

KARRAGENANLAR VE ET PROTEİNLERİ ARASINDAKİ ETKİLEŞİMLERİN DİFFERANSİYEL TARAMALI KALORİMETRE İLE İNCELENMESİ

Esen Eyiler^{1*} Halil Vural²

¹Akeniz Üniversitesi Korkuteli Meslek Yüksekokulu, Antalya, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 12.06.2018; Kabul / Accepted: 27.08.2018; Online baskı / Published online: 01.10.2018

Eyiler, E., Vural, H. (2018). Karragenanlar ve et proteinleri arasındaki etkileşimlerin differansiyel taramalı kalorimetre ile incelenmesi. *GIDA* (2018) 43 (5): 776-786 doi: 10.15237/gida.GD18061

Eyiler, E., Vural, H. (2018). Determination of interactions between meat proteins and carrageenans with differential scanning calorimetry. GIDA (2018) 43 (5): 776-786 doi: 10.15237/gida.GD18061

ÖZ

Bu çalışma kapsamında et proteinlerinin farklı karragenanlar ile etkileşimi NaCl eklendiği ve eklenmediği durumlarda araştırılmıştır. Bu amaçla et proteinlerinin denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p) ve camsı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve karragenanların jelleşme sıcaklıkları differansiyel taramalı kalorimetre (DTK) ile incelenmiştir. DTK'dan elde edilen termogramlarda miyosin için 57.96°C, sarkoplazmik proteinler için 66.08°C ve aktin için 79.23°C olmak üzere 3 temel T_p değeri bulunmuştur. Kıyma haline getirilmiş dana eti tuz eklendiğinde miyosin ve aktinin T_p değerlerinde azalma sarkoplazmik proteinlerinkinde ise artış gözlenmiştir. Karragenanlar eklendiğinde ise proteinlerin aktin ve miyosinin T_p değerlerinde azalma gözlenmiştir. Karragenanlar etkilerini tuz varlığında daha belirgin olarak göstermişlerdir ($P \leq 0.05$). Camsı geçiş sıcaklığı DTK termogramlarında basamak değişim olarak gözlenmiştir. Tuz eklemenin camsı geçiş sıcaklığı üzerine önemli bir etkisi gözlenmezken ($P > 0.05$), eklenen karragenanlardan yalnızca ι -karragenan artışa neden olmuştur ($P \leq 0.05$). κ ve λ -karragenan ise camsı geçiş sıcaklıklarında azalmaya neden olmuşlardır ($P > 0.05$).

Anahtar kelimeler: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre, Karragenan, Et proteinleri

DETERMINATION OF INTERACTIONS BETWEEN MEAT PROTEINS AND CARRAGEENANS WITH DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY

ABSTRACT

In this study the interactions between meat proteins and κ , ι , λ -carrageenans with or without NaCl were investigated. For this purpose the thermal denaturation (T_p) and glass transition temperatures (T_g) and gelation temperatures of carrageenans were determined by using differential scanning calorimetry (DSC). Three denaturation peaks were found for ground meat which were 57.96°C for myosin, 66.08°C for sarcoplasmic proteins and 79.23°C for actin. The T_p of myosin and actin were decreased while T_p of sarcoplasmic proteins were increased when NaCl was added. Addition of carrageenans decreased the T_p of actin and myosin and it was observed that effect of carrageenans was increased when salt was added. The T_g was observed as step change in the thermograms. Addition of salt did not affect T_g of samples, only ι -carrageenan increased T_g of samples ($P \leq 0.05$). On the other hand κ , λ -carrageenan caused a decrease in the T_g of samples ($P > 0.05$).

Keywords: Differential Scanning Calorimetry, Carrageenan, Meat Proteins

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ eseneyiler@gmail.com ,

☎ (+90) 242 643 5000

☎ (+90) 242 643 5005

GİRİŞ

Düşük yağlı et ürünlerinde karragenan ve aljinatlar gibi su bağlayıcı özelliği olan polisakkaritlerin kullanımı, tüketicilerin düşük yağlı et ürünlerini tercih etmelerinden dolayı, et üreticilerince oldukça ilgi görmektedir (Amako ve Xiong 2001). Karragenanlar jel oluşturma ve su tutma özellikleri dolayısıyla, düşük yağlı et ürünlerinin üretiminde en çok kullanılan katkı maddelerindedir (Zhou vd. 2010, Candoğan ve Kolsarıcı 2003). Li ve Yiang (2004) karragenanların bu özelliklerinin ilk olarak proteinlerin polar grupları ile etkileşime girerek ve jel sistemine entegre olarak güçlü jel yapıları oluşturmalarından, ikincil olarak da karragenan molekülünün yapısında serbest su ile daha fazla hidrojen bağı oluşmasını sağlayan anyonlardan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Ayrıca karragenanların düşük yağlı et ürünlerindeki fonksiyonellikleri termal olarak geri dönüşümlü özelliklerinden de kaynaklanmaktadır (Amako ve Xiong 2001). Karragenanlar su yosunlarından elde edilen sülfatlanmış polisakkaritlerdir ve 3 temel türü vardır; bunlar kappa (κ), iota (ι) ve lambda (λ) karragenandır. Bu üç karragenanın birbirinden farkı sülfatlanma şekilleri ve sülfat grupları ile bağlanmış katyonlardan kaynaklanmaktadır (Towle 1973).

Düşük yağlı et ürünlerinin üretiminde kullanılan hidrokolloidlerin et proteinlerinin termal geçiş sıcaklıkları üzerinde etkili olduğu vurgulanmaktadır. Shand vd. (1994) et parçalarına %2 oranında κ -KRG eklendiğinde, et proteinlerinin stabilize olduğunu ve bu etkinin κ -KRG ve et proteinleri arasındaki ilişkiden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Et proteinleri için tipik geçiş sıcaklıkları; miyosin ve alt birimleri için 54 – 58°C arasında, sarkoplazmik proteinler için 67°C ve aktin için 71- 83°C arasındadır ve bu proteinlerin termal özellikleri pH ve tuzdan etkilenmektedir (Wright vd. 1977; Harwalker ve Ma 1990). Ete sodyum klorür eklenmesi veya pH'nın düşürülmesi proteinlerin stabilitesini etkilemekte ve denatürasyon sıcaklıklarını düşürmektedir (Lüisa vd. 2008. Pighin vd.2008). Differansiyel taramalı kalorimetre (DTK) kas dokusundaki et proteinlerinin termal denatürasyonlarını çalışmak

için etkin bir yöntem olarak görülmekte ve kasılmayı sağlayan proteinler olan aktin ve miyosin ile sarkoplazmik proteinler bu yöntem ile birbirlerinden ayrılabilir (DeFreitas 1997). DTK birinci derece ve ikinci derece geçişlerin analizlerinde kullanılabilir. Gıdalarda birinci derece geçişler protein denatürasyonu, nişastaların jelatinizasyonu erime proseslerini, ikinci derece geçişler ise camsı geçiş sıcaklıklarının analizini içermektedir. Camsı geçiş amorf maddelerin bir özelliğidir ve nişasta granülleri ve dondurulabilen gıdalar camsı geçiş sıcaklığı göstermektedir (Ma, vd. 1990). Gıdalar dondurulduklarında mikrobiyolojik olarak stabil olmalarına rağmen kimyasal ve fiziksel bozulmalara uğrayabilmektedir. Gıdaların uzun süre depolanmasının dondurulmuş amorf camsı fazda olmaları ile sağlanabileceği belirtilmektedir. Camsı durumdaki bir gıda da moleküllerin hareket kabiliyetlerinin çok sınırlı olmasından dolayı bu durumdaki gıdaların depolama sırasında zarara uğramadığı savunulmaktadır (Orlien vd 2004). Akköse ve Aktaş (2008) gum arabik ve κ -KRG ekledikleri etleri, camsı geçiş sıcaklığı ve -18°C'da depoladıkları çalışmalarında iki sıcaklık arasında ürünlerin kaliteleri arasında önemli bir farklılık olmadığını bu nedenle de ürünlerin -18°C yerine camsı geçiş sıcaklıkları olan -13°C 'da depolanabileceğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı tuz içeren ve içermeyen kıyma haline getirilmiş dana eti örneklerine farklı konsantrasyonlarda eklenen κ , ι ve λ -KRG ile et proteinleri arasında bir etkileşim meydana gelip gelmediği T_p sıcaklıklarındaki meydana gelen kaymaların DTK ile belirlenerek incelenmesidir. Ayrıca örneklerinin camsı geçiş sıcaklıklarında meydana gelen değişimlerde incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan kıyma haline getirilmiş dana eti yerel kasaplardan tuz ise marketten temin edilmiştir. Katkı maddesi olarak kullanılan Kappa (κ), Lambda (λ) ve iota (ι) karragenanlar (KRG) Cargill'den (İstanbul/Türkiye) tarafından temin edilmiştir.

Metot

Örneklerin Hazırlanması

Karragenanların termal özelliklerinin belirlenebilmesi amacıyla her bir maddenin saf su içerisinde %2'lik çözeltileri hazırlanmıştır. Karragenanların et proteinlerinin denatürasyon sıcaklıkları üzerine etkisinin belirlenebilmesi amacıyla kıyma haline getirilmiş dana etine %3, 2 ve 1 oranında κ , λ ve ι KRG eklenmiş ve homojen bir karışım elde edilebilmesi amacıyla 5 dakika boyunca mikserle karıştırılmıştır. DeFreitas vd (1997) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda % 0.5 oranında KRG kullanıldığında proteinlerin termal özelliklerinde değişime neden olmadığını belirtmelerinden dolayı çalışmamızda karragenanların etkisini daha belirgin gözlemleyebilmek amacıyla belirtilen konsantrasyon kullanılmıştır. Denemeler tuzun etkisinin gözlenebilmesi amacıyla tuz yokluğunda ve varlığında gerçekleştirilmiştir. Tuzun et proteinleri üzerine etkisinin gözlenebilmesi içinse örnekler %2 oranında tuz ilave edilmiştir.

Termal özelliklerin incelenmesi

Karragenanlar çözeltileri, kıyma haline getirilmiş dana eti ve karışımların termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (Q20, TA Instruments, USA) kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla örneklerden 6 ± 0.5 mg örnek alınarak alüminyum diferansiyel taramalı kalorimetre (DTK) kaplarına tartılmış ve hermetik olarak kapatılmıştır. Kaplar DTK hücresine yerleştirildikten sonra 20°C'da dengelenmiş ve 20-100°C arasında 5°C/dk ile referansa karşı tarama gerçekleştirilmiştir. Karragenanların termal değişimleri geri dönüşümlü olduğundan örnekler jel-sol geçişlerin belirlenebilmesi için 100-20°C arasında yine 5°C/dk ile taranmıştır. Analizlerde referans olarak boş, hermetik olarak kapatılmış DTK kabı kullanılmıştır. Sonuçlar TA Universal Analysis 2000 ile analiz edilmiştir. Bu analizler ile etteki proteinlerin denatürasyon pik (T_p) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH J/g) belirlenmiştir.

Ürünlerin camsı geçiş sıcaklıklarının belirlenmesinde hermetik olarak kapatılan örnek kaplarının DTK hücresine yerleştirilmesinden sonra örnekler 20°C'da dengelenmiştir. Örnek ve

referans kabı denge sıcaklığına ulaştığında 5°C/dk ile kaplar -80°C'a soğutulmuş ve bu sıcaklıkta 15 dakika tutulmuştur. Süre sonunda kaplar tavlama sıcaklığına getirilmiş ve 60 dk. beklenmiştir. Kaplar tekrar -80°C'a soğutulmuş ve 15 dakika bu sıcaklıkta tutulmuş ve devamında 5°C/dk ile 20°C'a kadar taranmıştır (Akköse ve Aktaş 2008). Camsı geçiş sıcaklığı elde edilen termogramlarda basamak değişim olarak gözlenmektedir (Akköse ve Aktaş 2008).

İstatistiksel analizler

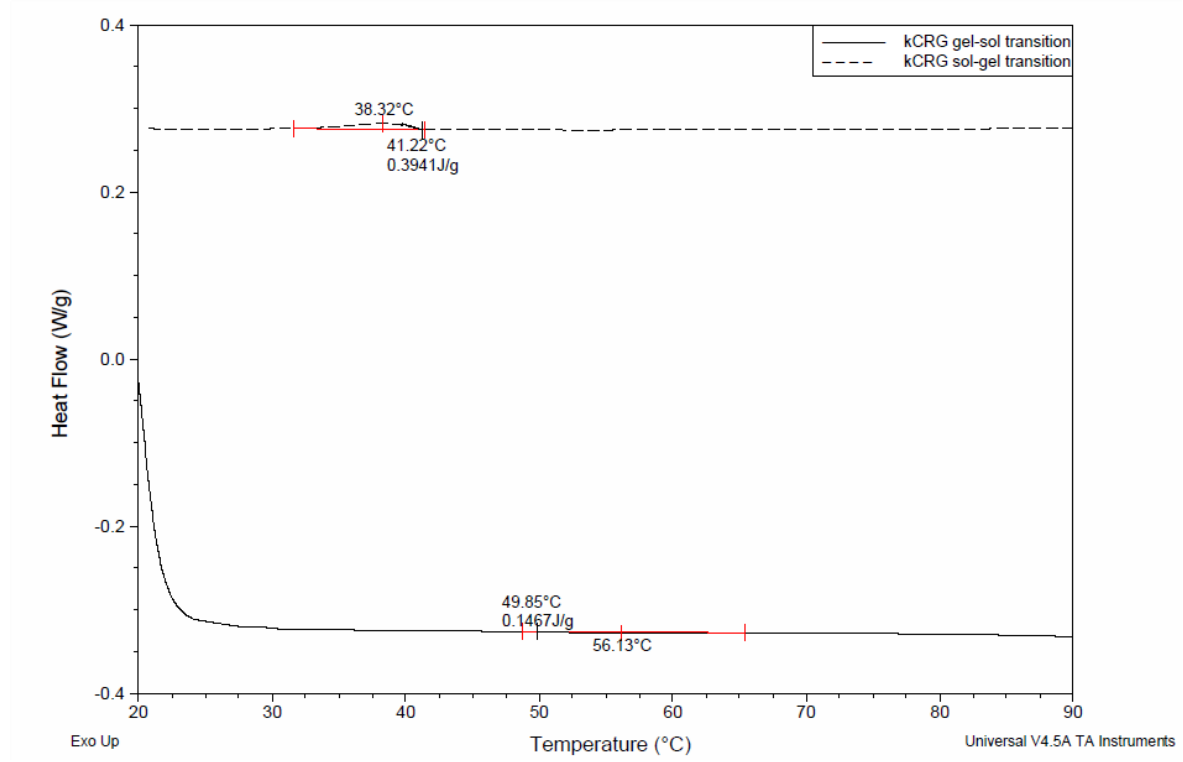
Elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS paket programı kullanılmıştır. Varyans analizi ile (ANOVA) grup ortalamaları arasındaki farklar Duncan analizi ile incelenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Karragenanlar, kıyma haline getirilmiş dana eti ve karışımların termal denatürasyon sıcaklıklarına ait sonuçlar

Karragenanların %2 lik çözeltileri üzerinde gerçekleştirilen DTK incelemelerine göre, κ KRG'in termal olarak geri dönüşümlü olduğu bulunmuştur. κ KRG'in gel-sol geçişi pik sıcaklığı 56.13°C olarak, sol-gel geçiş sıcaklığı ise 38.29°C olarak bulunmuştur (Şekil 1). Bu durum κ KRG'nin termal olarak dönüşümlü olduğunun bir göstergesidir. λ ve ι CRG için 20-100°C aralığında belirgin bir pik elde edilememiştir. %1 ve 2'lik κ KRG ve metil selüloz jellerinin termal özelliklerini deiyonize su içeren referansa karşı 10-80°C aralığında 1°C/dk artışla DTK ile inceleyen Tomsic vd. (2008) κ KRG'a ait jel-sol geçiş sıcaklıklarını %1 ve 2'lik çözeltiler için sırasıyla 40.9°C ve 51.6°C olarak, sol-jel geçiş sıcaklıklarını ise sırasıyla 28.4 ve 36.7°C bulunduğunu belirtmişlerdir. Buna karşılık DeFreitas vd (1997) tarafından gerçekleştirilen ve et proteinleri ile κ CGN arasındaki etkileşimlerin incelendiği bir çalışmada 25-110°C arasında 10°C/dk artışla yapılan taramalarda %0.5 κ KRG'a ait termal geçiş pikinin belirlenemediğini, %2'lik κ KRG çözeltilisinin ise jel-sol geçiş sıcaklığının 54.5°C olarak bulunduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda bulunan değerler literatürde belirtilen değerlerden daha yüksektir bu durumun, çalışmalarda

hazırlanan karragenan ve çözeltilerinin gerçeleştirilen tarama sıcaklık farklılıklarından konsantrasyonlarındaki ve DTK'da kaynaklandığı düşünölmektedir.



Şekil 1: κ -karragenanın 20-100°C aralığında sol-jel ve jel-sol değışimlerini gösteren DTK termogramı

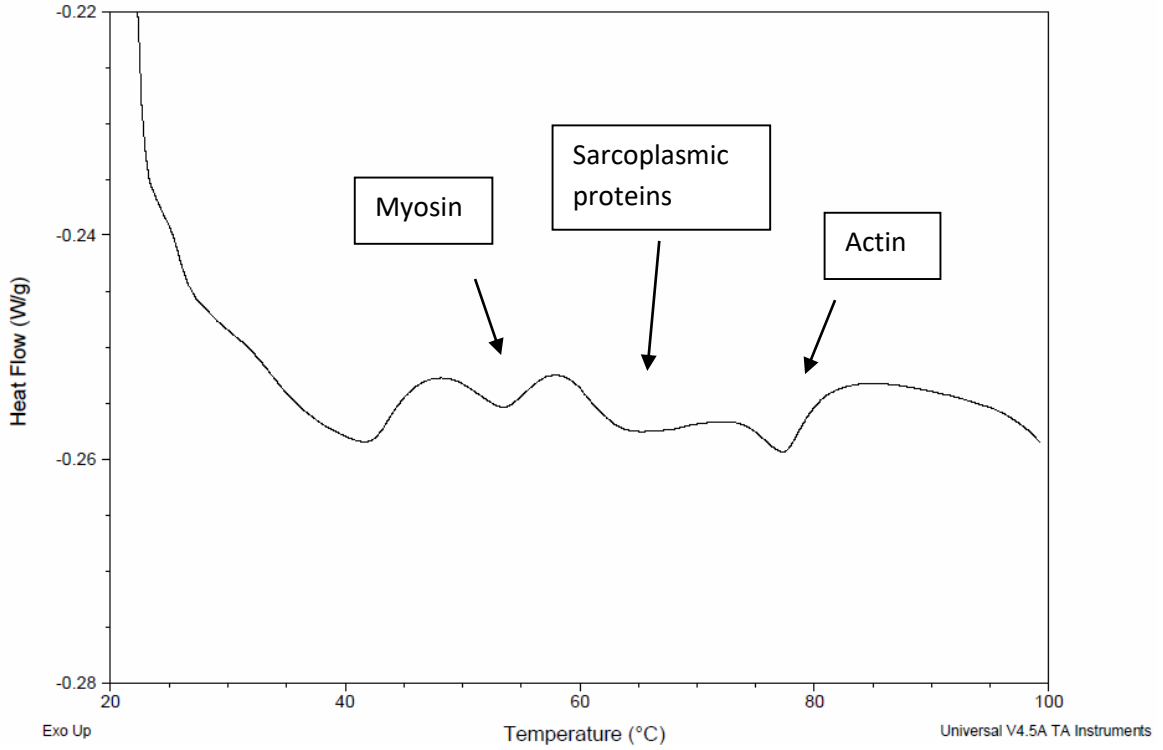
Figure 1: The sol-gel and gel-sol transitions of κ -carrageenan in DSC thermogram

Kıyma örneğinin DTK ile analizi sonucunda elde edilen termogramlarda 3 endotermik pik gözlenmiştir (Şekil 2). Bu piklerden birincisi miyosine, ikincisi sarkoplazmik proteinlere ve üçüncüsü ise aktine ait denatürasyon piklerini göstermektedir. Deantürasyon pik sıcaklıkları (T_p) ise sırasıyla, miyosin için 57,96°C, sarkoplazmik proteinler için 66.08°C ve aktin için 79.23°C olarak bulunmuştur. Kıymaya %2 oranında NaCl eklendiğinde T_p değerleri miyosin ve aktin için sırasıyla 56.06 ve 75.25°C'a düşmüş, sarkoplazmik proteinlerin T_p değeri ise 68.17°C'a yükselmiştir. Miyosin ve aktin tuzda çözünen proteinler olduklarından dolayı tuz eklenmesi ile birlikte bu proteinler destabilize olmuşlar ve denatürasyon sıcaklıkları düşmüştür. Bu durum miyosin ve aktinin denatürasyona daha az dayanıklı hale geldiğini göstermektedir. Aynı şekilde miyosinin denatürasyonu için gerekli olan enerji (ΔH) tuz

varlığında 0.5030'dan 0.0291J/g'a, aktinin denatürasyonu için gerekli enerji ise tuz varlığında 0.1847'den 0.0092 J/g'a düşmüştür. Chen vd. (2007) keten tohumunun et proteinleri ile etkileşimlerini inceledikleri çalışmalarında kontrol grubuna (tuz ve keten tohumu içermeyen örnek) ait örneğin DTK incelemelerinde 3 temel pik bulunmuş bu sıcaklıkların 58.4°C, 66.6°C ve 81.9°C olduğu ve sırasıyla miyosin, sarkoplazmik proteinler ve aktine ait olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada kıymaya % 2.5 oranında tuz eklenmesi durumunda miyosin ve aktinin T_p değerlerinin sırası ile 3°C ve 8.5°C azaldığı buna karşılık sarkoplazmik proteinlerin T_p değerlerinin 1.9°C arttığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Pighin vd (2008), tarafından gerçekleştirilen çalışmada ete % 0.7 oranında tuz eklendiğinde miyosinin ΔH ve aktinin T_p değerinin belirgin şekilde azaldığı, miyosinin T_p ve aktinin ΔH değerlerinde ise çok

az oranda azalma olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlara göre özellikle aktinin ortama eklenen tuz nedeniyle destabilize olduğu böylece

bu proteinin denatürasyona karşı daha duyarlı hale geldiğini belirtmişlerdir.



Şekil 2: Et proteinlerinin denatürasyonunu gösteren DTK termogramı.

Figure 2: DSC thermograms of denaturation of meat proteins.

κ KRG'in tuz eklenmediği durumda et proteinlerinden miyosinin T_p değerini düşürdüğü gözlenmiştir (Çizelge 1). Ancak bu düşme yalnızca %1 oranında κ KRG kullanıldığında istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Miyosinin denatürasyonu için gerekli enerjiye (ΔH) bakıldığında ise örnekler eklenen κ KRG oranı arttıkça denatürasyon için gerekli enerjinin azaldığı gözlenmiştir. Tuz eklenen örnekler kendi arasında incelendiğinde tuz varlığında κ KRG eklemek önemli bir değişikliğe neden olmamıştır ($P > 0.05$). κ KRG örneklerde %2 oranında kullanıldığında ise miyosine ait denatürasyon piki belirlenememiştir. Denatürasyon için gerekli enerjide de denatürasyon piklerine benzer şekilde önemli bir farklılığa rastlanmamıştır ($P > 0.05$). κ KRG'in sarkoplazmik proteinler üzerine etkisine bakıldığında (Çizelge 2) ise %2 oranında κ KRG

ve tuz içeren örnek hariç diğer örneklerde önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($P > 0.05$). Tuz içeren örneklerdeki temel etkinin kontrol ile karşılaştırıldığında κ -karragenandan değil tuzdan kaynaklandığı düşünülmüştür. Sarkoplazmik proteinlerin ΔH değerlerinin κ KRG'dan nasıl etkilendiğinde bakıldığında ise yalnızca %3 oranında κ KRG içeren örnekte önemli bir artış gözlenmiştir ($P \leq 0.05$). Diğer örneklerde tuz ya da karragenan eklemenin herhangi bir etkisi gözlenmemiştir ($P > 0.05$). κ KRG'in esas etkisi özellikle %2 ve 3 oranında kullanıldığında aktin üzerinde gözlenmiştir. Tuz içeren ve içermeyen bu örnekler için aktinin T_p değerlerinde önemli bir azalmaya sebep olmuştur ($P \leq 0.05$). Aktine ait ΔH değerlerine bakıldığında ise özellikle %2 oranında tuz ve κ KRG içeren örnekteki artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Çizelge 1: Örnekler ve kullanılan katkı maddeleri.
Table 1: Samples and additives used

Sample	Amount of Salt (%)	Carrageenan	Carrageenan percentage (%)
K	-	-	-
KT	2	-	-
KκCGN1	-	κ- Carrageenan	1
KκCGN2	-	κ- Carrageenan	2
KκCGN3	-	κ- Carrageenan	3
KTκCGN1	2	κ- Carrageenan	1
KTκCGN2	2	κ- Carrageenan	2
KTκCGN3	2	κ- Carrageenan	3
KλKGN1	-	λ- Carrageenan	1
KλKGN2	-	λ- Carrageenan	2
KλKGN3	-	λ- Carrageenan	3
KTλKGN1	2	λ- Carrageenan	1
KTλKGN2	2	λ- Carrageenan	2
KTλKGN3	2	λ- Carrageenan	3
KιKGN1	-	ι- Carrageenan	1
KιKGN2	-	ι- Carrageenan	2
KιKGN3	-	ι- Carrageenan	3
KTιKGN1	2	ι- Carrageenan	1
KTιKGN2	2	ι- Carrageenan	2
KTιKGN3	2	ι- Carrageenan	3

Çizelge 2: κ-karragenan kullanılan tuz içeren ve içermeyen örneklerin proteinlerine ait denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p), Camısı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH) sonuçları.

Table 2: The denaturation peak temperatures (T_p), Glass transition temperatures and energy for denaturation of samples with κ-carrageenan and with or without NaCl

Sample	Myosin		Sarcoplasmic proteins		Actin		T_g (°C)
	T_{p1} (°C)	ΔH_1 (J/g)	T_{p2} (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{p3} (°C)	ΔH_3 (J/g)	
Minced meat (K)	57.96 ^a	0.5030 ^{ab}	66.08 ^a	0.3688 ^a	79.23 ^a	0.1847 ^a	-15.73 ^{ab}
KκKRG1	55.62 ^b	0.0763 ^a	66.06 ^a	0.2092 ^a	78.70 ^{ab}	0.2147 ^{bc}	-15.34 ^a
KκKRG2	57.54 ^a	0.0143 ^{bc}	66.02 ^a	0.3600 ^a	78.33 ^b	0.1271 ^{abd}	-15.49 ^{ab}
KκKRG3	56.76 ^{ab}	0.0027 ^c	64.30 ^a	1.6324 ^b	78.28 ^b	0.0906 ^{ade}	-15.84 ^b
K+NaCl	56.06 ^b	0.0291 ^{bc}	68.17 ^b	0.3185 ^a	75.25 ^c	0.0092 ^{de}	-15.79 ^b
KTκKRG1	55.84 ^b	0.0210 ^{bc}	68.21 ^b	0.3653 ^a	74.53 ^{cd}	0.0031 ^e	-15.60 ^{ab}
KTκKRG2	ND	ND	65.97 ^a	0.0090 ^a	71.46 ^e	0.3239 ^c	-16.34 ^c
KTκKRG3	55.37 ^b	0.0023 ^c	69.22 ^b	0.1233 ^a	74.25 ^d	0.0165 ^{de}	-16.50 ^c

K: Kıyma, T: Tuz, κKRG: kappa-karragenan.

K: Minced Meat, T: Salt, κKRG: Kappa-carrageenan

a-e: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

a-e: The difference between the results with different letters is significant ($P < 0.05$)

λ KRG'in et proteinleri üzerine etkisi Çizelge 3'de gösterilmiştir. Çizelgeden de gözlemediği üzere tuz içeren ve içermeyen örnekler kendi içlerinde değerlendirildiğinde λ KRG eklemek miyosinin T_p ve ΔH değerleri üzerinde önemli bir etki göstermemiştir ($P > 0.05$). Buradaki temel etkinin ortama eklenen tuzdan kaynaklandığı gözlenmektedir. Sarkoplazmik proteinlere ait sonuçlar incelendiğinde (Çizelge 3) miyosine benzer şekilde eklenen λ KRG'in T_p değerleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmektedir ($P > 0.05$). Tuzun kullanılmadığı örneklerde %2 ve 3 oranında λ KRG eklemenin ΔH değerlerinde belirgin bir artışa neden olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Elde edilen sonuçlara göre örnekler λ KRG eklemenin temel etkisinin aktin üzerine olduğu gözlenmiştir. Tuzun kullanılmadığı örneklerde kıyma haline getirilmiş dana etine %2 ve 3 oranında λ KRG eklendiğinde aktinin T_p değerlerinde önemli bir artış bulunmuştur ($P < 0.05$). Buna karşın λ KRG tuz ile birlikte kıymaya eklendiğinde, yalnızca tuz içeren örneğe göre T_p değerlerinde azalmaya neden olmuştur ($P < 0.05$). ΔH değerlerinde ise tuz içeren örnekler ve içermeyen örnekler kendi

aralarında değerlendirildiğinde önemli bir fark gözlenmediğinden ($P > 0.05$) azalmanın temel nedeninin λ KRG değil tuz olduğu düşünülmektedir. λ KRG'in miyosin üzerine etkisi incelendiğinde (Çizelge 4) λ KRG'in etkisini özellikle %2 oranında kullanıldığında gösterdiği belirlenmiştir. Tuzun kullanıldığı ve kullanılmadığı örneklerde %2 oranında λ KRG eklemek tuz içeren ve içermeyen kontrol örneklerine göre önemli bir artışa neden olmuştur ($P < 0.05$). Miyosine ait ΔH değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Sarkoplazmik proteinlerde ise tuz içeren ve içermeyen örnekler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında T_p değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmediğinden buradaki temel etkinin λ KRG'dan değil tuzdan kaynaklandığı düşünülmektedir. λ KRG'in aktin üzerine etkisine bakıldığında tuz içermeyen örnekler, tuzsuz kontrol ile karşılaştırıldıklarında, tuz içeren örnekler ise tuz içeren kontrol ile karşılaştırıldıklarında T_p değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Bu nedenle burada λ KRG'in aktinin denatürasyon sıcaklığı üzerine etkisinin olmadığı tuzun daha belirgin bir etki gösterdiği düşünülmektedir.

Çizelge 3: λ -karragenan kullanılan tuz içeren ve içermeyen örneklerin proteinlerine ait denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p), Camı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH) sonuçları.

Table 3: The denaturation peak temperatures (T_p), Glass transition temperatures and energy for denaturation of samples with λ -carrageenan and with or without NaCl

Sample	Myosin		Sarcoplasmic Proteins		Actine		T_g (°C)
	T_{p1} (°C)	ΔH_1 (J/g)	T_{p2} (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{p3} (°C)	ΔH_3 (J/g)	
Minced meat (K)	57.96 ^a	0.5030 ^{ab}	66.08 ^a	0.3688 ^{abc}	79.23 ^c	0.1847 ^a	-15.73 ^{ab}
K λ KRG1	58.36 ^a	0.0152 ^a	65.92 ^a	0.5328 ^{bc}	79.82 ^{cde}	0.2266 ^a	-15.19 ^a
K λ KRG2	58.44 ^a	0.0298 ^a	67.04 ^a	0.7051 ^c	80.70 ^e	0.1887 ^a	-15.33 ^a
K λ KRG3	57.79 ^a	0.0114 ^a	66.40 ^a	0.7578 ^c	80.19 ^d	0.1301 ^a	-15.19 ^a
K+NaCl	56.06 ^b	0.0291 ^a	68.17 ^{ab}	0.3185 ^{abc}	75.25 ^b	0.0092 ^b	-15.79 ^{ab}
KT λ KRG1	55.27 ^b	0.0071 ^a	69.45 ^b	0.1450 ^{ab}	74.37 ^a	0.0094 ^b	-16.27 ^{bc}
KT λ KRG2	55.41 ^b	0.0411 ^{ab}	69.77 ^b	0.3649 ^{abc}	74.64 ^{ab}	0.0153 ^b	-15.78 ^{ab}
KT λ KRG3	55.62 ^b	0.0946 ^b	66.31 ^a	0.0703 ^a	74.52 ^a	0.1146 ^{ab}	-16.63 ^c

K: Kıyma, T: Tuz, λ KRG: lambda -karragenan.

K: Minced Meat, T: Salt, λ KRG: Lambda-carrageenan

a-e: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

a-e: The difference between the results with different letters is significant ($P < 0.05$)

Çizelge 4: ι -karragenan kullanılan tuz içeren ve içermeyen örneklerin proteinlerine ait denatürasyon pik sıcaklıkları (T_p), Camısı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve denatürasyon için gerekli enerji (ΔH) sonuçları.

Table 4: The denaturation peak temperatures (T_p), Glass transition temperatures and energy for denaturation of samples with ι -carrageenan and with or without NaCl

Sample	Myosin		Sarcoplasmic Proteins		Actin		T_g (°C)
	T_{p1} (°C)	ΔH_1 (J/g)	T_{p2} (°C)	ΔH_2 (J/g)	T_{p3} (°C)	ΔH_3 (J/g)	
Minced meat (K)	57.96 ^b	0.5030 ^a	66.08 ^a	0.3688 ^{ab}	79.23 ^a	0.1847 ^a	-15.73 ^{ab}
K ι KRG1	58.43 ^b	0.0062 ^a	66.24 ^{ab}	0.2402 ^{ab}	79.58 ^a	0.3178 ^c	-15.15 ^{bc}
K ι KRG2	59.78 ^c	0.0094 ^a	66.90 ^{abc}	1.0387 ^{bc}	80.36 ^a	0.1231 ^{ab}	-14.94 ^c
K ι KRG3	58.24 ^b	0.0044 ^a	67.20 ^{abc}	1.3264 ^c	80.29 ^a	0.1393 ^{ab}	-14.14 ^d
K+NaCl	56.06 ^a	0.0291 ^a	68.17 ^{bcd}	0.3185 ^{ab}	75.25 ^b	0.0092 ^b	-15.79 ^a
KT ι KRG1	56.36 ^a	0.0388 ^a	67.13 ^{abc}	0.3480 ^{ab}	74.71 ^b	0.0337 ^b	-16.45 ^c
KT ι KRG2	58.06 ^b	0.0222 ^a	69.44 ^d	0.2016 ^a	75.17 ^b	0.0087 ^b	-14.66 ^{cd}
KT ι KRG3	57.16 ^{ab}	0.0912 ^a	68.83 ^{cd}	0.3147 ^{ab}	74.74 ^b	0.0513 ^{ab}	-14.62 ^{cd}

K: Kıyma, T: Tuz, ι KRG: iota -karragenan.

K: Minced Meat, T: Salt, λ KRG: Lambda-carrageenan

a-e: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

a-e: The difference between the results with different letters is significant ($P < 0.05$)

Defreitas vd. (1997) çalışmasında %2 oranında kullanılan KRG'in et proteinlerinin termal geçiş sıcaklıkları üzerine etkisinin proteinler ile karragenanlar arasında etkileşimi göstermeyecek kadar az olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada özellikle ortama eklenen κ -KRG'in düşük iyonik güçte (0.18) kullanıldığında et proteinlerinden aktin üzerinde destabilize edici özelliği olduğunu belirtmişler, yüksek iyonik güçlere çıkıldığında ise bu etkinin gözlenmediğini vurgulamışlardır. Tavuk eti proteinlerinin KRG'lar ile etkileşiminin incelendiği bir çalışmada %2 oranında eklenen KRG'ların ikinci pike ait T_p değerinin belirlenmesini engellediği belirtilmiştir. κ KRG'in %2 oranında eklendiği durumda birinci piken T_p değerinin 63.3'den 64.4'e yükseldiği, üçüncü pike ait T_p değerinin ise 78.3'den 76.3'e düştüğü rapor edilmiştir. λ KRG varlığında ise üçüncü pike ait T_p değerinin azaldığı ve 77.2 bulunduğu belirtilmiştir. Karragenanların yanı sıra sisteme %2.5 oranında tuz eklenmesi durumunda κ KRG'nin aktin ve miyosinin termal stabilitesini etkilediği ancak sarkoplazmik proteinler üzerine önemli bir etki göstermediği belirtilmiştir. Tuzlu ve tuzsuz örnekler arasında yapılan karşılaştırmalar

sonucunda κ KRG'nin etkisinin iyonik güce bağlı olduğu vurgulanmıştır.

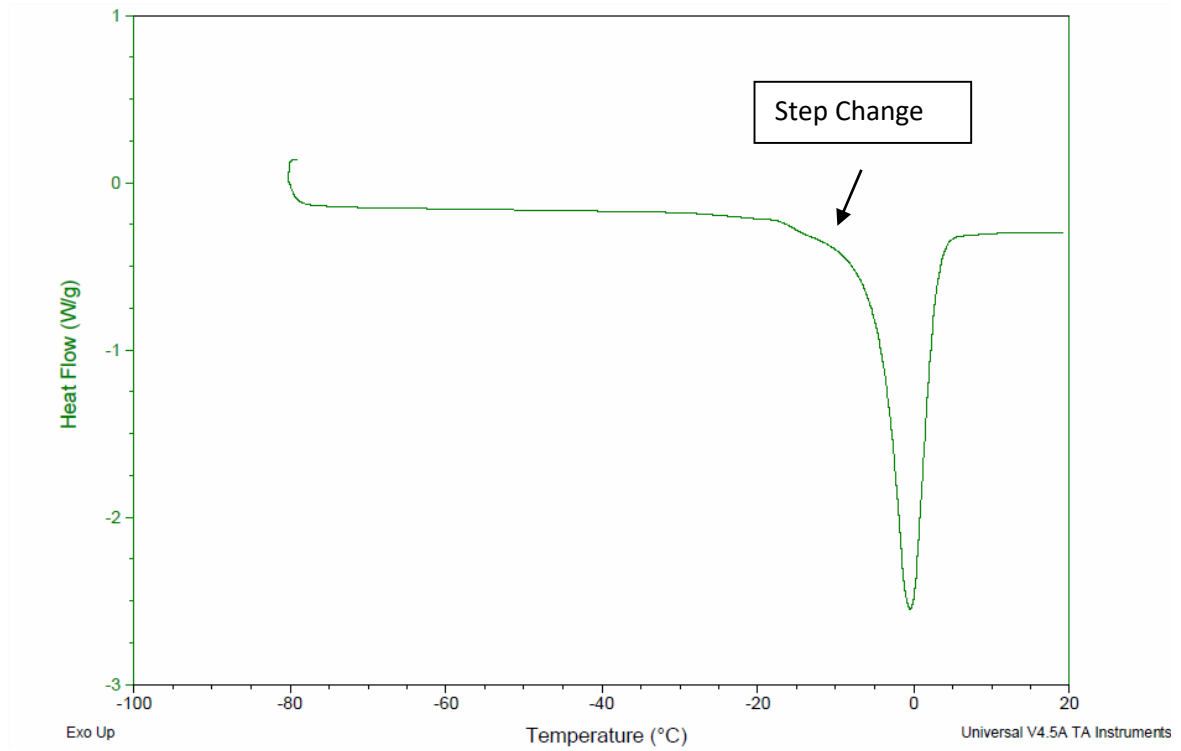
Çalışmamızda elde sonuçlarda da benzer şekilde tuz eklendiği durumda özellikle κ KRG'nin denatürasyon sıcaklıkları üzerine daha etkili olduğu denatürasyon sıcaklıklarında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Bu azalmanın kullanılan karragenan konsantrasyonu arttıkça daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Proteinlerin denatürasyon sıcaklıklarında meydana gelen bu azalmanın proteinleri destabilize ettiği yani denatürasyona daha duyarlı hale geldiği belirtilmektedir (DeFreitas vd. 1997). Tuz ile birlikte λ ve ι -karragenan eklenen örneklerin denatürasyon sıcaklıklarında düşüş meydana gelmiş ancak bu düşme tuz içeren kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Dickensen (2003) proteinlerin üzerindeki pozitif yüklü HN^{3+} gruplarının κ ve λ KRG'da bulunan OSO^{3-} grupları ile güçlü kompleksler oluşturduğu belirtmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında daha öncede belirtildiği üzere kullanılan

karragenan konsantrasyonları arttırıldığında proteinlere ait denatürasyon sıcaklıklarındaki düşüşlerin de arttığı bulunmuştur. Bunun yanı sıra λ KRG kullanılan örneklerde T_p değerlerinde meydana gelen değişimin κ KRG kullanılan örnekler göre daha fazla olduğu gözlenmiş, bu durumun λ KRG'in yapısında bulunan OSO_3^- gruplarının κ KRG'dan daha fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu durum karragenanlar ile proteinler arasında bir etkileşim olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Camsı geçiş sıcaklığı (T_g) DTK termogramlarında basamak değişim olarak gözlenmekte (Şekil 3) ve TA universal analysis 2000 programında bulunan hesaplama yönteminde basamak değişiminin başlangıç ve sonlanma sıcaklıkları seçilerek

hesaplama yapılmakta ve orta nokta camsı geçiş sıcaklığı olarak alınmaktadır. Camsı geçiş sıcaklığı DTK analizlerinde ikinci derece geçiş olarak adlandırılmakta ve zaman-sıcaklık ile ilgili özelliklerin yanı sıra suyun dondurma ve depolama süresince durumu hakkında bilgi verebilmektedir. Ürünlerin depolanması sırasında sıcaklığın T_g 'den düşük olduğu durumlarda konsantre haldeki su kinetik olarak immobilize hale gelmekte ve bozulma reaksiyonlarında yer almamakta ya da bu reaksiyonları desteklememektedir. Camsı materyalin moleküler mobilitesi oldukça düşmektedir. Böylece gıdaların depolanması esnasında meydana gelen tekstür kaybı, enzimatik bozulma, tat-koku kaybı gibi birçok değişim gecikmektedir (Sunooj vd. 2009).



Şekil 3: Kıymaya ait camsı geçiş sıcaklığı (T_g) DTK termogramı.

Figure 3: Glass transition temperature of minced meat

Elde edilen sonuçlara bakıldığında kontrol grubuna ait T_g değeri -15.73°C olarak bulunmuştur (Çizelge 2). Kıyma haline getirilmiş dana eti örneğine ait T_g değeri örneğe tuz

eklendiğinde 15.79°C olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu değişimin önemli olmadığı gözlenmiştir ($P > 0.05$). κ KRG içeren örneklerin (Çizelge 2) camsı geçiş

sıcaklıklarına bakıldığında yalnızca tuz varlığında örneklerde %2 ve 3 oranında κ KRG eklemenin T_g değerlerinde azalmaya yol açtığı belirlenmiş ve azalmanın istatistik olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). λ KRG kullanılan örneklerde de benzer şekilde tuz eklenmeyen örneklerin T_g değerlerinde önemli bir değişim gözlenmezken ($P > 0.05$), tuz varlığında %1 ve 3 oranında λ KRG kullanıldığında belirgin bir azalma gözlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 3). ι KRG kullanılan örneklerin camsı geçiş sıcaklıklarında ise tuz bulunan ve bulunmayan örneklerde %2 ve 3 oranında ι KRG kullanıldığı durumda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arttığı ve bu artışın istatistik olarak önemli olduğu gözlenmiştir ($P \leq 0,05$) (Çizelge 4). Elde edilen sonuçlara göre ι KRG'in proteinlerin denatürasyon sıcaklıkları üzerine önemli bir etkisi gözlenmezken camsı geçiş sıcaklığını belli konsantrasyonlarda belirgin şekilde etkilemiştir.

SONUÇ

Kıyma haline getirilmiş dana etinin DTK ile incelenmesi sonucunda et proteinlerine ait üç temel pik gözlenmiştir. Bunlar sırasıyla miyosin, sarkoplazmik proteinler ve aktine aittir. Kıymaya NaCl eklenmesi durumunda ise bu proteinlerden miyosin ve aktininin T_p değerlerinde azalmaya sarkoplazmik proteinlerin T_p değerlerinde ise artışa neden olduğu belirlenmiştir. Denatürasyon sıcaklıklarındaki azalma bu proteinlerin destabilize olduğunun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Kıymaya farklı karragenanlar eklendiğinde ise T_p değerlerinde genellikle azalma gözlenmiş ve bu azalmanın eklenen karragenan oranları arttıkça daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Karragenanlar arasında ise en belirgin etkiyi λ KRG'in gösterdiği bulunmuş, bunun sebebinin ise yapısındaki OSO^3 -gruplarının daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Camsı geçiş sıcaklıklarında ise yalnızca ι KRG belirgin bir artış sağlamış ve istenen etkiyi göstermiştir. Camsı geçiş sıcaklığının daha yüksek olması depolama esnasında daha yüksek sıcaklıkların kullanılmasını sağlayacağından tercih edilen bir durumdur. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre karragenanlar ve et proteinleri arasında bir etkileşim olduğunu söylemek mümkündür ancak denatürasyon sıcaklıklarındaki değişimin çok az

olması nedeniyle ileri analiz yöntemleri ile daha kesin sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Akkose, A., Aktas, N. (2008). Determination of glass transition temperature of beef and effects of various cryoprotective agents on some chemical changes. *Meat Sci.* 80: 875–878.

Amako, D.E.N., Xiong, Y.L. (2001). Effects of carrageenan on thermal stability of proteins from chicken thigh and breast muscles. *Food Res Int.* 34: 247-253.

Candogan, K., Kolsarici, N. (2003). The effects of carrageenan and pectin on some quality characteristics of low-fat beef frankfurters. *Meat Sci.* 64: 199–206.

Chen, H.H., Xu, S.Y., Wang, Z. (2007). Interaction between flaxseed gum and meat protein, *J Food Eng.* 80: 1051-1059.

DeFreitas, Z., Sebranek, J.G., Olson, D.G., Carr, J.M. (1997). Carrageenan effects on thermal stability of meat proteins. *J Food Sci.* 62(3): 544-547.

Dickensen, E., (2003) Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems, *Food Hydrocoll.* 17: 25-39.

Harwalker U.R., Ma, C.Y. (Ed.), Findlay, C.J., Barbut, S. (1990). Thermal analysis of meat. Ch. 4, In *Therm Anal of Food. Elsevier Applied Science*, New York. p. 93–125.

Li, Y.T., Jiang, Y.M. (2004). Carrageenan and cooked meat products. *Journal Meat.* 9: 46–47.

Ma, C. Y., Harwalkar V. R., Maurice, T. J., (1990). *Instrum and Tech Therm Anal Food Res*, In "Therm Anal Food" p: 1-16.

Orlien, V., Anderson, M. L., Jouhtimaki, S., Risbo, J., & Skibsted, L. H. (2004). Effect of temperature and glassy states on the molecular mobility of solutes in frozen tuna muscle as studied by electron spin resonance spectroscopy with spin probe detection. *J Agric Food Chem.* 52: 2269–2276.

Pighin, D.G., Sancho, A.M., Gonzalez, C.B. (2008). Effect of salt addition on the thermal

- behavior of proteins of bovine meat from Argentina. *Meat Sci.* 79: 549–556.
- Shand, P.J., Sofos, J.N., and Schmidt, G.R. (1994). Differential scanning calorimetry of beef/kappa-carrageenan mixtures. *J Food Sci.* 59: 711–715.
- Sunooj, K.V., Radhakrishna, K., George, J., Bawa, A.S. (2009). Factors influencing the calorimetric determination of glass transition temperature in foods: A case study using chicken and mutton. *J Food Eng.* 91: 347–352.
- Tomšić, M., Prossnigg, F., Glatter, O., (2008) A thermoreversible double gel: Characterization of a methylcellulose and κ -carrageenan mixed system in water by SAXS, DSC and rheology, *J Colloid and Interface Sci.* 322: 41–50.
- Towle, G.A. (1973). Carrageenan. Ch. 5 *In Ind Gums, Polysaccharides and Their Derivatives.* 2nd Edition, Academic Press. New York p. 83–114.
- Voutila, L., Ruusunen, M., Puolanne, E. (2008). Comparison of the thermal characteristics of connective tissue in loose structured and normal structured porcine M. Semimembranosus. *Meat Sci.* 80: 1024–1030.
- Wright, D.J., Leach, I.B., and Wilding, P. (1977). Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituent proteins. *J. Sci. Food Agric.* 28: 557–564.
- Zhou, W.W., Meng, L., Li, X., Ma, L., Dai, R. (2010). Effect of the interaction between carrageenan, gellan gum and flaxseed gum on quality attributes of starch-free emulsion-type sausage. *J Muscle Foods.* 21: 255–267.