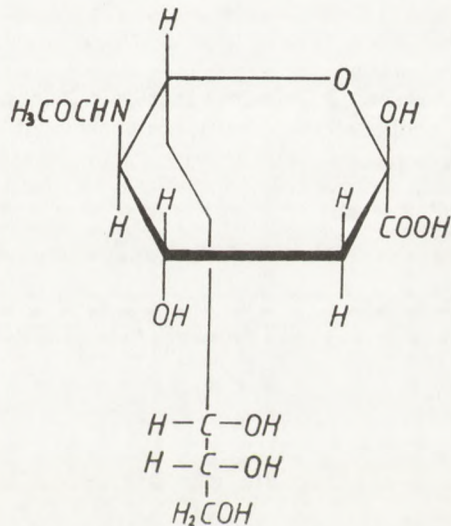


## 1. Wstęp

Kazeina jest najważniejszym białkiem mleka. Jej skład, struktura i właściwości są badane od wielu lat (1). Jednym ze składników kazeiny są reszty kwasu N-acetyleneuraminowego (NANA; nazwa systematyczna: kwas 5-acetamido-3,5-dideoksy-D-glicero-D-galakto-2-nonulopiranozowy (2) należące do rodziny kwasów sjalowych. NANA (rys. 1) oraz inne kwasy sjalowe występują w niektórych bakteriach; stosunkowo rzadko spotyka się je w wirusach. NANA występuje powszechnie u kręgowców, natomiast nie znaleziono go w roślinach, podobnie jak innych kwasów sjalowych.

Rys.1. Struktura kwasu  
N-acetyleneuraminowego (3).



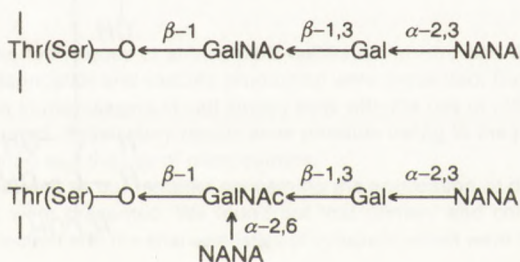
## 2. Przemiany i funkcje kwasu N-acetyleneuraminowego w organizmach żywych

NANA powstaje w reakcji kondensacji 2-acetamido-2-deoksy- $\alpha$ -D-mannozy (ManNAc) z pirogronianem lub fosfoenolopirogronianem. Inne kwasy sjalowe tworzą się poprzez jego enzymatyczne modyfikacje. NANA jest też wprowadzany do cząsteczek rozmaitych oligosacharydów, polisacharydów, glikoprotein oraz glikolipidów w reakcjach katalizowanych przez odpowiednie transferazy. Może być z nich uwalniany przez enzymy zwane neuraminidazami

lub sjalidazami (EC 3.2.1.18) i dalej degradowany do ManNAc przez liazę acetyloneuraminianopirogronianową (EC 4.1.3.3). Funkcje NANA wynikają z jego właściwości. Reszty NANA mają znaczne rozmiary, zawierają dużą ilość grup polarnych i są naładowane ujemnie dzięki obecności dysocjującej grupy karboksylowej. Odpychając się elektrostatycznie reszty te przeciwdziałają agregacji komórek i uczestniczą w utrzymywaniu ich kształtu. Ładunek ujemny reszt NANA umożliwia wiązanie kationów oraz agregację komórek za pomocą mostków wapiennych. Obecność reszt NANA wpływa na konformację wielu białek odpornościowych i enzymatycznych, przyczynia się do wzrostu lepkości ich roztworów oraz utrudnia ich proteolizę. Reszty NANA maskują glikoproteiny i komórki przed rozpoznaniem i zniszczeniem przez układ immunologiczny. Efekt ten ma znaczenie, np. przy ochronie płodu przed układem immunologicznym matki, a także przy regulacji czasu życia komórki. NANA jest składnikiem receptorów. Bierze udział w przyłączaniu hormonów, przeciwciał, toksyn i wirusów. Te same funkcje pełnią też inne kwasy sjalowe. Biosynteza, metabolizm oraz funkcje kwasów sjalowych zostały dokładnie omówione w monografii Schauera (4).

### 3. Położenie reszt kwasu N-acetyloneuraminowego w kazeinie

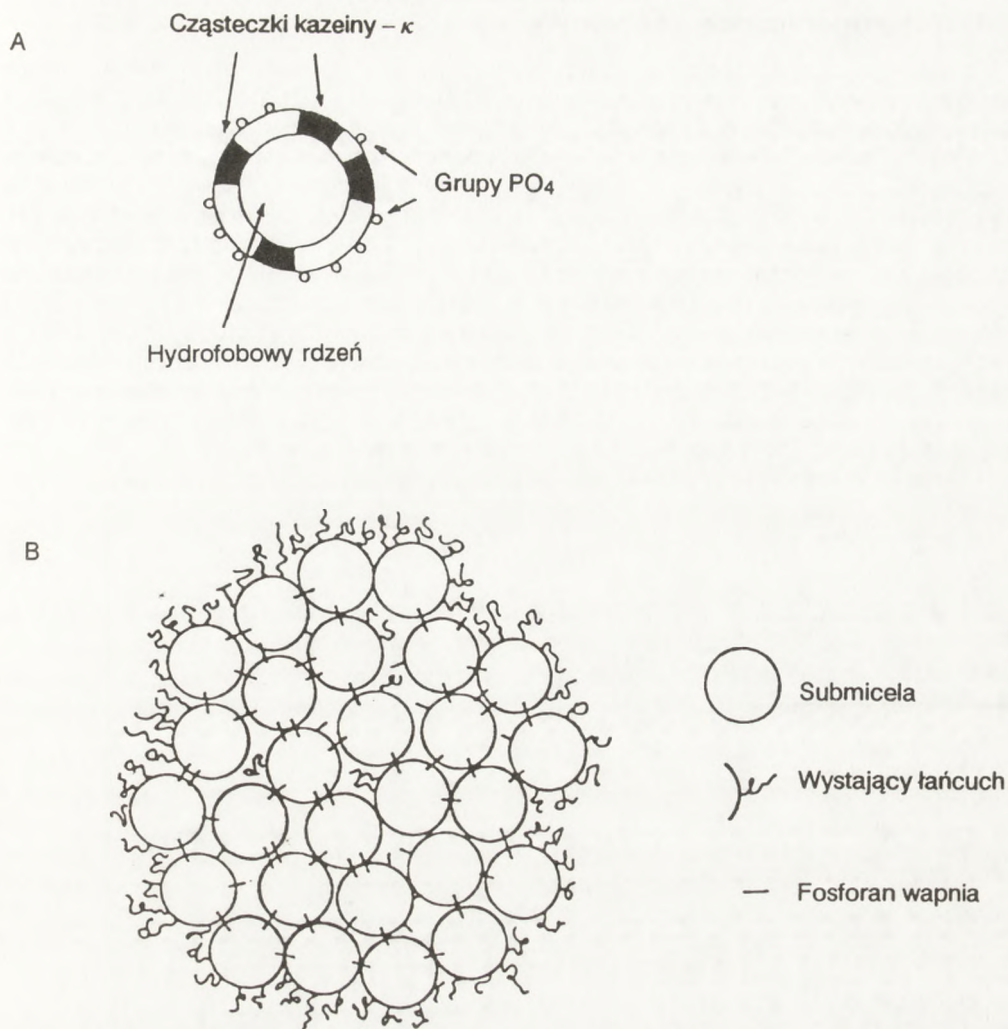
W mleku NANA wchodzi głównie w skład reszt glikozydowych kazeiny- $\kappa$ . Występują w niej oligosacharydy zawierające jedną lub dwie reszty NANA (rys. 2). Zevaco i Ribadeau-Dumas (6) podali dla genetycznego wariantu A kazeiny- $\kappa$  pięć pozycji, w których do łańcucha białkowego mogą być przyłączone reszty glikozydowe. Są to: Thr-131, Thr-133, Thr-135, Thr-136, Ser-141. W genetycznym wariacie B, w pozycji 136 występuje izoleucyna (7). W wariacie tym wykryto frakcję zawierającą dziewięć reszt NANA, co świadczy o występowaniu reszt glikozydowych w pozycjach innych, niż wymienione dla wariantu A (6). Reszty glikozydowe przyłączone są do C-końcowej części łańcucha kazeiny- $\kappa$ . Fragment ten (reszty 106-169) uwalniany podczas hydrolizy podpuszczkowej jako glikomakropeptyd jest hydrofilowy w przeciwieństwie do pozostałej części łańcucha kazeiny- $\kappa$  (tzw. parakazeiny- $\kappa$ ) i ma ładunek ujemny. Uważa się (8), że żadna z pozycji, w których występują reszty glikozydowe nie jest w kazeinie- $\kappa$  uprzywilejowana.



Rys. 2. Sekwencje reszt glikozydowych kazeiny- $\kappa$  (5); GalNAc-acetamidogalaktoza, Gal-galaktoza.

W mleku kazeina występuje w postaci miceli o średnicy od 25 do 680 nm. Najnowsze koncepcje (9-13) zakładają ich submicelną budowę (rys. 3). Submicelle przedstawiane są jako cząstki, w których hydrofobowy rdzeń składający się z gęsto upakowanych, niepolarnych fragmentów łańcuchów poszczególnych form kazeiny otoczony jest przez luźną, polarną warstwę złożoną z C-końcowych fragmentów kazeiny- $\kappa$  oraz fragmentów kazeiny- $\alpha_{s1}$ , - $\alpha_{s2}$  i - $\beta$  zawierających dużą ilość reszt fosforanowych (14,15). Głównym składnikiem powierzchni



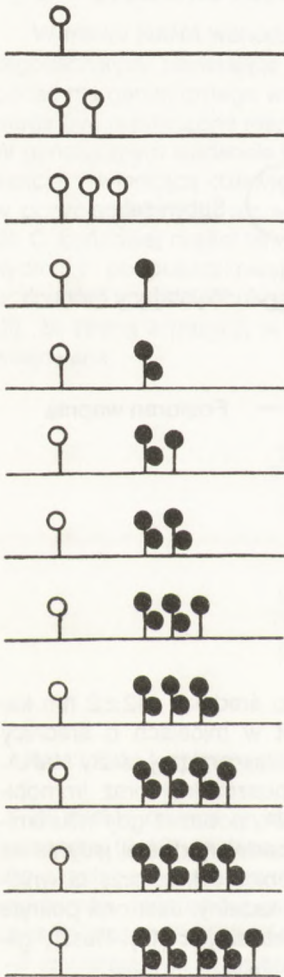


Rys. 3. Struktura submiceli (A) i miceli (B) kazeinowej (10,13).

miceli jest kazeina- $\kappa$ . Carroll i Farrell (16) wykazali, że w micelach o średnicy  $142 \pm 2$  nm kazeina- $\kappa$  znajduje się przede wszystkim na powierzchni, natomiast w micelach o średnicy  $92 \pm 22$  nm – w całym przekroju. Istotne jest położenie glikokazeiny- $\kappa$  zawierającej reszty NANA. Mehaia i Cheryan (17) badali uwalnianie NANA za pomocą rozpuszczalnej oraz immobilizowanej neuraminidazy. Unieruchomiony enzym uwalniał 75% NANA, podczas gdy neuraminidaza rozpuszczalna – 90%. Uwzględniając fakt, że enzym unieruchomiony działał jedynie na powierzchni miceli, natomiast enzym rozpuszczalny – w całej ich objętości, autorzy ci wnioskują, że co najmniej 75% NANA znajduje się na powierzchni miceli kazeiny. Jest ona pokryta warstwą „włosków”, które tworzą C-końcowe fragmenty łańcuchów kazeiny- $\kappa$  (18). Reszty glikozydowe zawierające NANA znajdują się właśnie w obrębie tej warstwy.

#### 4. Heterogeniczność kazeiny- $\kappa$

Kazeinę- $\kappa$  można rozdzielić na szereg frakcji różniących się zawartością NANA i innych reszt glikozydowych oraz grup fosforanowych (8,19). Takeuchi i wsp. (19) poddając wariant A kazeiny- $\kappa$  chromatografii na DEAE-celulozie otrzymali frakcje o zawartości od 0 do 8 moli NANA na mol białka. Takie same frakcje uzyskali podczas rozdzielania kazeiny- $\kappa$  metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym. Vreeman i wsp. (8,20) frakcjonowali wariant B kazeiny- $\kappa$  na DEAE-Sepharose w gradiencie stężenia soli i następnie na DEAE-celulozie w gradiencie pH. Otrzymali frakcje zawierające od 0 do 9 moli NANA i od 1 do 3 moli grup fosforanowych na mol białka. Charakterystyka otrzymanych do tej pory frakcji kazeiny- $\kappa$  (8,19) jest przedstawiona na rys. 4. Rozdzielają się one dzięki różnicom w ładunku elektrycznym; jak się wydaje – grupy fosforanowe mają większy wpływ na ładunek kazeiny- $\kappa$ , niż NANA. Z drugiej strony związek między zawartością poszczególnych grup, a ruchliwością obserwowany w różnych warunkach elektroforezy nie był jednoznaczny (8,19,21,22). Większość metod chromatograficznych i elektroforetycznych daje w efekcie od 3 do 6 frakcji kazeiny- $\kappa$  (21–27). Frakcje uzyskane np. metodą Aokiego i wsp. (24) zawierają 0,2,4,6 i 8 moli NANA na mol białka (27).



Rys. 4. Frakcje kazeiny- $\kappa$  (8,19);  
● – reszty NANA, ○ – reszty fosforanowe.



## 5. Glikozylacja kazeiny- $\kappa$ *in vivo*

Proces ten badali Takeuchi i wsp. (28). Glikozylotransferazy uczestniczące w glikozylacji są zlokalizowane w aparacie Golgiego. Podczas wewnątrzkomórkowego transportu kazeina- $\kappa$  jest fosforylowana, wbudowywana w strukturę miceli i glikozylowana. N-acetylogalaktozaminotransferaza (EC 2.4.1.41) działająca na początku procesu glikozylacji nie jest inhibowana przez pojedyncze grupy fosforanowe przyłączone do łańcuchów kazeiny- $\kappa$ , natomiast reszty glikozydowe hamują przyłączanie dalszych grup fosforanowych. Cała kazeina- $\kappa$  jest ufosforylowana, podczas gdy tylko jej część zawiera reszty glikozydowe. Kazeina- $\kappa$  zawierająca więcej niż jedną grupę fosforanową w łańcuchu jest bezcukrowa (8) (rys. 4). Fakty te wskazują, że glikozylacja białka następuje po fosforylacji. Większość NANA jest zlokalizowana na powierzchni miceli (17), co świadczy, że główna ścieżka posttranslacyjnej modyfikacji kazeiny przebiega kolejno przez następujące etapy: fosforylacji, tworzenia miceli oraz glikozylacji. Argumentów za wnioskiem Takeuchiego i wsp. (28) dostarcza fakt, że małe micelle, w których kazeina- $\kappa$  jest rozmieszczona w całej objętości (16) zawierają większy procent bezcukrowych cząsteczek (26,29). Można to wytłumaczyć niedostępnością kazeiny- $\kappa$  znajdującej się wewnątrz miceli dla glikozylotransferaz unieruchomionych w aparacie Golgiego. Usunięcie 35% NANA za pomocą neuraminidazy nie powoduje istotnych zaburzeń micelarnej struktury kazeiny (30). Inną możliwością jest glikozylacja wolnej lub związanej w submicelach kazeiny- $\kappa$ . Tłumaczyłoby to występowanie części NANA wewnątrz miceli. Przyłączenie submiceli bogatych w glikokazeinę- $\kappa$  do miceli hamuje dalszy jej wzrost.

Zawartość NANA w kazeinie waha się w granicach 0,11 do 1,12% (27,30). Robitaille i wsp. (27) badali wpływ różnych czynników na tę zawartość. Okazało się, że maleje ona ze wzrostem liczby laktacji, natomiast w trakcie laktacji rośnie. Kazeina pochodząca z mleka krów o fenotypie AA wykazuje niższą zawartość NANA niż kazeina z mleka krów o fenotypie AB. Kazeina- $\kappa$  A charakteryzuje się niższą zawartością NANA niż kazeina- $\kappa$  B. W genetycznym wariacie A wykryto frakcje zawierające do 8 reszt NANA (19), podczas gdy w wariacie B do 9 reszt NANA (8). Według Robitaille'a i wsp. (27) konformacja kazeiny- $\kappa$  B bardziej sprzyja przyłączeniu dodatkowej reszty glikozydowej. Zawartość NANA w kazeinie wzrasta, gdy liczba komórek somatycznych w 1 ml mleka przekracza 200 000 (27). Obserwacja ta jest zgodna z wynikami wcześniejszych badań wskazującymi na podwyższoną zawartość NANA w czasie *mastitis* (31). Zawartość NANA w sianie jest większa, niż w mleku (32).

## 6. Wpływ zawartości reszt NANA na niektóre właściwości izolowanych frakcji kazeiny- $\kappa$

Kazeina- $\kappa$  tworzy polimery, w których poszczególne łańcuchy białkowe są połączone wiązaniami disiarczkowymi. Doi i wsp. (21) oznaczali masę cząsteczkową polimerów tworzonych przez poszczególne frakcje, a także przez wyjściowe, nie poddane rozdzielowi białko. Masa polimerów malała wraz ze wzrostem stopnia glikozylacji, niemniej jednak była największa dla nierozdzielonej kazeiny- $\kappa$ .

Pomiary lepkości poszczególnych frakcji wykazały, że rośnie ona wraz ze wzrostem stopnia glikozylacji (21). Nierozdzielona kazeina- $\kappa$  charakteryzuje się lepkością większą, niż którakolwiek z frakcji. Badania modelowe, w których użyto kazeiny z przyłączonymi kowalencyjnie resztami glukozy, galaktozy, laktozy lub maltozy wykazały, że lepkość roztworów kazeiny wzrasta ze wzrostem zawartości reszt cukrowych oraz ich wielkości (33,34).

Rozpuszczalność izolowanych frakcji kazeiny- $\kappa$  oraz odpowiadających im glikomakropeptydów w roztworach TCA rośnie wraz z zawartością NANA (8).



## 7. Wpływ reszt NANA na stabilność miceli kazeinowych

Kazeina- $\kappa$  pełni rolę ochronną w stosunku do pozostałych form kazeiny w micelach. Jej C-końcowe fragmenty są głównym składnikiem zewnętrznej warstwy włoskowatej zapobiegającej agregacji i precypitacji micel. Micele są stabilizowane oddziaływaniami elektrostatycznymi oraz sterycznymi (35). W oddziaływaniach elektrostatycznych biorą udział ujemnie naładowane C-końcowe fragmenty łańcuchów kazeiny- $\kappa$ . Oddziaływania te utrudniają zetknięcie się powierzchni miceli z innymi micelami, a także przyczyniają się do usztywnienia warstwy włoskowatej. Prowadzi to do wzrostu efektów odpychania sterycznego, które są sumą elastyczności łańcuchów białkowych oraz ich hydratacji. W warstwie włoskowatej mogą też tworzyć się wiązania wodorowe między łańcuchami białek (36). C-końcowe fragmenty kazeiny- $\kappa$  zawdzięczają swój ładunek ujemny oraz właściwości hydrofilowe obecności kwaśnych aminokwasów, reszt glikozydowych oraz reszt fosforanowych. Bezczukrowa kazeina- $\kappa$  może pełnić rolę stabilizatora, jednakże reszty glikozydowe wzmacniają jej działanie. Mogą one uczestniczyć w tworzeniu oddziaływań sterycznych i elektrostatycznych. Takeuchi i wsp. (19) oznaczyli ilość kazeiny- $\alpha_{s1}$  wbudowanej w strukturę micelną razem z kazeiną- $\kappa$  o różnej zawartości reszt glikozydowych. Procent kazeiny- $\alpha_{s1}$  wbudowanej w micidele wzrastał z zawartością reszt glikozydowych. Rezultat ten świadczy o istotnym wpływie reszt glikozydowych na zdolność kazeiny- $\kappa$  do stabilizacji miceli. Argumentów za takim wnioskiem dostarczają także doświadczenia, w których użyto cukrów nie występujących w resztach glikozydowych kazeiny- $\kappa$ . Defosforylowana kazeina- $\beta$  z przyłączonymi kowalencyjnie resztami laktozy wykazywała zdolność stabilizacji miceli (37). Istotny wpływ reszt glikozydowych na hydratację oraz objętość zajmowaną przez łańcuchy białkowe wykazały doświadczenia wykonane przy użyciu kazeiny zmodyfikowanej przez kowalencyjne przyłączenie reszt różnych cukrów (33,34,38).

Formalny model opisujący zależność wielkości miceli kazeinowych od energii oddziaływań przyciągających i odpychających między submicelami został zaproponowany przez Bloomfielda (39). Wzrost energii swobodnej odpychania powoduje zmniejszenie średniej liczbowej i wagowej liczby submiceli składających się na micelę. Poprawność wymienionego modelu potwierdziły wyniki prac doświadczalnych (25,26,40-45). Można z nich wywnioskować, że czynnikiem ograniczającym wielkość miceli jest zawartość kazeiny- $\kappa$ . Bloomfield (39) uważa, że decydujący udział w wytwarzaniu oddziaływań odpychających mają zawarte w kazeinie- $\kappa$  reszty NANA. Wyniki badań nad zależnością między glikozylacją kazeiny- $\kappa$ , a wielkością miceli nie potwierdzają jednoznacznie tej części wniosków Bloomfielda. Wprawdzie według Sullivana i wsp. (40) zawartość NANA w micelach jest odwrotnie proporcjonalna do ich rozmiarów, niemniej jednak można to wyjaśnić zwiększoną zawartością kazeiny- $\kappa$  w małych micelach. Creamer i wsp. (41) oraz Żbikowska i wsp. (26) stwierdzili, że stosunek zawartości glikokazeiny- $\kappa$  do zawartości bezczukrowej kazeiny- $\kappa$  jest większy w micelach dużych. Yoshikawa i wsp. (29) oraz Dalgleish (23) nie stwierdzili różnic w zawartości glikokazeiny- $\kappa$  oraz bezczukrowej kazeiny- $\kappa$  między frakcjami miceli o różnej wielkości. Rose i wsp. (42), Slattery (43), a także Kudo i wsp. (44) podali, że stopień glikozylacji kazeiny- $\kappa$  jest niższy w micelach dużych, niż w małych. Wobec sprzeczności przytoczonych wyżej rezultatów trudno wnioskować jak wpływają reszty NANA na wielkość naturalnych miceli kazeinowych. Doi i wsp. (46) badali wielkość sztucznie otrzymanych kompleksów tworzonych przez poszczególne frakcje kazeiny- $\kappa$  z kazeiną- $\alpha_{s1}$  oraz kazeiną- $\beta$ . Nie stwierdzili oni zależności między stopniem glikozylacji kazeiny- $\kappa$ , a wielkością tych kompleksów.



## 8. Wpływ reszt NANA na hydrolizę kazeiny przez podpuszczkę (EC 3.4.23.4) i inne enzymy proteolityczne

Aktualny stan wiedzy na temat podpuszczkowej hydrolizy kazeiny został przedstawiony w wielu pracach przeglądowych (13,47-49). Badania nad wpływem reszt glikozydowych na przebieg tego procesu nie doprowadziły do jednoznacznych rezultatów. Część autorów uważa, że obecność reszt glikozydowych zmniejsza podatność kazeiny na działanie podpuszczki. Sinkinson i Wheelock (50) stwierdzili, że szybkość uwalniania glikopeptydów z kazeiny maleje ze wzrostem zawartości reszt glikozydowych. Doi i wsp. (51) potwierdzili tę zależność badając szybkość powstawania parakazeiny- $\kappa$ . Addeo i wsp. (52) zaobserwowali wzrost czasu podpuszczkowej koagulacji kazeiny ze wzrostem zawartości NANA. Nasze badania (30) wykazały, że uwolnienie części NANA przez neuraminidazę powoduje nieznaczne skrócenie czasu podpuszczkowej koagulacji oraz znaczne zmniejszenie ilości peptydów rozpuszczalnych w 2% TCA, uwolnionych przez podpuszczkę. Świadczy to o wpływie zawartości NANA na fazę agregacji miceli kazeinowych. Następuje ona po zhydrolizowaniu ponad 65% kazeiny- $\kappa$  (48). Kazeina zmodyfikowana przez usunięcie części NANA ulega agregacji przy mniejszym stopniu hydrolizy kazeiny- $\kappa$ . Istnieją jednak rezultaty nie potwierdzające wniosku o wpływie reszt NANA na podpuszczkową koagulację kazeiny. Creamer i wsp. (40), Gibbons i Cheeseman (53), Chaplin i Green (54), Morrissey i wsp. (55) oraz Dalgleish (23) nie stwierdzili wpływu reszt glikozydowych na ten proces.

Obecność reszt NANA może także kształtować podatność kazeiny na działanie innych enzymów proteolitycznych. Doi i wsp. (51) stwierdzili, że plazmina (EC 3.4.21.7) hydrolizuje jedynie bezcukrową kazeinę- $\kappa$ . Porównując ten wynik z wynikami badań nad odpornością kazeiny- $\kappa$  na działanie plazminy (56,57) Addeo i wsp. (52) doszli do wniosku, że glikokazeina- $\kappa$  chroni inne formy kazeiny przed hydrolizą przez plazminę. Hipotezę tę podważają rezultaty Andrewsa i Alichanidisa (58), którzy uzyskali całkowitą hydrolizę kazeiny- $\kappa$  przez plazminę.

Reszty NANA mogą zwiększać odporność kazeiny na działanie pozakomórkowych enzymów proteolitycznych pochodzenia mikrobiologicznego. Potwierdzają to badania w których mleko poddane działaniu proteinaz po inkubacji z oczyszczoną neuraminidazą charakteryzowało się mniejszą zawartością kazeiny i większą zawartością azotu rozpuszczalnego w 2% TCA, niż mleko inkubowane w tych samych warunkach bez neuraminidazy (30).

Według Doi i wsp. (51) szybkość hydrolizy kazeiny- $\kappa$  przez trypsynę (EC 3.4.21.4), chymotrypsynę (EC 3.4.21.1) i pronazę maleje ze wzrostem zawartości reszt glikozydowych.

## 9. Wpływ reszt NANA na cieplną stabilność kazeiny

Przegląd współczesnej wiedzy o przemianach kazeiny pod wpływem ogrzewania można znaleźć w pracach Muira (59), Singha i Foxa (60) oraz van Boekela i wsp. (61-63). Reszty NANA wpływają na zachowanie się kazeiny poddanej działaniu podwyższonej temperatury. Częściowe uwolnienie reszt NANA z kazeiny powoduje obniżenie jej cieplnej stabilności, rozumianej jako czas termicznej koagulacji (30). Obecność reszt NANA utrudnia zetknięcie się powierzchni miceli podczas koagulacji. Przy ogrzewaniu kazeiny- $\kappa$  powyżej 100°C następuje jej częściowa hydroliza, której produktem jest makropeptyd (64,65). Hindle i Wheelock (64) uważają, że bezcukrowa kazeina- $\kappa$  ulega hydrolizie pod wpływem podwyższonej temperatury szybciej, niż białko glikozylowane. Wniosku tego nie potwierdzają van Hooydonk i wsp. (65). Pod wpływem ogrzewania kazeina- $\kappa$  częściowo oddysocjowuje z miceli. Według Aokiego i Kako (66) glikokazeina- $\kappa$  oddysocjowuje szybciej niż bezcukrowa kazeina- $\kappa$ .



## 10. Podsumowanie

Kazeina tworzy niezwykle złożone układy. Na jej właściwości wpływa wiele czynników: zawartość NANA jest tylko jednym z nich, odgrywa jednakże istotną rolę. Przedstawione w artykule wyniki mogą zostać wykorzystane w przechowalnictwie mleka oraz przy produkcji serów podpuszczkowych. Wyniki i wnioski dotyczące struktury kazeiny mogą być przydatne w badaniach właściwości innych glikoprotein.

### Literatura

1. Pijanowski E., (1986), *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*, t. 1, PWRiL, Warszawa.
2. *Polskie słownictwo biochemiczne* (1974), PWN, Warszawa.
3. Blix G., Jeanloz R. W., (1969), in: *The amino-sugars*, vol. 1A, Academic Press, New York-London, 213-247.
4. Schauer R., (1982), *Adv. Carbohydrate Chem. Biochem.*, 40, 131-233.
5. Jolles P., Fiat A. M., (1979), *J. Dairy Res.*, 46, 181-191.
6. Zevaco C., Ribadeau-Dumas B., (1984), *Milchwissenschaft*, 39, 206-210.
7. Mercier J. D., Brignon G., Ribadeau-Dumas B., (1973), *Eur. J. Biochem.*, 35, 222-235.
8. Vreeman H. J., Visser S., Slangen C. J., van Riel J. A. M., (1986), *Biochem. J.*, 240, 87-97.
9. Slattery C. W., Evard R., (1973), *Biochim. Biophys. Acta*, 317, 529-538.
10. Schmidt D. G., (1982), in: *Developments in dairy chemistry*, vol. 1, Proteins, Applied Science Publishers, London, 61-86.
11. McMahon D. J., Brown R. J., (1984), *J. Dairy Sci.*, 67, 499-512.
12. Dziuba J., (1986), *Post. Biochem.*, 32, 335-352.
13. Walstra P., (1990), *J. Dairy Sci.*, 73, 1965-1979.
14. Schmidt D. G., (1980), *Neth. Milk Dairy J.*, 34, 42-64.
15. Pessen M., Kumosinski T. F., Farrell H. M., (1989), *J. Dairy Res.*, 56, 443-451.
16. Carroll R. J., Farrell H. M., (1983), *J. Dairy Sci.*, 66, 679-686.
17. Mehaia M. A., Cheryan M., (1983), *J. Dairy Sci.*, 66, 390-395.
18. Walstra P., (1979), *J. Dairy Res.*, 46, 317-323.
19. Takeuchi M., Tsuda E., Yoshikawa M., Sasaki R., Chiba H., (1985), *Agric. Biol. Chem.*, 49, 2269-2276.
20. Vreeman H. J., Both P., Brinkhuis J. A., van der Spek C., (1977), *Biochim. Biophys. Acta*, 491, 93-103.
21. Doi H., Ibuki F., Kanamori M., (1979), *J. Dairy Sci.*, 62, 195-203.
22. Schmidt D. G., (1964), *Biochim. Biophys. Acta*, 90, 411-414.
23. Dalgleish D. G., (1986), *J. Dairy Res.*, 53, 43-51.
24. Aoki T., Yamada Y., Kako Y., Kuwata T., (1986), *Japanese J. Zootechnical Sci.*, 57, 624-627.
25. Żbikowska A., Dziuba J., Kostyra H., Smoczyńska K., (1989), *Milchwissenschaft*, 44, 25-28.
26. Żbikowska A., Dziuba J., Jaworska H., Zaborniak A., (1992), *Polish J. Food Nutr. Sci.*, (w druku).
27. Robitaille G., Ng-Kwai-Hang K. F., Monardes H. G., (1991), *J. Dairy Res.*, 58, 107-114.
28. Takeuchi M., Tsuda E., Yoshikawa M., Sasaki R., Chiba H., (1984), *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2789-2797.
29. Yoshikawa M., Takeuchi M., Sasaki R., Chiba H., (1982), *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1044-1048.
30. Dziuba J., Minkiewicz P., Buczel S., (1991), *ABC*, 1, 372-378.
31. Singh L. N., Ganguli N. C., (1975), *Milchwissenschaft*, 30, 17-24.
32. Guerin J., Alais C., Jolles J., Jolles P., (1974), *Biochim. Biophys. Acta*, 351, 325-332.
33. Colas B., Gobin C., Lorient D., (1989), *J. Dairy Res.*, 55, 539-546.
34. Courthaudon J. L., Colas B., Lorient D., (1989), *J. Agric. Food Chem.*, 37, 32-36.
35. Horne D. S., (1986), *J. Colloid Interface Sci.*, 111, 250-260.
36. Britten M., Boulet M., Paquin P., (1989), *J. Dairy Res.*, 56, 223-234.
37. Yoshikawa M., Samejima H., Takeuchi M., Sasaki R., Chiba H., (1981), *Agric. Biol. Chem.*, 45, 333-335.
38. Le Meste M., Colas B., Blond G., Simatos D., (1989), *J. Dairy Res.*, 56, 479-486.
39. Bloomfield V. A., (1979), *J. Dairy Res.*, 46, 241-252.
40. Sullivan R. A., Fitzpatrick M. M., Stanton E. K., (1959), *Nature*, 183, 616-617.
41. Creamer L. R., Wheelock J. V., Samuel D., (1973), *Biochim. Biophys. Acta*, 317, 202-206.
42. Rose D., Davies T., Yaguchi M., (1969), *J. Dairy Sci.*, 52, 8-11.



43. Slattery C. W., (1978), *Biochemistry*, 17, 1100–1104.
44. Kudo S., Iwata S., Mada M., (1979), *Agric. Biol. Chem.*, 43, 1301–1308.
45. Dziuba J., Żbikowska A., Minkiewicz P., (1991), *ABC*, 1, 285–295.
46. Doi H., Ibuki F., Kanamori M., (1979), *Agric. Biol. Chem.*, 43, 1301–1308.
47. van Hooydonk A. C. M., Walstra P., (1987), *Neth. Milk Dairy J.*, 41, 19–47.
48. Dziuba J., Żbikowska A., (1988), *Post. Biochem.*, 34, 429–443.
49. Payens T. A., (1989), *Adv. Colloid Interface Sci.*, 30, 429–443.
50. Sinkinson G., Wheelock J. V. (1970), *Biochim. Biophys. Acta*, 215, 517–521.
51. Doi H., Kawaguchi N., Ibuki F., Kanamori M., (1979), *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 25, 33–41.
52. Addeo F., Martin P., Ribadeau-Dumas B., (1984), *Milchwissenschaft*, 39, 202–205.
53. Gibbons R. A., Cheeseman G. C., (1962), *Biochim. Biophys. Acta*, 56, 354–361.
54. Chaplin B., Green M. L., (1980), *J. Dairy Res.*, 47, 351–358.
55. Morrissey P., Murphy M. F., Hearn C. M., Fox P. F., (1981), *Ir. J. Food Sci.*, 5, 117–127.
56. Chen J. H., Ledford R. A., (1971), *J. Dairy Sci.*, 54, 763–768.
57. Eigel W. N., (1977), *J. Dairy Sci.*, 60, 1399–1403.
58. Andrews A. T., Alichanidis E., (1983), *J. Dairy Res.*, 50, 275–290.
59. Muir D. D., (1985), *Int. J. Biochem.*, 17, 291–299.
60. Singh H., Fox P. F., (1989), *Bull. IDF*, 238, 24–30.
61. van Boekel M. A. J. S., Nieuwenhuijse J. A., Walstra P., (1989), *Neth. Milk Dairy J.*, 43, 97–127.
62. van Boekel M. A. J. S., Nieuwenhuijse J. A., Walstra P., (1989), *Neth. Milk Dairy J.*, 43, 129–146.
63. van Boekel M. A. J. S., Nieuwenhuijse J. A., Walstra P., (1989), *Neth. Milk Dairy J.*, 43, 147–162.
64. Hindle E. J., Wheelock J. V., (1970), *J. Dairy Res.*, 37, 397–405.
65. van Hooydonk A. C. M., de Koster P., Boerrieger I. J., (1987), *Neth. Milk Dairy J.*, 41, 3–18.
66. Aoki T., Kako Y., (1985), *Japanese J. Zootechnical Sci.*, 56, 347–352.

### **The influence of N-acetylneuraminic acid residues on the structure and some properties of casein**

#### **Summary**

The influence of N-acetylneuraminic acid content on the colloidal state, susceptibility to enzymic action and heat stability of casein have been discussed. The presence of N-acetylneuraminic acid residues increases the resistance of casein to enzymic action and heating.

#### *Adres dla korespondencji:*

Jerzy Dziuba, Instytut Biotechnologii Żywności, Zakład Biochemii Żywności, Akademia Rolniczo-Techniczna, 10-957 Olsztyn-Kortowo, bl. 43.