

Et ve Ürünlerinde Protein Oksidasyonu: Etki Mekanizması, Tespit Yöntemleri ve Etkileri

Haluk Ergezer ✉, Ramazan Gökçe, Şeyma Hozer, Tolga Akcan

Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli

Geliş Tarihi (Received): 10.01.2015, Kabul Tarihi (Accepted): 16.03.2015

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): hergezer@pau.edu.tr (H. Ergezer)*

☎ 0 258 296 33 39 📠 0 258 296 32 62

ÖZ

Biyolojik hastalıkların gelişimi üzerine okside proteinlerin etkileri medikal anlamda uzun yıllardır incelenmesine rağmen protein oksidasyonunun gıdalardaki etkileri ve etki mekanizmaları halen büyük ölçüde açıklığa kavuşturulmamıştır. Protein oksidasyonu, direkt olarak reaktif türlerle ya da dolaylı olarak ikincil oksidasyon ürünleri ile başlatılan kovalent protein modifikasyonu olarak tanımlanabilir. Et ve et ürünleri oksidatif reaksiyonlara karşı oldukça hassastırlar. Oksidatif modifikasyonlar sonucu proteinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri değişmekle birlikte, konformasyonel yapısı, çözünürlüğü, biyolojik yararlılığı, enzimatik aktiviteleri değişikliğe uğramaktadır. Bu derlemede protein oksidasyonunun mekanizması, tespit yöntemleri, et kalitesi ve sağlık üzerine etkileri ile et işlem basamaklarının protein oksidasyonu ile ilişkileri kısaca açıklanmaya çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Et, Et ürünü, Protein, Protein oksidasyonu, Yeni teknolojiler

Protein Oxidation in Meat and Meat Products: Its Importance, Mechanisms, Detection Methods and Effects on Quality

ABSTRACT

The effect of oxidized proteins on the development of biological diseases has been studied for a few decades but the effect and exact mechanisms of protein oxidation in food systems still remain largely unidentified. Protein oxidation has been defined as a covalent modification of proteins induced either directly by reactive species or indirectly by reactions with secondary by-products of oxidative stress. Meat and meat products are particularly susceptible to oxidative reactions. Oxidative modifications of proteins can change their physical and chemical properties, including their conformational structure, solubility, bioavailability and enzymatic activities. In this study, the mechanisms and consequences of protein oxidation in meat and meat products, its detection methods, its effects on meat quality, its possible effects on human health and its relationship with the meat processing stages are reviewed.

Keywords: Meat, Meat products, Protein, Protein oxidation, Emerging technologies

GİRİŞ

Et ve ürünleri yeterli ve dengeli beslenmede vazgeçilmez bir yere sahiptir. Biyolojik değeri yüksek proteinlere sahip olmanın yanı sıra, demir, selenyum, A vitamini, B12 ve folik asitin önemli kaynaklarıdır. Ayrıca protein açısından zengin, karbonhidrat açısından

fakir olduğundan “düşük glikemik indeksli” gıdalar arasında yer alması nedeniyle de obezite ve diyabetin önlenmesi için tüketilmesi önerilmektedir [1].

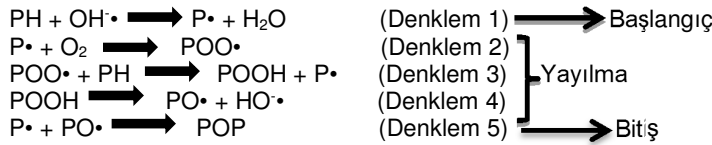
Et ve ürünlerinin piyasaya sunulmasında tüketici beklentileri oldukça önemlidir ve bu beklentiler kalite ile ilişkilidir. Önceleri gıdalarda kalite, üstün duyuşal

özellikler ve uzun raf ömrü ile garanti altına alınabiliyordu. Günümüzde ise kalite anlayışı içerisinde besleyicilik, sağlıklı ve güvenli olma gibi terimler daha çok yer almaktadır. Çiftlikten başlayarak tüketiciye ulaşana kadar olan süreçte kalitenin korunmasına yönelik çeşitli tedbirler alınmasına rağmen yine de ette çeşitli kalite kayıpları meydana gelebilmektedir. Kalite kayıplarına neden olan etmenlerin başında kesim öncesi stres oluşturan koşullar, kesim hijyeni, post-mortem mikrobiyal bulaşmalar, uygun olmayan koşullarda etin muhafaza edilmesi ve işleme sırasında dokusal bütünlüğün bozulmasına bağlı olarak gelişebilen kimyasal değişiklikler gelmektedir. Bileşim olarak önemli ölçüde protein, yağ, vitamin ve mineral içeren ette, kesim sonrası kaliteyi olumsuz yönde etkileyen en önemli kimyasal değişikliğin oksidasyon olduğu söylenebilir. Genellikle vitamin ve minerallerin oksidasyonu etin besleyici değerinde kayıplara yol açarken protein ve yağlarda gerçekleşen oksidasyon sonucu renk ve lezzet gibi duyuşal özelliklerde kayıplar, spesifik bazı proteinlerde fonksiyonel bozukluklar olmaktadır. Ayrıca oluşan son ürünler toksik etki gösterebilmektedir [2]. Lipid oksidasyonunun nasıl oluştuğuna ve geliştiğine dair mekanizmalar büyük ölçüde aydınlatılmış olmasına rağmen protein oksidasyonuna ilişkin mekanizmalar, halen yoğun olarak çalışılan konular arasında olup aydınlatılması gereken pek çok bilinmeyen mevcuttur. Bu çalışmada protein oksidasyonunun temel dinamikleri üzerinde durularak, konu ile ilgili temel bir bilgilendirme yapılması hedeflenmektedir.

PROTEİN OKSİDASYONU HAKKINDA GENEL BİLGİ

Protein oksidasyonunu üzerine ilk çalışmalara tip literatüründe rastlanmaktadır. Organizmada gerçekleşen

protein oksidasyonunu sonucu yaşlılığa bağlı olarak Alzheimer, diabet ve kronik böbrek rahatsızlıklarının tetiklenebileceği bildirilmiştir [3]. Gıda alanında bu konudaki ilk kapsamlı çalışma Xiong [4] tarafından derlenmiştir. Temel hatlarıyla protein oksidasyonu lipid oksidasyonuna benzer şekilde başlangıç, yayılma ve bitiş aşamalarından oluşan bir dizi zincirleme reaksiyon (otooksidasyon) ile seyredir. Protein oksidasyonunun başlayabilmesi için reaktif oksijen türleri (ROT) veya reaktif azot türlerinin (RAT) (Tablo 1) protein molekülünden bir H atomu uzaklaştırması gerekmektedir [5]. ROT ve RAT'lar biyolojik sistemlerde özellikle solunum sırasında mitokondriyal elektron taşıma sistemlerinin reaksiyon ürünleri olarak ortaya çıkmakta, dolayısıyla kesim sonrası hayvansal dokularda da doğal olarak bulunabilmektedir. Ayrıca bu bileşikler radyasyona (x ve gamma ışınları), endüstriyel kimyasallara, metallere, v.b. maruz kalma gibi dış etkenler sonucu da oluşabilirler [5]. Hayvan canlı iken mevcut antioksidan sistemler sayesinde oluşumları sınırlandırılabilen ROT'lar kesim sonrası antioksidan mekanizmanın ortadan kalkması sonucu dokularda hızla artarak oksidasyon reaksiyonlarını tetikleyebilmektedirler [2]. Protein molekülünden ROT ve RAT'lar aracılığı bir hidrojen atomunun ayrılmasıyla birlikte karbon merkezli bir radikal protein oluşmaktadır (P•)(Denklem 1). Oksijen varlığında bu radikal protein peroksi radikale (POO•) dönüşmektedir (Denklem 2). Peroksi radikali sağlam başka bir proteini hedef alarak buradan bir hidrojen atomunu kopartmak suretiyle hidroperoksit (POOH) oluşumuna neden olmakta ve böylece zincir reaksiyonları devam etmektedir (Denklem 3). Hidroperoksitler kararsız olup hızla bozularak alkoksi (PO•) ve hidroksi radikale (HO•) dönüşürler (Denklem 4). Son aşamada protein, alkoksi ve peroksi radikalleri birleşerek radikal özellik göstermeyen protein karbonilleri gibi (Denklem 5) bileşiklere dönüşürler [6].



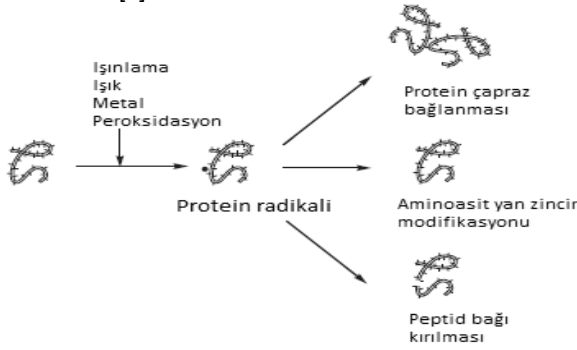
Tablo:1 Protein oksidasyonuna neden olabilen ROT ve RAT'leri [2]

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)		Reaktif Azot Türleri (RAT)	
Radikal Özellik Gösterenler	Radikal Özellik Göstermeyenler	Radikal Özellik Gösterenler	Radikal Özellik Göstermeyenler
O ₂ ⁻ Süperoksit	H ₂ O ₂ Hidrojen peroksit	NO• Nitrik oksit	ONOO• Peroksinitrit
OH• Hidroksil	HOCl• Hipoklorik asit	NO ₂ Nitrojen dioksit	HNO ₂ Nitroz asit
RO ₂ • Peroksil	O ₃ Ozon		NO ₂ Cl Nitril klorit
RO• Alkoksil	¹ O ₂ Singlet oksijen		
HO ₂ • Hidroperoksil	ONOO• Peroksinitrit		

Lipid oksidasyonunda hedef molekül doymamış yağ asitleri olup ROT'lar çift bağ içeren karbonlara bitişik karbon molekülünden hidrojen atomunu ayırarak başlangıç reaksiyonlarını tetiklerler ve lipid oksidasyonu tüm doymamış yağ asitlerinde aynı şekilde gerçekleşir [7]. Ancak protein oksidasyonunda ROT ve RAT'ların hedefinde aminoasitlerin hem merkezi karbon atomu hem de yan zincirleri bulunmaktadır. Dolayısıyla protein oksidasyonu reaksiyonları lipid oksidasyonu

reaksiyonlarından biraz daha karmaşıktır. Protein oksidasyonu sonucu peptid bağlarında kopmalar, aminoasit yan zincirinde modifikasyonlar ve farklı proteinlerin birbirine çapraz bağlanmaları söz konusu olabilir (Şekil 1). Aminoasit yan zincir modifikasyonu sonucu protein karbonilleri ve protein hidroperoksitleri oluşur ki protein oksidasyonunun kantitatif olarak belirlenmesinde protein karbonilleri en yaygın kullanılan belirteçlerdir. Bununla birlikte protein çapraz bağlanmaları

sonucunda da disülfid ve ditirozin oluşumları ortaya çıkmaktadır [4].



Şekil 1. Protein oksidasyonunun en yaygın sonuçları [5].

Etin fonksiyonel proteinlerinden olan myofibriller proteinler oksidasyona en yatkın grubu oluşturmaktadır. Bunlar içerisinde ilk sırayı myosin alırken onu troponin T takip eder [8]. Aminoasitler içerisinde sistein, tirozin, fenilalanin, triptofan, histidin, prolin, arjinin, lisin ve metiyoninin protein oksidasyonuna daha yatkın olduğu bildirilmektedir [9]. Bu yüzden protein oksidasyonunun gelişimi et veya ürününün içerdiği aminoasit bileşimine ve başlangıç reaksiyonlarının ne şekilde katalizlendiğine bağlıdır. Örneğin arjinin, lisin ve prolin aminoasitlerinde başlangıç reaksiyonu metal kataliziyle gerçekleşmekte ve sonuçta bunlarda karbonil bileşikler oluşmaktadır. Bu bağlamda ete rengini veren myoglobin pigmentindeki mevcut demir belirli koşullarda prooksidan etki göstermektedir. Özellikle myoglobinin metmyoglobine dönüşümü, ayrıca ısıl işlem sonucu heme formundaki demirden heme olmayan forma dönüşüm protein oksidasyonunu tetiklemektedir. Sistein ve metiyonin aminoasitlerinde ise çapraz bağlanmalar sonucunda disülfid bağları oluşmaktadır [5].

PROTEİN OKSİDASYONUNUN GELİŞİMİ

Protein İskeletinin ve Yan Zincirlerinin ROT'leri ile Oksidasyonu

Radikal özellik göstermeyen ROT'lerinin protein iskeleti üzerine okside edici etkisi oldukça yavaştır. Ancak hidroksil radikali (OH⁻) çok etkili bir oksidan moleküldür [10]. Protein iskeleti üzerindeki α-karbonundan hidroksil radikali ile tetiklenme sonucu hidrojen ayrılmasının ardından oluşan radikal protein molekülü oksijenle reaksiyona girerek alkilperoksil radikalleri oluşur. Bu radikaller daha sonra hidroperoksil radikali ile birleşerek hidroperoksitleri ya da iminleri meydana getirirler. İminlerin hidrolizi sonucu ise peptid bağları kırılır ve son ürün olarak da amidler ile keto açıl bileşikler ortaya çıkar [11]. Buna ilave olarak protein iskeleti üzerinde beta kırılması yoluyla karbonil bileşikler de oluşabilmektedir [12].

Kas proteinlerinin okside olması ile aminoasit yan zincirleri de değişime uğramaktadır. Bu değişimler içerisinde kükürtlü aminoasitlerden sülfidril gruplarının uzaklaşması ve bir aminoasidin bir diğerine dönüşümü örnek gösterilebilir. Sisteinin -SH grubu oksidasyona oldukça yatkındır ve -SH gruplarından değişik

mekanizmalarla oluşan tiyil radikali (-S[•]) proteinlerdeki disülfid bağlarının oluşumuna öncülük etmektedir [13]. Tirozin gibi aromatik aminoasitlerin oksidasyonu için radyasyon, peroksinitrit ve lipid hidroperoksitleri gerekli olup sonuçta ditirozin molekülleri oluşmaktadır [14].

Proteinlerin RAT'leri ile Oksidasyonu

Hayvansal dokularda arjininin L-sitrülline katalizlenmesinde görevli olan nitrik oksit sentaz (NOS), aynı zamanda RAT'lerinden nitrik oksidin de (NO[•]) oluşumundan sorumludur. Nitrik oksit, süperoksit ile reaksiyona girerek peroksinitrit molekülünü oluşturur ve bu molekül metiyonin, triptofan ve fenilalanini kolaylıkla okside eder. Örneğin metiyoninin okside edilerek sülfoksit ve etilene kadar indirgenmesinden peroksinitrit sorumludur [15].

Proteinlerin Karbonil Türevlerinin Oluşumu

Karbonil oluşumu protein oksidasyonunda gözlenen en yaygın hasar çeşidi olup bunun için 4 temel yol bulunmaktadır:

- Protein iskeletinin alfa amidleşme ya da beta kırılması yoluyla ayrışması
- Lipid peroksidasyon ürünlerinin histidin, sistein ve lisine bağlanması
- Arjinin, lisin, prolin ve treonin yan zincirlerinin direkt oksidasyonu
- Lisin ile reaksiyona girdikten sonra indirgen şekerler ve bunların oksidasyon ürünleri tarafından oluşturulan reaktif karbonil türevlerinin (ketoaminler, ketoaldehidler ve deoksozonlar) eklenmesi [2].

Karbonil türevlerinin oluşumu sonucu proteinlerin jelatinizasyon ve emülsifikasyon gibi fonksiyonel özelliklerinin bozulmasının yanı sıra besleyici değerinde de önemli kayıplar meydana gelmektedir [16].

Protein Çapraz Bağlarının Oluşumu

Protein oksidasyonu sonucu diğer önemli bir değişim de kovalent ve kovalent olmayan bağlanma sonucu kümelenme oluşumudur. Kovalent olmayan kümelenmeler hidrojen bağlarıyla gelişerek proteinler ve okside lipidler arasında kompleks oluşumuna neden olurlar. Kovalent kümelenmeler ise iki aminoasit arasında gelişmekte ve protein içi ve protein arası çapraz bağların oluşumuna neden olmaktadır [9]. Özellikle myosinin yapısında bulunan tirozinin oksidasyonu sonucu ditirozin bileşikler oluşmakta ve bunların miktarı tespit edilmektedir.

Lipid ve Protein Oksidasyonu İlişkisi

Lipid ve proteinlerin bir arada bulunduğu kas dokuda lipid oksidasyonu ile protein oksidasyonu arasında çeşitli etkileşimler vardır. Öncelikle myofibriller proteinlerde bulunan bazı kükürtlü aminoasitlerin lipid oksidasyonunu bir nevi antioksidan etki göstererek engellemesi söz konusudur. Ancak lipid oksidasyon ürünlerinin proteinlerin antioksidan kapasitesini geçmeleri halinde

protein oksidasyonu teşvik edilmektedir. Kas dokuda protein oksidasyonundan daha hızlı gelişen lipid oksidasyonunun ortaya çıkarttığı lipid radikalleri (peroksi radikalleri), hidroperoksitler ve lipid oksidasyonu son ürünleri protein oksidasyonunu bir kez daha tetikleyerek reaksiyonun hızla yayılmasına yol açmaktadır. Böylece lipitlere paralel olarak protein yapıları da zarar görmektedir [16, 17].

PROTEİN OKSİDASYON ÜRÜNLERİNİN TESPİTİ

Et ve ürünlerinde gerçekleşen protein oksidasyonu son ürünlerinin tespitinde değişik yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan yöntem karbonil miktarı tayinidir. Bu yöntemde protein oksidasyonu sonucu oluşan karbonil bileşikler 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile türevlendirilmekte ve ardından oluşan hidrazon bileşikler spektrofotometrik olarak tespit edilmektedir [18, 19]. Ancak karboniller lipid oksidasyonu ve Maillard reaksiyonu sonucu da oluşabildiklerinden zaman zaman protein oksidasyon seviyesi yanlış hesaplanabilmektedir. Bu nedenle Estévez [20] α - aminoadipik semialdehit (AAS) ve γ - glutamik semialdehit (GGG) adlı bileşikler tanımlayarak spesifik olarak protein oksidasyonunu tespit etmeye çalışmışlardır. AAS lizin ve GGS de arjinin ve prolinin oksidasyonu sonucu oluşmakta ve HPLC-MS sistemleri ile tespit edilmektedir. Bu yöntemlere ilaveten sistein ve metiyoninin sülfidril gruplarındaki kayıpların Ellman ayracı ile spektrofotometrik olarak tespit edildiği başka bir yöntem de kullanılmaktadır [21]. Ayrıca fluerosans özellik gösteren triptofan gibi aminoasitlerdeki kayıplar fluerosans spektroskopi tekniği ile [22] ve oksidasyon sonucu oluşan disülfid ve ditrozin bağlarının varlığı da elektroforetik yöntemlerle belirlenebilmektedir [5].

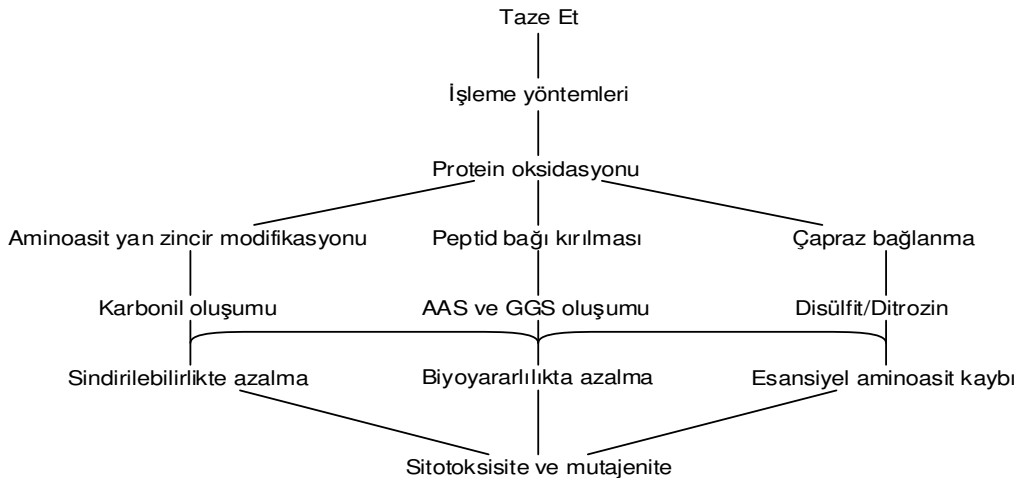
Protein oksidasyonunun tespitine yönelik yukarıda sayılan yöntemlerin hepsi, spesifik bileşiklerin belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Bu nedenle oksidasyonun seyrini takip edebilmek için bu yöntemlerden biri yerine birkaçının kullanılarak değerlendirme yapılmasının daha doğru olacağı bildirilmektedir [6].

PROTEİN OKSİDASYONUNUN ET KALİTESİ ve BESLEYİCİ DEĞER ÜZERİNE ETKİSİ

Protein oksidasyonu pH, sıcaklık, su aktivitesi ve ortamda bulunan katalizör ve inhibitör maddeler gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Buna ilaveten proteinlerin 3 boyutlu yapıları ve aminoasit kompozisyonları oksidasyona karşı eğilimi etkilemektedir [23]. Protein oksidasyonu sonucu proteinlerin fonksiyonel özelliklerinde, ürün rengi ve tekstüründe değişimler oluşmaktadır [24]. Oksidasyon sonucu meydana gelen çapraz disülfid bağları polimer yapıların oluşmasına neden olmakta ve proteinlerin bu şekilde ısı stabilitesinde ve çözünürlüklerinde azalmalar olmaktadır. Yine oksidasyon sonucu karbonil miktarında, floresans özellikte ve proteolize karşı hassasiyette artış olurken, amino asit kompozisyonunda değişimler olmaktadır [18, 25] (Şekil 2).

Metiyonin, sistein, lizin, treonin ve arjinin aminoasitleri protein oksidasyonuna en hassas gruplar olup okside olmaları proteinlerin biyolojik değerini ve sindirilebilirliğini azaltmakta ve besleyici değerde kayıplara neden olmaktadır. Ayrıca ROT ile okside olan proteinlerin yapısı bozulduğu için bunları sindiren enzimler çalışmayacak ve sindirilebilirlik azalacaktır. Hatta ROT enzimlerin protein kısmını da okside ederek dolaylı yoldan sindirilebilirliği azaltmaktadır [6].

Protein kalitesi, vücutta belirli metabolik fonksiyonların gerçekleştirilebilme kabiliyeti olarak tarif edilmekle birlikte kalite, proteinin içerdiği aminoasit bileşimi, konformasyonel yapı, konsantrasyon ve biyoyararlılığa bağlı olarak değişir [26]. Dolayısıyla okside olmuş proteinlerin kalitesi azalmakta ve bu türden proteinlerin tüketimiyle gıdaların besleyici değerinde önemli kayıplar oluşmaktadır. Normal fizyolojik koşullarda oksidatif zararlanma sonucu konformasyonel yapıda meydana gelen değişiklikler Alzheimer, diabetes ve kronik böbrek bozuklukları ile ilişkilendirilmektedir [27]. Diğer taraftan okside proteinler karsinojenik bazı bileşikler oluşturarak patojeniteye de neden olmaktadır [23].



Şekil 2. Protein oksidasyonunun et kalitesi ve sağlık üzerine etkileri [6].

ET ÜRÜNLERİ ÜRETİMİNDE KULLANILAN YÖNTEMLERİN PROTEİN OKSİDASYONU İLE İLİŞKİSİ

Olgunlaştırma ve Fermantasyon

Literatüre göre 10 günlük bir olgunlaştırma işlemi sonucunda ette bulunan myofibriler proteinlerin yaklaşık %25-35'lik kısmının okside olduğu ve olgunlaştırılan etlerde karbonil oranının arttığı ve sülfidril gruplarının azaldığı belirtilmektedir [28].

Fermente et ürünlerinde, lipoliz sonucu serbest yağ asitlerinde ve proteoliz sonucu serbest aminoasitlerde artış, yüksek iyonik şiddet ve asitliğin artışı nedeniyle oksidasyon riski artmaktadır [29].

Kürleme

Tuz kas hücrelerinin bütünlüğünü bozmakta, antioksidan etkili enzimlerin etkinliğini azaltmakta ve +3 değerlikli demirin oluşumunu hızlandırarak oksidasyonu teşvik etmektedir. Tuzun özellikle et yağları üzerinde prooksidan etkili olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra tuzun bileşimindeki safsızlıkların da prooksidan etkili olduğu bildirilmektedir [30]. Taze etin rengi olan oksimiyoglobinde mevcut Ferroz demir (+2) tuz ilavesiyle Fenton reaksiyonları aracılığı ile kolayca yükseltgenerek ferrik demire (+3) dönüşür. Oluşan ferrik demir de öncelikle lipid, ardından protein oksidasyonunu katalizlemektedir [31].

Kürlemede temel bileşen olan nitritin antioksidan etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca kürlemede kullanılan yardımcı bileşen askorbik asit de antioksidandır. Buna rağmen kürleme ortamındaki kalıntı nitrit nedeniyle oluşabilecek RAT'lerin protein oksidasyonunu tetiklediği bildirilmektedir [32].

Boyut Küçültme

Pek çok et ürünü doğranmak, kıyılmak ve dilimlenmek suretiyle oksijen ile temasa geçmekte ve oksidasyona yatkın hale gelmektedir. Boyut küçültme işlemi ile proteinlerin yüzey alanı artmakta, hücrel bütünlük bozulmakta, doğal antioksidatif koruma sistemi yıpranmakta ve dolayısıyla pek çok protein moleküler oksijenin de etkisiyle ROT'inin saldırısına açık konuma gelmektedir [26].

Donmuş Muhafaza

Güncel çalışmalar donmuş muhafaza sırasında protein oksidasyonunun artma eğiliminde olduğunu göstermektedir [33]. Donmuş ette mevcut sıvı haldeki hücre içi konsantre suyun etrafındaki protein molekülleri prooksidan etkisi bulunan katalitik demir ile kolayca okside olabilmektedir [34]. Donmuş muhafaza sırasında protein oksidasyonunun derecesi hayvanın türü, etin boyutu, olgunlaşma durumu, yağ miktarı, ambalaj durumu, ortam sıcaklığı ile depolama süresine bağlı olarak değişiklik göstermektedir [35]. Diğer taraftan donma sırasında oluşan buz kristalleri ile zarara

uğrayan myofibriler proteinler kolayca okside olmakta ve sonuçta etin su tutma kapasitesi, gevreklik ve sululuk gibi kalite özellikleri olumsuz etkilenmektedir [36].

Isıl İşlem

Isıl işlemin etkisiyle etin bileşiminde bulunan ve doğal olarak oksidasyona karşı direnç gösteren antioksidan etkili glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimler hızla bozunurlar ve et kolayca okside olabilir [37]. Sıcaklığın 60°C'nin üzerine çıkmasıyla birlikte porfirin halkası bozulmaya başlamakta ve heme demir heme olmayan demire dönüşerek lipid ve protein oksidasyonu teşvik edilmektedir. Sıcaklık artışı ve ısıl işlem süresinin uzaması protein denatürasyonunun artmasına paralel olarak protein oksidasyonu riskinin de artmasına neden olmaktadır [38].

Yüksek Basınç Uygulaması (YBU) ve Işınlama

YBU ile katalitik etkili heme olmayan demir miktarında artış gözlenmektedir [39]. Aynı zamanda YBU ile lipid oksidasyonu teşvik edilmekte ve lipid oksidasyonu ürünlerinin de protein oksidasyonunu tetiklediği düşünülmektedir [16]. Özellikle 600 MPa üzerindeki basınç uygulamalarının protein oksidasyonunu arttırdığı bildirilmektedir [40].

Işınlama dozunun 10 kGy'in üzerine çıkılmadığı durumlarda gıdalarda toksikolojik bir etki oluşmadığı gibi besleyici özellikte de önemli bir kayıp oluşmamaktadır. Ancak proteinlerin tersiyer ve sekonder yapısı bozulduğundan oksidasyona hassas hale gelmektedir. Ayrıca ışınlama ile etin yapısında bulunan su radyolize olarak serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır. Aromatik halkalı kükürtlü aminoasitler ışınlamaya en hassas gruplardır [41].

Ambalajlama

Temel amacı raf ömrünü uzatmak ve tüketici memnuniyetini sağlamak olan ambalajlamanın farklı şekillerinin protein oksidasyonu üzerine etkileri farklıdır. Özellikle yüksek konsantrasyonda oksijen içeren modifiye atmosfer ambalajlamalarında oksidasyon teşvik edilirken, %100 azot atmosferinde ambalajlama ya da vakum ambalajlamada protein oksidasyonu sınırlandırılabilir [42].

SONUÇ

Oksidasyon reaksiyonları biyolojik sistemlerde ve gıda bileşenlerinde meydana gelerek olumlu ya da olumsuz etkiler oluşturabilmektedirler. Kas dokunun önemli bileşenlerinden biri olan lipidlerin oksidasyonu uzun yıllardır üzerinde detaylı çalışmaların yapıldığı bir alan olup lipid oksidasyonu ile ilgili pek çok bilimsel yayın bulunmaktadır. Ancak etin bileşiminde lipidlerden daha önemli olan proteinler üzerindeki oksidasyon reaksiyonlarına yönelik çalışmalar görece daha yenidir. Protein oksidasyonu daha öncelikle medikal çalışmalara konu olmuş ve bu alanda yapılan çalışmalar daha çok yaşlılıkla ve bununla ilgili hastalıklar üzerine yoğunlaşmıştır. Günümüzde protein oksidasyonunun et

ve ürünlerinde hangi mekanizmalarla gerçekleştiği, hangi yöntemlerle tespit edilebildiği ve kalite üzerine etkileri aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Halen protein oksidasyonunun tespitine yönelik kolay, hızlı ve güvenilir metotların geliştirilememiş olması, işlem koşullarının ve oksidasyon ürünlerinin sağlık üzerine olan etkilerinin tam olarak anlaşılmasına yol açmaktadır. Dolayısıyla protein oksidasyonu üzerinde çalışma yapacak araştırmacıların aydınlatılmayan konulara eğilmeleri ve özellikle protein oksidasyonunun önlenmesine yönelik stratejilere ağırlık vermelerinin yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Biesalski, H.K., 2002. Meat and cancer: Meat as a component of a healthy diet. *European Journal of Clinical Nutrition* 56(Suppl 1): 2-11.
- [2] Zhang, W., Xiao, S., Ahn, D.U., 2013. Protein oxidation: Basic principles and implications for meat quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53(11): 1191-201.
- [3] Berlett, B.S., Stadtman, E.R., 1997. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry* 272(33): 20313-20316.
- [4] Xiong, Y.L., 2000. Protein Oxidation and Implications for Muscle Food Quality. Antioxidants in muscle foods: Nutritional strategies to improve quality, Edited by E, Decker, C, Faustman, and C. J., Lopez-Bote, John Wiley and Sons, New York, USA, 85-111.
- [5] Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C.P., Estévez, M., 2011. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research* 55(1): 83-95.
- [6] Soladoye, O.P., Juárez, M.L., Aalhus, J.L., Shand, P., Estévez, M., 2015. Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14(2): 106-122.
- [7] Johnson, D.R., Decker, E.A., 2014. The role of oxygen in lipid oxidation reactions: A review. *Annual Review of Food Science and Technology* 6(1): 171-190.
- [8] Martinaud, A., Mercier, Y., Marinova, P., Tassy, C., Gatellier, P., Renner, M., 1997. Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(7): 2481-2487.
- [9] Davies, M.J. and Dean, R.T., 1997. Radical-Mediated Protein Oxidation: From Chemistry to Medicine, Oxford University Press, UK, 443 p.
- [10] Stadtman, E.R., 2001. Protein oxidation in aging and age-related diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences* 928: 22-38.
- [11] Stadtman, E.R., 1993. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. *Annual Review of Biochemistry* 62: 797-821.
- [12] Headlam, H.A., Davies, M.J., 2004. Markers of protein oxidation: Different oxidants give rise to variable yields of bound and released carbonyl products. *Free Radical Biology and Medicine* 36(9): 1175-1184.
- [13] Carballal, S., Alvarez, B., Turell, L., Botti, H., Freeman, A.B., Radi, R., 2006. Sulfenic acid in human serum albumin. *Amino Acids* 32(4): 543-551.
- [14] DiMarco, T., Giulivi, C., 2007. Current analytical methods for the detection of dityrosine, a biomarker of oxidative stress, in biological samples. *Mass Spectrometry Reviews* 26(1): 108-120.
- [15] Pryor, W.A., Jin, X., Squadrito, G.L., 1994. One and two electron oxidations of methionine by peroxyxynitrite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91(November): 11173-11177.
- [16] Estévez, M., 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science* 89(3): 259-279.
- [17] Stadtman, E.R., Oliver, C.N., 1991. Metal-catalyzed oxidation of proteins. Physiological consequences. *Journal of Biological Chemistry* 266(4): 2005-2008.
- [18] Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., Stadtman, E.R., 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* 186: 464-478.
- [19] Shacter, E., 2000. Protein oxidative damage. *Methods in Enzymology* 319: 428-436.
- [20] Estévez, M., Ollilainen, V., Heinonen, M., 2009. Analysis of protein oxidation markers α -aminoaldehyde and γ -glutamic semialdehydes in food proteins using liquid chromatography (LC)-electrospray ionization (ESI)-multistage tandem mass spectrometry (MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(9): 3901-3910.
- [21] Hawkins, C.L., Morgan, P.E., Davies M.J., 2009. Quantification of protein modification by oxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 46(8): 965-988.
- [22] Heinonen, M., Reibn, D., Satue-Garcia, M.T., Huang, S., German, J.B., Frankel, E.N., 1998. Effect of protein on the antioxidant activity of phenolic compounds in a lecithin-liposome oxidation system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(3): 917-922.
- [23] Stadtman, R.E., Levine, L.R., 2003. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 25(3): 207-218.
- [24] Estévez, M., Ventanas, S., Cava, R., 2007. Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chemistry* 100(1): 55-63.
- [25] Meucci, E., Mordente, A., Martorana, G.E., 1991. Metal-catalyzed oxidation of human serum-albumin conformational and functional changes implications in protein aging. *Journal of Biological Chemistry* 266(8): 4692-4699.
- [26] Liu, G., Xiong, Y.L., 2000. Electrophoretic pattern, thermal denaturation, and in vitro digestibility of oxidized myosin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:624-630
- [27] Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., Milzani, A., 2003. Protein carbonylation in human diseases. *Trends in Molecular Medicine* 9(4): 169-176.

- [28] Sante-Lhoutellier, V., Aubry, L., Gatellier P., 2007. Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(13): 5343-5348.
- [29] Wójciak, K.M., Dolatowski, Z.J., 2012. Oxidative stability of fermented meat products. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 11(2): 99-109.
- [30] Rhee, K.S., Ziprin, Y.A., 2001. Pro-oxidative effects of NaCl in microbial growth-controlled and uncontrolled beef and chicken. *Meat Science* 57(1): 105-112.
- [31] Estévez, M., Heinonen M., 2010. Effect of phenolic compounds on the formation of α -amino adipic and γ -glutamic semialdehydes from myofibrillar proteins oxidized by copper, iron, and myoglobin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(7): 4448-4455.
- [32] Skibsted, L.H., 2011. Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. *Nitric Oxide* 24(4): 176-183.
- [33] Utrera, M., Parra, V., Estévez, M., 2014. Protein oxidation during frozen storage and subsequent processing of different beef muscles. *Meat Science* 96(2): 812-820.
- [34] Utrera, M., Estévez, M., 2013. Oxidative damage to poultry, pork, and beef during frozen storage through the analysis of novel protein oxidation markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(33): 7987-7993.
- [35] Utrera, M., Morcuende, D., Estévez, M., 2014. Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties. *LWT - Food Science and Technology* 56(1): 62-68.
- [36] Estévez, M., Ventanas, S., Heinonen, M., Puolanne, E., 2011. Protein carbonylation and water-holding capacity of pork subjected to frozen storage: Effect of muscle type, premincing and packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(10): 5435-5443.
- [37] Hoac, T., Daun, C., Trafikowska, U., Zackrisson, J., Åkesson, B., 2006. Influence of heat treatment on lipid oxidation and glutathione peroxidase activity in chicken and duck meat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7(1-2): 88-93.
- [38] Promeprat, A., Le Louët, L., Kondjoyan, A., Astruc, T., Santé-Lhoutellier, V., Gatellier, P., Daudin, J.D., 2011. Combined effect of meat composition and heating parameters on the physicochemical state of proteins. *Procedia Food Science* 1(0): 1118-1125.
- [39] Cheah, P.B., Ledward, D.A., 1996. High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. *Meat Science* 43(2): 123-134.
- [40] Jung, S., Nam, K.C., Ahn, D.U., Kim, H.J., Jo, C., 2013. Effect of phosvitin on lipid and protein oxidation in ground beef treated with high hydrostatic pressure. *Meat Science* 95(1): 8-13.
- [41] Giroux, M., Lacroix, M., 1998. Nutritional adequacy of irradiated meat - a review. *Food Research International* 31(4): 257-264.
- [42] Lund, M.N., Hviid, M.S., Skibsted L.H., 2007. The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. *Meat Science* 76(2): 226-233.
-