

Morkaraman Kuzu Rasyonuna Vitamin E İlavesinin Myofibriler Proteinler Üzerine Etkisi

Muhammet İrfan AKSU, Nesimi AKTAŞ, Mükerrerem KAYA
Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum - TÜRKİYE

Muhlis MACİT
Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Erzurum - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 30.05.2002

Özet: Araştırmada Morkaraman kuzu rasyonunda Vit E kullanımının (75 gün, 45 mg/gün Vit E (DL- α tocopheryl acetate)), kuzu etlerinin myofibriler proteinler üzerine etkisi incelenmiştir. Kontrol ve Vit E'li gruplarda saptanan myofibriler protein bantlarından, rasyonda Vit E kullanımının aktin ve myosin proteinleri üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir. Ancak rasyonda Vit E kullanımının tropomyosin üzerinde kısmi bir etkisi olmuştur. Kontrol ve Vit E'li gruplar arasında pH değerleri açısından da bir farklılık görülmemiştir.

Anahtar Sözcükler: Morkaraman erkek kuzu, vitamin E, myofibriler protein, pH.

The Effects of Vitamin E Supplementation on the Myofibrillar Protein of Male Morkaraman Lambs

Abstract: In this study, the effect of vitamin E usage (75 days, 45 mg/day of vitamin E (DL- α tocopheryl acetate)) on the myofibrillar proteins in male Morkaraman lamb meat was investigated. SDS-PAGE gels indicated that vitamin E supplementation to the diet did not have any effect on actin and myosin; however it had a fractional effect on tropomyosin. For pH values, no differences were observed between the control and vitamin E supplemented groups.

Key Words: Male Morkaraman lamb, vitamin E, myofibrillar proteins, pH.

Giriş

Hayvan beslemede değişik rasyon uygulamalarının kas dokusundaki Vit E içeriğini değiştirebileceği belirtilmektedir (1). Vit E vücutta sentezlenmeyip, metabolizma için yemlerle birlikte alınması gereken bir vitamindir (2,3).

Vücuda alınan Vit E canlı dokular için esansiyel olmasının yanı sıra gıda bileşeni olarak da önemli fonksiyonlara sahiptir. Antioksidan özellikte olan Vit E'nin et ve et ürünlerinin bazı kalite özellikleri üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir (4-8). Dufraş ve ark. (5) yaptıkları araştırmada rasyonda Vit E kullanımı ile taze etlerin depolama süresince kalitesinin korunduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar kesimden sonra 14 gün muhafaza ettikleri Vit E grubu etlerde TBARS değerinin kontrol etlerinden düşük (kontrolde yaklaşık 1,00 $\mu\text{g/g}$, Vit E'li grupta yaklaşık 0,3 $\mu\text{g/g}$), a* değerinin ise yüksek

olduğunu (kontrolde yaklaşık 22,00, Vit E'li grupta yaklaşık 21,00) belirlemişlerdir. Macit ve ark. (7) Morkaraman kuzu rasyonunda Vit E kullanımının et kalitesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu, Vit E'li *Longissimus dorsi* (LD) ve *Semimembranosus* (SM) kaslarında TBA sayılarının kontrol gruplarından düşük (LD kontrol: $1,074 \pm 0,076$, LD Vit E: $0,750 \pm 0,070$; SM kontrol: $0,721 \pm 0,015$, SM Vit E: $0,572 \pm 0,110$ mg malonaldehit / kg, 4 °C, 12. gün), L* (LD kontrol: $41,74 \pm 1,46$, LD Vit E: $42,71 \pm 1,22$; SM kontrol: $45,76 \pm 1,17$, SM Vit E: $47,55 \pm 0,94$) ve a* değerlerinin (LD kontrol: $22,46 \pm 0,85$, LD Vit E: $23,47 \pm 1,11$; SM kontrol: $20,53 \pm 1,91$, SM Vit E: $19,36 \pm 1,12$) ise yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ünsal ve ark. (9) ise morkaraman kuzu rasyonunda Vit E kullanımının kas içi ve kaslararası yağların yağ asidi kompozisyonunda değişikliklere neden olabildiğini belirtmişlerdir.

Kas dokusu proteinleri sarkoplazmik, myofibriler ve bağ dokusu proteinleri olarak üç ana grupta incelenmektedir. Kas dokusunda miktar olarak ise en fazla myofibriller proteinler bulunmakta olup, kas dokusunun % 11,5'lik kısmını oluşturmaktadırlar (10,11). Myofibriler proteinlerin % 50'sini myosin, % 20'sini aktin ve % 3'ünü tropomyosin oluşturmaktadır (11). Kas dokusunda Vitamin E eksikliğinden dolayı dipeptidaz aktivitesi yükselmekte, buna bağlı olarak da proteolitik parçalanma artmaktadır (10). Lobley ve ark. (12) kas dokusunda Vit E eksikliğinde myosinde yapısal değişimlerin olduğunu belirlemiştir.

Rasyona Vit E ilavesinin kas dokusunda hem fonksiyon hem de miktar bakımından önemli yeri olan myofibriller proteinler üzerine etkisi ile ilgili literatüre rastlanmamıştır. Bu nedenle planlanan bu araştırmanın amacı, Morkaraman kuzu rasyonuna ilave edilen Vitamin E'nin myofibriler proteinler üzerine etkilerinin SDS-PAGE ile belirlenmesidir.

Materyal ve Metot

Araştırmada hayvan materyali olarak Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Çiftliği'nde yetiştirilen yaklaşık 8 aylık olan 13 adet Morkaraman erkek kuzusu kullanılmıştır. Denemeye seçilen Morkaraman kuzularının 7'si kontrol, 6'sı ise Vit E'li grup olarak ayrılmıştır. Kontrol grubuna, konsantre yem (arpa % 42,00, mısır % 24,00, soya küspesi % 10,00, ayçiçeği küspesi % 8,00, melas % 8,00, kepek % 4,00, mermer tozu % 3,00, tuz % 0,95 ve premix % 0,05) ve kuru çayır otu (kuru madde % 91,68, ham protein % 6,05, ham yağ % 2,65, ham selüloz % 27,55, ham kül % 9,30 ve N'suz öz maddeler % 46,13); muamele grubuna ise kuzu başına günde 45 mg düşecek şekilde Vit E (DL- α tocopheryl acetate) ilave edilen aynı konsantre yem ve kuru çayır otundan oluşan rasyon 75 gün süreyle verilmiştir (7,8). Bu süre sonunda kesilen kuzulardan olgunlaşmayı takiben *M. longissimus dorsi* kasları alınmış ve materyal olarak kullanılmıştır.

Myofibrillerin Proteinlerinin İzolasyonu

M. longissimus dorsi kaslarından myofibriler proteinlerin izolasyonu Parrish ve ark. (13) tarafından belirtilen ve Claeys ve ark. (14) tarafından modifiye edilen yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Kıyma haline getirilen örneklerden santrifüj tüpüne 2,5 g alınmış ve 25 ml tampon çözelti (Tris-buffer; pH 7,6, 3 °C, 0,25 M

sukroz, 0,05 M tris, 1 mM EDTA) ilave edilerek Ultra Turrax'ta 10 saniye homojenize edilmiştir. Bu karışım 1000 g'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve üst faz atılmıştır. Daha sonra çöküntüye 25 ml tampon çözelti (pH 7,6, 3 °C, 0,05 M tris, 1 mM EDTA) ilave edilmiş 1000 g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen pelet üzerine 25 ml 0,15 M KCl çözeltisi (3 °C) eklenmiş ve 1000 g'de 10 dakika daha santrifüjlenmiştir. Bu işlem aynı miktar KCl çözeltisi ilave edilerek tekrarlanmıştır. İzole edilen myofibriler proteinler cam balonlara aktarılıp liyofilize edilmiştir (-40 °C).

Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Cam tüplere tartılan 10 mg liyofilize örneklerin üzerine 2 ml örnek çözeltisi (Tris+Gliserin+SDS, pH 6,8) ve 10 μ l 2-merkaptotanol ilave edilerek tamamen çözümleri sağlanmıştır. Bağ dokusunun uzaklaştırılması için örnekler filtre edilmiştir (Filtre kağıdı no: 597 Schleicher & Schuell) (14).

SDS-PAGE, Laemmli (15) esas alınarak, Aktaş ve Kaya (16) ile Aksu ve ark. (17)'nin uyguladığı şekilde yapılmıştır. Bu yöntemde göre % 5'lik yığma jel ve % 12,5'lük ayırma jeli kullanılmış, kuyulara 40 μ l örnek enjekte edilmiştir. Yürütme işlemi yığma jelinde 80 V, ayırma jelinde ise 130 V'ta gerçekleştirilmiştir.

pH Ölçümü

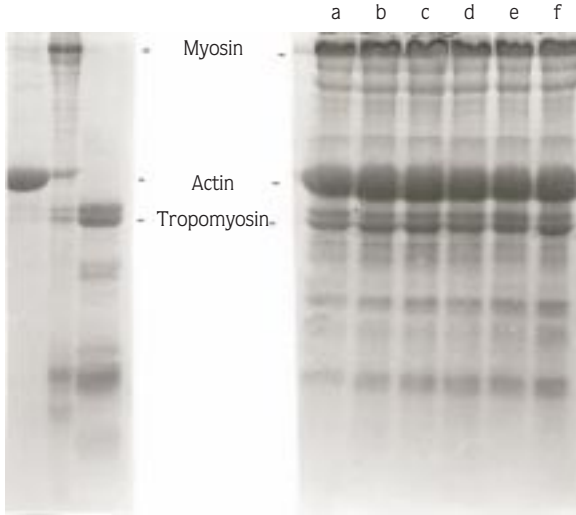
Vit E'li ve kontrol grubu kuzulardan alınan *M. longissimus dorsi* kasları 4,00 \pm 0,5 °C'de 12 gün muhafaza edilmiş ve 2. ve 12. günlerde pH değerleri saptanmıştır (18).

Bulgular

Kontrol ve Vitamin E katkılı yemle beslenen Morkaraman kuzularından alınan örneklere ait elektroforetik bantlar Şekil'de, pH değerleri ise Tablo'da verilmiştir.

Tartışma

Çizgili kas dokusunun yapısında en fazla bulunan myofibriler protein olan myosinin yapısında Vit E eksikliğinden dolayı değişimlerin oluşabileceği belirtilmektedir (12). İvesi kuzuları üzerinde yapılan benzer bir çalışmada Vit E'li kuzu etlerinde myosin bant yoğunluğunun kontrol kuzu etlerinden kısmen daha



Şekil. Kontrol ve Vit E katkılı örneklerde tespit edilen myofibriler protein bantları (SDS-PAGE). İlk üç bant; standard actin, standard myosin, standard tropomyosin. a, b, c ; kontrol grup, d, e, f ; Vit E katkılı grup.

yoğun olduğu belirtilmektedir (19). Ancak Morkaraman kuzularından alınan örneklere ait elektroforetik bantlar incelendiğinde aktin ve myosin proteinlerinde kontrol ve Vit E'li örnekler arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür (Şekil).

Morkaraman kuzularından alınan örneklere ait elektroforetik bantlar tropomyosin açısından incelendiğinde ise Vit E'li d bandı ile kontrol grubuna ait bantlar (a, b ve c) arasında bir farklılık belirlenememiş, ancak Vit E'li grubun e ve f bantları diğer bantlara göre (a, b, c ve d) daha yoğun bulunmuştur (Şekil).

Kaynaklar

- Hultin, H.O.: Characteristics of Muscle Tissue In: Food Chemistry. 2nd Edition, Revised and Expanded (ed. Fennema, O.R.) Marcel Dekker, Inc. New York. 1985; pp 725-789.
- Gökçalp H.Y., Nas, S., Certel, M.: Biyokimya I. Pamukkale Univ. Mühendislik Fak. Yayın No. 001. Denizli. 1996.
- Aksoy, A., Macit, M., Karaoğlu, M.: Hayvan Besleme. Atatürk Univ. Ziraat Fak. Yayın No. 220. Erzurum. 2000.
- Bosi, P., Cacciavillani, J.A., Casini, L., Lo Fiego, D.P., Marchetti, M., Mattuzzi, S.: Effects of dietary high-oleic acid sunflower oil, copper and vitamin E levels on the fatty acid composition and the quality of dry cured Parma ham. Meat Sci. 2000; 54: 119-126.
- Dufresne, I., Marche, C., Clinquart, A., Hornic, J.L., Van Eenaeme, C., Istasse, L.: Effects of dietary vitamin E supplementation on performance and meat characteristics in fattening bulls from Belgian Blue Breed. Livestock Prod. Sci. 2000; 65: 197-201.
- Gatellier, P., Hamelin, C., Durand, Y., Renerre, M.: Effects of a dietary vitamin E supplementation on colour stability and lipid oxidation of air-and modified atmosphere-packaged beef. Meat Sci. 2001; 59: 133-140.
- Macit, M., Aksakal, V., Emsen, E., Aksu, M.İ.: Rasyona vitamin E ilavesinin Morkaraman kuzularda besi performansı, kesim, karkas ve et kalitesi özellikleri üzerine etkileri: II-Et kalitesi özellikleri üzerine etkisi. Atatürk Univ., Ziraat Fak. Dergisi. 2001; 32: 267-276.

Tablo. Kontrol ve Vit E katkılı diyet ile beslenen Morkaraman erkek kuzularından alınan *L. dorsi* kaslarında saptanan pH değerleri (2. ve 12. gün).

Örnek	2. gün	12. gün
a*	5,60	5,90
b*	5,63	5,86
c*	5,65	5,83
Ortalama	5,63 ± 0,02	5,86 ± 0,02
d**	5,62	5,79
e**	5,70	5,90
f**	5,72	5,95
Ortalama	5,68 ± 0,03	5,88 ± 0,05

*a,b,c: Kontrol, **d, e, f: Vit E katkılı yemle beslenen grup.

Kontrol ve Vit E'li gruplarda kesimden sonra (2. gün) ve etlerin 4 °C'de 12 gün depolanmalarını takiben tespit edilen pH değerleri dikkate alındığında Vit E'nin pH üzerinde önemli etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır (Tablo). Kontrol ve Vit E'li gruplarda pH değerlerinin birbirine yakın olması myofibriler proteinlerdeki herhangi bir değişimin pH'dan kaynaklanmadığını göstermektedir. pH değeri myofibriler proteinlerin yapısal değişimleri üzerinde etkili rol oynamakta ve bu proteinlerin izoelektrik noktalarına yaklaştıkça proteolitik aktivite engellenmektedir (20).

Sonuç olarak SDS-PAGE ile yapılan çalışmada Vit E'nin myofibriler proteinler üzerinde önemli bir değişime neden olmadığı söylenebilir. Konuya yönelik çalışmaların olmadığı dikkate alınarak konu ile ilgili daha yoğun çalışmaların yapılması rasyon denemeleri ve et özelliklerinin belirlenmesi açısından yararlı olacaktır.

8. Macit, M., Aksakal, V., Emsen, E., Aksu, M.I., Karaoğlu, M., Esenbuğa, N.: Effects of vitamin E supplementation on performance and meat quality traits of Morkaraman male lambs. *Meat Sci.* 2003; 61: 51-55.
9. Ünsal, M., Aksu, M.I., Macit, M., Kaya, M.: Effect of vitamin E supplementation to diet of Morkaraman Lambs on intramuscular and intermuscular fatty acid composition. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* (yayına sunuldu), 2003.
10. Lawrie, A.R.: *Meat Science*. Pergamon Press, Oxford. New York. 232 p. 1990.
11. Pearson, A.M., Young, R.B.: *Muscle and Meat Biochemistry*. Academic Press, Inc., San Diego, California, 1989.
12. Lobley, G.E., Perry, S.V., Stone, D.: Structural changes in myosin induced by vitamin E dystrophy. *Nature*, 1971; 231: 317-318.
13. Parrish, F.C., Young, R.B., Miner, B.E., Andersen, L.D.: Effect of postmortem conditions on certain chemical, morphological and organoleptic properties of bovine muscle. *J Food Sci.* 1973; 38: 690-695.
14. Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B., Demeyer, D.: Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. *Meat Sci.* 1995; 39: 177-193.
15. Laemmli, U.K.: Cleavage of Structural Proteins during Assembly of the Head of Bacteriophage T 4. *Nature*, 1970; 227: 680-685.
16. Aktaş, N., Kaya, M.: The influence of marinating with weak organic acids and salts on the intramuscular connective tissue and sensory properties of beef. *Eur. Food Res. Tech.* 2001; 213: 88-94.
17. Aksu, M.I., Aktaş, N., Kaya, M.: Effect of commercial starter cultures on the myofibrillar proteins of pastirma (Turkish dry meat product). *J. Food Sci.* 2002; 67: 2548-2551.
18. Gökalp, H. Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö.: Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuar Uygulama Klavuzu (4. Baskı). Atatürk Üniv. Yayın No. 751. Erzurum. 2001.
19. Aksu M.İ., Aktaş, N., Kaya, M., Macit, M.: Effects of vitamin E supplementation on myofibrillar protein of Awassi male lambs (*J Muscle Sci.* yayına sunuldu). 2003.
20. Johansson, G., Berdague, J.L., Larsson, N.T., Borch, E.: Lipolysis, proteolysis and formation of volatile components during ripening of a fermented sausage with *Pediococcus pentosaceus* and *Staphylococcus xylosus* as starter cultures. *Meat Sci.* 1994; 38: 203-218.