

FARKLI HAYVAN TÜRLERİNE AİT KARKAS ETLERİNİN VE MEKANİK SIYRILMIŞ ETLERİN, KİMYASAL YAPILARINA VE SDS-PAGE YARDIMIYLA SAPTANAN PROTEİN PROFİLLERİNE GÖRE BELİRLENMESİ*

DETERMINATION OF CARCASS MEAT AND MECHANICALLY DEBONED MEAT FROM DIFFERENT ANIMAL SPECIES TO CHEMICAL STRUCTURE AND PROTEIN PROFILE DETERMINED BY MEANS OF SDS-PAGE

Ayça YARALI¹, Aydın ÖZTAN

Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

ÖZET: Bu çalışmada farklı hayvan karkas etleri ve farklı mekanik sıyrılmış etlerinin kimyasal bileşimi, atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile mineral madde bileşimi ve SDS-PAGE ile protein bant dizilimi incelenmiştir. Bu yöntemler ile tür ayrımı ve MDM ayrımı yapılmıştır. Özellikle MDM örneklerinin protein, yağ ve kalsiyum içerikleri diğer karkas etlerinden önemli ölçüde farklı olarak bulunmuştur. Karkas örneklerinin sodyum miktarının MDM örnekleriyle karşılaştırıldığında yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, deneye tabi tutulan makro elementler içinde magnezyum içeriğinin düşük değerlerde olduğu gözlenmiştir. SDS-PAGE bant diziliminde myofibriler proteinler ve sarkoplazmik proteinler incelenmiştir. Elektoroforez jellerinin görüntü analizi ve nicel analizi için densitometre cihazı (The Imager BL, Biolab) UviTec software kullanılmıştır.

Anahtar kelimeler: Et, protein, mineral, SDS-PAGE, atomik absorpsiyon spektrofotometresi

ABSTRACT: In this study, chemical composition, mineral matter composition with atomic absorption spectrophotometry and protein profile with SDS-Page belongs to different animal carcass meats and different mechanically deboned meat (MDM) was determined. By means of this method, animal species and MDM was analyse and compare. It is found that especially protein, fat and Ca content of MDM samples are different from carcass meats. It is observe that Na amount of carcass samples are more than MDM samples. Also, in macro element to be tested Mg composition is small value. In SDS-Page protein profile, analysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins. For image and nicel analysis of electrophoresis gels was used the densitometric equipment (The Imager BL, Biolab) and UviTec software.

Keywords: Meat, protein, mineral, SDS-PAGE, atomic absorption spectrophotometry

GİRİŞ

Mekanik sıyrılmış et (MDM), kanatlı karkasından veya hayvan kemiklerinden basınç yoluyla veya kırma kuvveti ile ayrılan kalıntı et olarak tanımlanmaktadır (Day ve Brown 2001). Et endüstrisinde fonksiyonel özellikleri ve ekonomik olması nedenleriyle MDM kullanımı son yıllarda artış göstermiştir. Özellikle kanatlı MDM'leri sosis, fermente sucuk ve tavuk ürünlerinde önemli ölçüde kullanılmaktadır. Ayrıca, piyasadaki karışım halindeki ürünlerde karıştırılan hayvan türü ve oranı önem taşımaktadır. 10.02.2000 tarihinde yürürlüğe giren 2000/4 sayılı et ürünleri tebliği ile 2000/5 sayılı taze et, hazırlanmış et ve hazırlanmış et karışımları tebliği taze et, kıyım, karışım ürünler ve et ürünlerinin etiketinde yazılı olan türden üretilmesi ve eğer karışım yapılacak ise bu karışımın okunur punto ile etikette yer alması hükmünü getirmiştir (Anonim 2000 a, b).

* Türkiye 8. Gıda Kongresinde sunulmuştur.

¹ E-posta: aycaya@hacettepe.edu.tr

MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırma materyalini BANVİT A.Ş.-Bandırma'dan alınan 9 farklı hayvan karkas etleri (piliç but, piliç göğüs, hindi but, hindi göğüs, dana gerdan, dana antrikot, dana döş, dana bonfile, dana kürek) ve 5 farklı mekanik sıyrılmış et (piliç kafes MDM, piliç göğüs MDM, hindi but MDM, hindi göğüs MDM, dana MDM) olmak üzere toplam 14 adet et örneği oluşturmuştur.

Kimyasal analizler için et örnekleri homojen hale getirildikten sonra sırasıyla rutubet, yağ, protein, kül miktarı Vural ve Öztan (1996) ve mineral madde bileşimi tayini AOAC (Anonymous, 1995)'e göre yapılmıştır.

SDS-PAGE'de kullanılmak üzere protein örnekleri Claeys ve ark. (1995) tarafından uygulanan yöntem modifiye edilerek hazırlanmıştır. 2,5 g kıyılmış et 25 ml tampon çözelti 1 (0,25 M sukroz, 0,05 M Tris, 1 mM EDTA, pH 7,6 3°C) ile homojenize edildikten sonra 5000 x g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Dökelti I alınıp çökelti 25 ml tampon 2 çözelti (0,05 M Tris, 1 mM EDTA, pH 7,6, 3°C) ile tekrar 5000 x g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Dökelti II alınıp çökelti 25 ml 0,15 M KCl çözeltisi (3°C) ile 5000 x g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Dökelti III, 1 ve 2 ile birlikte elektroforez uygulanmasına kadar -18°C'de saklanmıştır. İzole myofibrillerden 2,4 g alınarak 30 ml örnek tamponunda (0,01 M imidazol, %2 SDS, %2 2-merkaptotanol, pH 7,0) bir gece boyunca bekletilmiştir. Bağ dokuyu ayırmak için filtre kâğıdı ile süzme yapılmış ve filtrat elektroforez uygulanmasına kadar -18°C'de saklanmıştır. Protein profilinin belirlenmesi amacıyla SDS-PAGE (Laemmli 1970) yapılmıştır. Bu sistemde, proteinler SDS içeren tampon ve 2- merkaptotanol gibi bir tiol indirgeme ajanı içinde ısı işlemi ile denatüre edilirler. Polipeptidler molekül ağırlıkları ile orantılı olarak çubuk benzeri bir şekil alırlar. SDS, proteinleri kaplayıp yük/kütle oranını uniform hale getirmektedir. Böylece, SDS - PAGE'de ayırma molekül büyüklüğüne göre yapılmaktadır.

SONUÇ ve TARTIŞMA

1. Kimyasal analiz sonuçları

Kullanılan farklı karkas etlerinin ve MDM'lere ait kimyasal içerik analiz sonuçları Çizelge 1 ve Çizelge 2'de verilmiştir. Mekanik sıyrılmış et kaynaklarının işlenmesindeki farklılıklar protein ve yağ içeriğinde farklılıklara neden olmaktadır (Satterlee et al. 1971).

Çizelge 1. Et örneklerine ait kimyasal madde içerikleri (%)^{a,b}

Et Türü	Rutubet	Yağ	Protein ^a	Kül
Piliç But	75,99	3,35	18,83	0,97
Piliç Göğüs	71,52	2,15	23,52	1,42
Piliç Kafes MDM	68,86	14,69	14,23	1,03
Piliç Boyun MDM	70,15	9,42	17,51	1,03
Hindi But	69,29	2,64	25,22	0,95
Hindi Göğüs	70,64	2,16	24,96	1,14
Hindi Kafes MDM	57,60	23,95	13,77	1,25
Hindi Boyun MDM	72,40	10,80	14,85	0,89
Dana Bonfile	75,37	2,25	19,93	1,15
Dana Antrikot	72,52	2,59	21,54	1,39
Dana Gerdan	71,53	6,59	19,85	0,88
Dana Döş	71,41	6,92	20,31	0,93
Dana Kürek	72,44	2,25	18,93	1,15
Dana MDM	49,25	30,08	13,22	4,22

a: (N x 6.25)

b: İki paralel denemenin ortalaması

Çizelge 2. Et örneklerine ait mineral madde miktarları (ppm)^a

Et Türü	Ca	Mg	K	Na	Cu	Fe
Piliç But	152	209	1163	1264	74	40
Piliç Göğüs	138	249	1820	1006	61	35
Piliç Kafes MDM	1070	153	750	664	89	47
Piliç Boyun MDM	515	164	198	4035	87	41
Hindi But	149	166	962	2704	76	36
Hindi Göğüs	181	227	1675	2228	62	35
Hindi Kafes MDM	691	135	383	1724	60	39
Hindi Boyun MDM	355	131	1060	3607	53	43
Dana Bonfile	149	204	1292	1153	76	43
Dana Antrikot	150	208	791	1818	87	38
Dana Gerdan	233	173	612	1262	62	49
Dana Döş	155	174	450	1315	62	47
Dana Kürek	148	206	706	1950	67	42
Dana MDM	13649	242	471	1135	46	46

a: Değerler iki paralel denemenin ortalamasıdır.

MDM örneklerinin % protein miktarı, diğer örnekler ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Yağ içerikleri ise oldukça yüksek bulunmuştur. Mekanik sıyırma işlemi sırasında ürüne deri katılmış ise, yağ içeriği azalırken nem içeriği artış göstermektedir. Ayrıca, nem içeriğindeki farklılıklar kemik iliğinden gelebilmektedir (Al-Najdawi ve Abdullah 2002). Bu durum özellikle %35,08'lik yağ oranı ile Dana MDM'de gözlenmiştir. Dana MDM'de gözlenen yüksek yağ içeriği, mekanik sıyırma işleminin dana karkasının bacak bölgesinde yapılmış olabileceğini göstermektedir. Örneklerin kül miktarları karşılaştırıldığında, Dana MDM dışında diğer örneklerde önemli farklılıklar yoktur. Yüksek kül içeriği örnekte kemik bulunduğunun bir kanıtı olabileceğinden (Al-Najdawi ve Abdullah 2002), Dana MDM'in %4,22 oranındaki kül miktarı mekanik sıyırma işlemi sırasında ürüne önemli ölçüde kemik karışmış olabileceğini göstermektedir. Hayvanlardaki farklı beslenme ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak protein içeriklerinde farklılıklar gözlenebilmektedir. Örneklerde bulunan % protein oranlarındaki farklılıklar bu koşulun sonucu olabilir. Ancak, mekanik sıyrılmış et örneklerindeki protein miktarı karkas örneklerine göre daha düşüktür.

Çizelge 3. Farklı karkas ve MDM'lerin myofibriler proteinlerine ait molekül ağırlıkları

Piliç but	Piliç boyun MDM	Piliç kafes MDM	Hindi göğüs	Hindi boyun MDM	Hindi kafes MDM	Dana bonfile	Dana MDM
205.000	193.022	181.200	181.200	181.200	193.022	193.022	169.692
101.273	47.582	48.241	101.273	101.273	99.077	101.273	97.000
89.451	41.467	40.276	80.023	47.582	47.582	46.928	46.928
46.928	38.468	37.243	47.582	39.074	40.873	43.238	37.858
42.059	29.000	28.246	42.059	36.624	37.243	40.276	24.213
38.468	22.325	22.554	40.276	21.882	22.554	36.000	19.867
22.554	21.670	19.308	36.624	20.739	21.466	31.613	19.537
19.308	19.198		21.670	19.400	19.537	29.000	
			20.739	18.911	19.066	22.554	
			18.911			20.739	
						19.475	

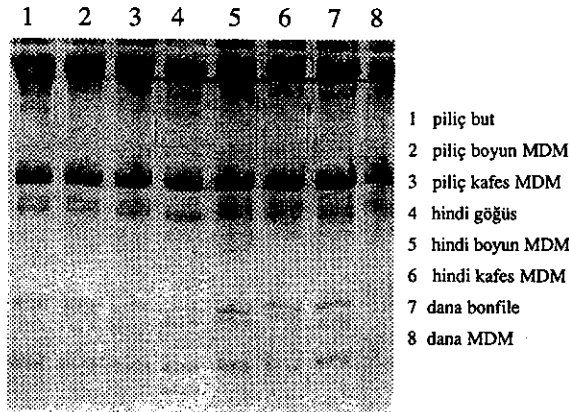
Mineral madde kompozisyonundaki Fe içeriği Crosland et al. (1995)'in bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Ette görülen önemli bir diğer iz element bakırdır. Örnekler Cu içerikleri bakımından incelendiklerinde önemli bir farklılığa rastlanmamıştır. Mineral madde kompozisyonundaki Ca ve K içerikleri örnekler arasında çeşitlilik göstermektedir. MDM örnekleri, karkas etlerinden elde edilen örneklerle karşılaştırıldığında Ca içeriklerinin yüksek olduğu görülmektedir. Ca içeriği et ezmesindeki kemik partiküllerinin içeriği ile yakından ilişkilidir (Strmiskova et al. 1993, Al-Najdawi ve Abdullah 2002,). Ayrıca, MDM üretiminde kullanılan makine tipi kimyasal kompozisyonu etkilemektedir. Hindi ve piliç MDM'lere göre Dana MDM'in Ca içeriğinin oldukça yüksek olması üretimde kullanılan makine tipinin farklı olmasından ileri gelmiş olabilir. Karkas örneklerinin Na miktarı MDM örnekleriyle karşılaştırıldığında yüksek olduğu gözlenmektedir. Ayrıca, deneye tabi tutulan makro elementler içinde Mg içeriğinin düşük değerlerde olduğu gözlenmektedir.

Çizelge 4. Farklı karkas etlerinin myofibriler proteinlerine ait molekül ağırlıkları

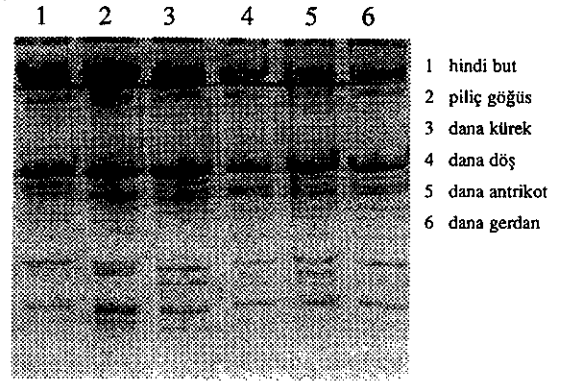
Hindi but	Piliç göğüs	Dana kürek	Dana döş	Dana antrikot	Dana gerdan
197.456	197.456	182.515	205.000	197.456	189.949
106.728	109.724	112.834	120.222	120.222	130.052
48.334	47.667	47.667	48.334	49.001	50.334
43.716	44.359	43.716	45.667	45.667	47.000
39.718	39.718	41.758	42.418	43.070	44.359
22.167	34.275	39.011	40.410	41.090	41.758
21.122	31.036	32.603	26.427	26.427	26.708
19.917	28.711	21.886	22.457	23.061	22.167
19.743	27.276	20.204	20.693	21.122	19.874
	21.886	19.632	20.000	20.204	
	20.899	16.476	19.917	19.917	
	19.486				
	17.599				

2. Elektroforetik inceleme

Yapılan çalışma sonucunda, myosin bantının ağır zincirlerinin boyutları nedeniyle poliakrilamid jelin üst kısmında yer aldığı gözlenmiştir. Myosin bantı molekül ağırlığı 220.000 Da olan iki tane ağır zincir ve molekül ağırlıkları 14.000 Da ve 20.000 Da olan 2 tane hafif zincir içermektedir. Myosin bantının altında gözlenen ek bant, myosine bağlanan proteinlerdir ve bunlar saflaştırma sırasında tamamen ayrılamamışlardır. Şekil 1 ve 2 incelendiğinde, temel myofibriler proteinlerden myosin ve aktin bakımından türler arasında farklılık gözlenmemektedir. Örneklerdeki aktin bantının yaklaşık olarak 47.000 Da civarında yer aldığı gözlenmiştir. Piliç Boyun MDM ve Piliç Kafes MDM, Piliç örneklerinin protein profiliyle karşılaştırıldığında 100.000 Da'luk bantın olmadığı gözlenmiştir. Tüm örneklerde, düşük molekül ağırlıklı bantların protein desenleri incelendiğinde 34.000-36.000 Da arasında yer alan tropomyosine ait 2 polipeptidin farklı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, jel fotoğrafları ve molekül ağırlıklarına ait tablolar incelendiğinde, düşük molekül ağırlıklı bölgede yer alan ve molekül ağırlığı yaklaşık olarak 18.000 Da ve 20.900 olan bantların sırasıyla Troponin C ve Troponin I olabileceği düşünülmektedir. Aynı türdeki farklı karkas bölgelerinden elde edilen MDM'lerin protein desenlerinde farklılık gözlenmemiştir (Hat (2) ve (3), Hat (5) ve (6)). Piliç Göğüs'te 34.275 ve 27.276 Da'luk bant deseni bulunurken Piliç Butta gözlenmemektedir. Piliç MDM örnekleri ile piliç but karşılaştırıldığında 29.000 Da'luk bant MDM örneklerinde gözlenirken, piliç butta gözlenmemiştir. Dana Döş, Dana Gerdan ve Dana Antrikot'a ait protein desenlerinde 26.000 Da'luk bant gözlenirken Dana Kürek ve Dana Bonfile'de bu bant deseni yoktur. Örneklerdeki 37.000-40.000 Da'luk bölgede yer alan bant Troponin T olabilir.

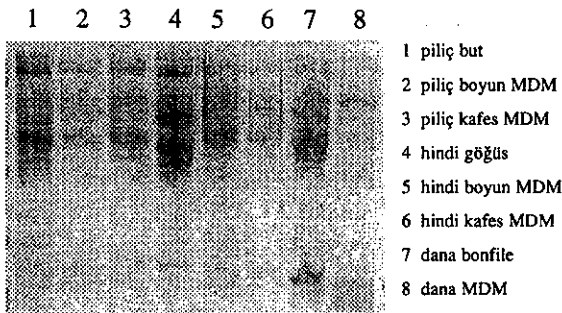


Şekil 1. Farklı karkas ve MDM'lerin myofibriller proteinlerine ait SDS-PAGE elektroforegramı [(M) Markör, (1) piliç but, (2) piliç boyun MDM, (3) piliç kafes MDM, (4) hindi göğüs, (5) hindi boyun MDM, (6) hindi kafes MDM, (7) dana bonfile, (8) dana MDM]

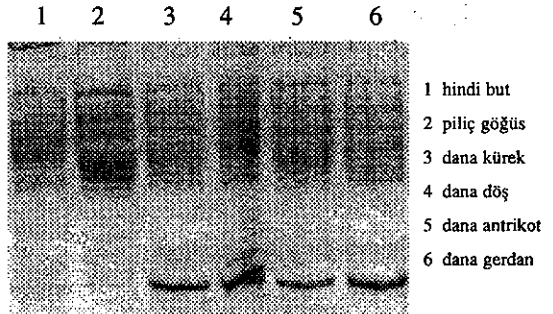


Şekil 2. Farklı karkas etlerinin myofibriller proteinlerine ait SDS-PAGE elektroforegramı [(M) markör, (1) hindi but, (2) piliç göğüs, (3) dana kürek, (4) dana döş, (5) dana antrikot, (6) dana gerdan]

Şekil 1 ve 2 incelendiğinde, Dana MDM'in protein bant desenleri diğer örneklerle kıyasla oldukça düşüktür. Dana MDM 'in elde edildiği hayvan yaşlı ise, kollajen çapraz bağlanma oranı farklı olmaktadır ve bu durum kas liflerinin kırılmasını zorlaştırabilmektedir ve kas lifi tipi ile birlikte bu durum protein ekstraksiyonunu etkilemektedir (Lan et al. 1993). Ayrıca, et yaşlanması sırasında, bazı yüksek molekül ağırlıklı proteinler, daha düşük molekül ağırlıklı proteinlere parçalanmaktadır (Savage et al. 1995). Dana MDM'de daha az protein bantının gözlenmesi bu iki nedenden kaynaklanabilir.



Şekil 3. Farklı karkas etleri ve MDM'lerin sarkoplazmik proteinlerine ait SDS-PAGE elektroforegramı [(M) Markör, (1) piliç but, (2) piliç boyun MDM, (3) piliç kafes MDM, (4) hindi göğüs, (5) hindi boyun MDM, (6) hindi kafes MDM, (7) dana bonfile, (8) dana MDM]



Şekil 4. Farklı karkas etlerinin sarkoplazmik proteinlerine ait SDS-PAGE elektroforegramı [(M) markör, (1) hindi but, (2) piliç göğüs, (3) dana kürek, (4) dana döş, (5) dana antrikot, (6) dana gerdan]

Şekil 3 ve 4 de belirtilen örneklerin süpernatant proteinlerinin molekül ağırlıkları incelendiğinde (Çizelge 5 ve 6), Dana karkas eti örneklerinde 25.000 Da civarında bant gözlenirken diğer örneklerde bu bant gözlenmemektedir. Bu bantın hemoglobin'den geldiği düşünülmektedir. Dana MDM'de ise 24.821 ve 17.262 olmak üzere iki alt birim bant deseni vardır. Piliç ve hindi etleri, dana etine göre oldukça düşük miktarda hemoglobin içermektedirler. Kırmızı et türlerine ait örneklerin hemoglobin bantı ayırt edici niteliktedir.

Çizelge 5. Farklı karkas ve MDM'lerin süpernatanttaki proteinlerine ait molekül ağırlıkları

Piliç but	Piliç boyun MDM	Piliç kafes MDM	Hindi göğüs	Hindi boyun MDM	Hindi kafes MDM	Dana bonfile	Dana MDM
153.705	153.705	132.304	132.304	249.500	132.304	132.304	76.075
74.191	67.431	76.075	76.075	84.000	81.987	78.011	59.603
61.434	56.846	67.431	63.262	72.372	67.431	67.431	24.821
54.087	53.175	62.348	51.351	66.000	55.000	62.348	17.262
50.441		53.175	48.622	52.263		52.263	
43.217		45.903	41.464			49.531	
						25.662	

Çizelge 6. Farklı karkas etlerinin süpernatanttaki proteinlerine ait molekül ağırlıkları

Hindi but	Piliç göğüs	Dana kürek	Dana döş	Dana antrikot	Dana gerdan
198,417	210,563	101,529	106,958	116,000	116,000
106,958	99,130	93,972	99,130	101,529	77,377
97,000	63,345	64,675	84,000	66,000	53,420
60,652	50,337	53,420	60,652	53,420	44,396
48,870	41,263	41,915	55,000	43,788	42,551
41,915	39,183	39,901	47,479	39,183	36,000
39,183	34,060	36,849	43,788	36,000	29,708
31,315	28,682	31,315	39,183	32,195	20,592
		21,091	33,113	21,091	
			21,715		

Farklı karkas bölgelerindeki et ve bu bölgelerden elde edilen MDM'lerin kimyasal özellikleri ile temel olarak bir ayırım yapılmıştır. Ancak, hayvanlarda beslenme, yaş, cinsiyet, kesim öncesi işlemler gibi etkilerin yapısal olarak çeşitliliğe neden olabileceği unutulmamalıdır. Araştırmada, karkas etleri ve MDM'lerin protein profillerinin SDS-PAGE ile ayırımı sonucunda, temel olarak aynı hayvana ait karkas etleri ve MDM'ler arasında çok önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Ancak, piliç, hindi ve kırmızı et karkas örnekleri ve MDM'leri arasındaki protein bant dizilimi ve yoğunlukları farklılıkları incelenebilmiştir. Sonuç olarak, SDS-PAGE tekniğinin et türlerinin tespit edilmesinde kullanılabileceği gözlenmiştir. Aynı şekilde, mineral madde kompozisyonunun belirlendiği Atomik Adsorbsiyon Spektrofotometresi ile de hayvan türleri ile MDM'ler ayrılabilir. Elektroforetik yöntemlerle yapılan çalışmalar, örneklerin kimyasal madde kompozisyonu ile desteklenir ise daha net sonuçlar vermektedir. Bu yöntem ile, diğer et türlerinde ve daha farklı karışım oranlarında da tür ve MDM tespiti yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Al-Najdawi R and Abdullah B. 2002. Proximate composition, selected minerals, cholesterol content and lipid oxidation of mechanically and hand-deboned chickens from Jordanian market. *Meat Science*, 61: 243-247.
- Anonymous. 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Association of Official Analytical Chemists. Inc. 1298 p, U.S.A.
- Anonim. 2000a. Et ürünleri tebliği. 10.02.2000 tarihli Resmi Gazete
- Anonim. 2000b. Et tebliği. 10.02.2000 tarihli Resmi Gazete
- Claeys E, Uytterhaegen L, Buts B, Demeyer D. 1995. Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. *Meat Science*, 39: 177-193.

- Crosland A.R, Patterson R.L.S, Higman R.C. 1995. Investigation of methods to detect mechanically recovered meat in meat products-I:Chemical composition. *Meat Science*, 40: 289-302.
- Day L, Brown H. 2001. Detection of mechanically recovered chicken meat using capillary gel electrophoresis. *Meat Science*, 57: 31-37.
- Laemmli, U.K., 1970, Cleavage of structural properties during the assembly of the head of bacteriophage, T₄, *Nature*, 227, 680-685.
- Lan, Y.H., Novakofski, J., Carr, T.R., McKeith, F.K., 1993, Assay and storage conditions affect yield of salt soluble protein from muscle, *Journal of Food Science*, 58, 5, 963-967.
- Satterlee, L.D., Froning, G.W., Janky, D.M., 1971, Influence of skin content on composition of mechanically deboned poultry meat, *Journal of Food Science*, 36, 979-981.
- Savage, A.W.J., Richardson, R.I., Jolley, P.D., Hargin, K.D., Stewart, C.A., 1995, Investigation of methods to detect mechanically recovered meat in meat products - II:Gel electrophoresis, *Meat Science*, 40, 303-317.
- Strmisková, G., Strmiska, F., Dubravick-, J., 1993, Mineral composition of mechanically deboned beef meat, *Die Nahrung*, 37, 1, 94-96.
- Vural, H. ve Öztan, A., 1996, Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu, H.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları No:36, H.Ü. Mühendislik Fakültesi, Ankara, 236s.