TAKAGI, 1983. Separation of the submicelles from micellar casein by high performance gel chromatography on a TSK-GEL 94000 SW column. *J. Dairy Res.* Vol. 50, P. 37.
7. SLATTERY, C.W. 1976. Review: casein micelle structure, an examination of models. *J. Dairy Sci.* Vol. 59, P. 1547.
8. DALGLEISH, D.G., T.G. PARKER, 1979. Quantitation of  $\alpha_{s1}$ -casein aggregation by the use of poly functional models. *J. Dairy Res.* Vol. 46, P. 259.
9. BLOOMFIELD, V.A. 1979. Association of proteins. *J. Dairy Res.* Vol. 46, P. 241.
10. MEHAIA, M.A., M. CHERYAN, 1983. Treatment of casein micelles with, soluble and immobilized neuraminidase: implications on structure of the micelle. *J. Dairy Sci.* Vol. 66, P. 390.
11. THOMPSON, M.P., L. PEPPER, 1962. Effect of neuraminidase on kappacasein. *J. Dairy Sci.* Vol. 45, P. 794.
12. HETH, A. A., H. E. SWAISGOOD, 1982. Examination of casein micelle structure by a method for reversible covalent immobilization. *J. Dairy Sci.* Vol. 65, P. 2047.
13. BINGHAM, E.W. 1971. Influence of temperature and pH on the solubility of  $\alpha_{s1}$ ,  $\beta$ - and C-casein. *J. Dairy Sci.* Vol. 54, P. 1077.
14. PEIRRE, A., G. BRULE, 1981. Mineral and protein equilibrium between the colloidal and soluble phases of milk at low temperature. *J. Dairy Res.* Vol. 48, P. 417.
15. PAYENS, T.A.J. 1979. Casein micelle: the colloid chemical approach. *J. Dairy Res.* Vol. 46, P. 291.
16. VREEMAN, H.J. 1979. The association of bovine SH-K-casein at pH 7.0. *J. Dairy Res.* Vol. 46, P. 271.
17. DOSAKO, S., S. KAMINOGAWA, S. TANENYA, K. YANAUCHI, 1980. Hydrophobic surface areas and net charge of  $\alpha_{s1}$ -, K-Casein and  $\alpha_{s1}$ -Ca-casein: K-casein complex. *J. Dairy Res.* Vol. 47, P. 123.
18. GREEN, M.L. 1971. The specificity for K-casein as the stabilizer of  $\alpha_s$ -Casein and  $\beta$ -casein. 1. Replacement of K-casein by other proteins. *J. Dairy Res.* Vol. 39, P. 9.
19. PEPPER, L., M.P. THOMPSON, 1963. Dephosphorylation of  $\alpha_{s1}$ - and K-casein and its effect on micelle stability in the K- $\alpha$ -casein system. *J. Dairy Sci.* Vol. 46, P. 764.
20. DALGLEISH, D.G., T.G. PARKER, 1980. Binding of calcium ions to bovine  $\alpha_{s1}$ -Casein and precipitability of the protein-Calcium ion complexes. *J. Dairy Res.* Vol. 47, P. 113.
21. DALGLEISH, D.G. 1978. Recent advances in the physical chemistry of milk proteins. *Proc. Zoth Int. Dairy Congr. (Paris), 74 ST.*

22. BLOOMFIELD, V.A., R.J. MEAD. 1975. Structure and stability of casein micelles. *J. Dairy Sci.* Vol. 50, P. 592.
23. Mc GANN, T.C.A., P.F. FOX. 1974. Physico-chemical properties of casein micelles reformed from urea-treated milk. *J. Dairy Res.* Vol. 41, P. 269.
24. Webb, B.H., A.H. JOHNSON, J.A. ALFORD. 1974. *Fundamentals of dairy chemistry*. 2nd ed. Avi Publ. Co., Westport.
25. FOX, P.F., B.M. NASH. 1979. Physico-chemical characteristics of casein micelles in dilute aqueous media. *J. Dairy Res.* Vol. 46, P. 357. \*
26. ROSE, D. 1968. Relation between micellar and serum casein in bovine milk. *J. Dairy Sci.* Vol. 51, P. 1897.
27. KOROLCZUK, J. 1981. Voluminosity and viscosity of casein solutions. 1. The correlation between voluminosity protein concentration and viscosity. *Milchwissenschaft*. Vol. 36, P. 414.
28. KOROLCZUK, J. 1981. Voluminosity and viscosity of casein solutions. 2. The correlation between voluminosity and the empirical constants of regression equations. *Milchwissenschaft*. Vol. 36, P. 467.
29. DARLING, D.F., J. DICKSON. 1979. Electrophoretic mobility of casein micelles. *J. Dairy Res.* Vol. 46, P. 441.
30. GREEN, M.L., R.J. MARSHALL. 1977. The acceleration by cationic materials of the coagulation of casein micelles. *J. Dairy Res.* Vol. 44, P. 521.
31. DARLING, D.F., J. DICKSON. 1979. The determination of the S-Potential of casein micelles. *J. Dairy Res.* Vol. 46, P. 329.
32. QVIST, K.B. 1979. Reestablishment of the original rennetability of milk after coding. 1. The effect of cooling and LTST pasteurization of milk and renneting. *Milch-wissenschaft* Vol. 34, P. 467.
33. DARLING, D.F., A.C.M. VAN HOOYDONK. 1981. Derivation of a mathematical model for the mechanism of casein micelle coagulation by rennet. *J. Dairy Res.* Vol. 48, P. 189.