



**T. C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI SICAKLIK VE SÜRELERDE PİŞİRİLEN
KÖFTELERDE HETEROSİKLİK AROMATİK AMİN
OLUŞUMUNUN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Ayşegül DEMİR
(201492141024)**

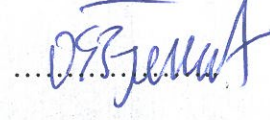
**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özlem Pelin CAN**

**SİVAS
HAZİRAN 2017**

Ayşegül DEMİR'in hazırladığı ve "Farklı Sıcaklık ve Sürelerde Pişirilen Köftelerde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunun Belirlenmesi" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

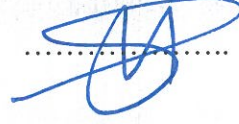
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özlem Pelin CAN

Cumhuriyet Üniversitesi

.....

Jüri Üyeleri: Doç.Dr.Fatih ÖZ

Atatürk Üniversitesi

.....

Yrd.Doç. Dr. N.Meltem KEKLİK

Cumhuriyet Üniversitesi

.....

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. İdris ZORLUTUNA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



*Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından **M-630** Nolu proje kapsamında desteklenmiştir.*



Bütün hakları saklıdır.
Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Ayşegül Demir, 2017

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

19 Haziran 2017

Ayşegül DEMİR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgisini, deneyimlerini, sabrını ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Özlem Pelin CAN'a en içten teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Fatih ÖZ'e, yardımları ve dostluğuyla büyük destekleri olan Gül KOTAN'a çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım başta olmak üzere hayatımın her anında yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen annem, babam, kız kardeşim ve sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



ÖZET

FARKLI SICAKLIK VE SÜRELERDE PİŞİRİLEN KÖFTELERDE HETEROSİKLİK AROMATİK AMİN OLUŞUMUNUN BELİRLENMESİ

Ayşegül DEMİR

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem Pelin CAN

2017, 52+xiii sayfa

Protein bakımından zengin olan gıdaların yüksek sıcaklıklarda ve uzun süre pişirilmesi ile Heterosiklik aromatik aminler (HAA) meydana gelebilmektedir. HAA'lar kanserojenik, mutajenik etki oluşturdıklarından insan sağlığını tehlikeye sokabilirler. Köfte sevilerek tüketilen bir gıdadır. Izgara ve kızartma şeklinde tüketimi en büyük yere sahiptir. Bu çalışmada köfte örnekleri 150 °C, 200 °C ve 250 °C'de 5 dakika, 7,5 dakika ve 10 dakika pişirilerek 9 farklı deneysel grup oluşturulmuştur. Deneysel örneklerle 9 farklı sıcaklık-süre uygulanarak, meydana gelen heterosiklik aromatik amin miktarları araştırılmıştır. Deneysel örneklerin kimyasal analizleri de (yağ tayini, protein tayini, tiyobarbitürik asit miktarı ve pH değeri) incelenmiştir. 250 °C'de 7,5 dakika ısı işlemi uygulanan gruba ait örneklerdeki HAA miktarı 0,42 ng/g olarak en yüksek bulunmuştur. 250 °C ısı işlemi uygulanan örneklerde IQ ve PhIP tespit edilmiştir. 200 °C' de 7,5 ve 10 dakika pişirilen örneklerde HAA tespit edilememiş, 5 dakika pişirilen örneklerde ise MeQIx 0,17 ng/g olarak tespit edilmiştir. IQx ise sadece 150 °C ısı işlemi uygulanan gruplarda tespit edilmiştir. Çalışma sonunda tüm gruplarda tespit edilen HAA miktarı 1ng/g'ın altında bulunmuştur. Bu yöntemlerin köfte pişirmede kullanılmasının HAA açısından güvenli olduğunu söylemek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Heterosiklik Aromatik Aminler, Köfte, Isıl işlem, Süre.

ABSTRACT

DETERMINATION OF HETEROCYCLIC AROMATIC AMINES IN COOKED FORMATION OF MEATBALLS IN DIFFERENT TEMPERATURE AND TIMES

Ayşegül DEMİR

Master's Thesis

Department of Food Engineering

Supervisor: Doç Dr. Özlem Pelin CAN

2017, 52+xiii pages

Heterocyclic aromatic amines (HCAs) can come into play when protein-rich foods are cooked at high temperatures and for a long time. Because HCAs have carcinogenic, mutagenic effects, they can put human health at risk. Meatball is a food that is loved and consumed. Grilled and fried in the form of consumption is the largest. In this study, 9 different experimental groups were prepared by cooking 5 minutes, 7,5 minutes and 10 minutes of meatball samples at 150 °C, 200 °C and 250 °C. Experimental samples were subjected to 9 different temperature-time periods to investigate the amounts of heterocyclic aromatic amines. Chemical analysis of the experimental samples (fat determination, protein determination, thiobarbituric acid content and pH value) were also investigated. The amount of HAA in the samples treated with heat treatment at 250 °C for 7,5 minutes was found to be highest 0,42 ng/g. IQ and PhIP were detected in the samples subjected to 250 °C heat treatment. HAA was not detected in the samples cooked at 7,5 for 10 minutes and 200 °C, whereas MeQ Ix was found to be 0,17 ng/g for the samples baked for 5 minutes. IQx was detected only in groups treated with 150 °C heat treatment. At the end of the study, the amount of HAA detected in all groups was below the 1 ng/g. It is possible to say that the use of these methods in baking meatballs is safe for HAA.

Key Words: Heterocyclic Aromatic Amines, Meatball, Heat Treatment, Time.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Kimyasal Yapı ve Sınıflandırma	3
2.2. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu	9
2.3. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler	14
2.3.1. Pişirme yöntemi	14
2.3.1.1. Izgara yöntemi	15
2.3.1.2. Tavada kızartma yöntemi	15
2.3.1.3. Yağda kızartma yöntemi.....	15
2.3.1.4. Fırında pişirme yöntemi	16
2.3.1.5. Haşlama yöntemi	16
2.3.2. Pişirme sıcaklığı ve süresi.....	17
2.3.3. Kreatin içeriği	18
2.3.4. Etin kimyasal kompozisyonu	18
2.3.5. Yağ içeriği	18
2.3.6. Protein içeriği.....	19
2.3.7. Karbonhidrat içeriği	19
2.3.8. Su içeriği	19
2.3.9. Diğer Faktörler.....	20
2.4. Heterosiklik Aromatik Aminlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi	21
3. MATERYAL VE METOT.....	25
3.1. Materyal	25
3.2. Metot	26
3.2.1. Köfte örneklerinin hazırlanması.....	26
3.2.2. Pişirme şartları	26
3.2.3. Ham yağ miktarının belirlenmesi.....	28
3.2.4. Ham protein miktarının belirlenmesi	28
3.2.5. pH değerinin belirlenmesi	28
3.2.6. TBARS değerinin belirlenmesi.....	29
3.2.7. HAA miktarının belirlenmesi.....	29
3.2.7.1. HAA ekstraksiyonu	29
3.2.7.2. HAA'ların HPLC ile analizi	29
3.2.8. İstatistiksel analiz	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	31
4.1. Köfte Örneklerinin Isıl İşlem Bilgileri.....	31
4.2. Yağ Miktarı Sonuçları.....	32
4.3. Protein Miktarı Sonuçları	32
4.4. pH Değeri Sonuçları.....	33
4.5. Tiyobarbitürik Asit Miktarı Sonuçları	33
4.6. HAA İçeriği Sonuçları	34
4.6.1. IQx içerikleri	37

4.6.2. IQ içerikleri	37
4.6.3. MeIQx içerikleri.....	38
4.6.4. MeIQ içerikleri.....	39
4.6.5. 7,8-DiMeIQx içerikleri	40
4.6.6. 4,8-DiMeIQx içerikleri	40
4.6.7. PhIP içerikleri	41
4.6.8. AαC içerikleri.....	42
4.6.9. MeAαC içerikleri	43
4.6.10. Örneklerin toplam HAA içerikleri	43
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	48

ÖZGEÇMİŞ



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Serbest amino grubu ve karbonil grubu arasındaki kondensasyon reaksiyonu [29]	9
Şekil 2.2. Amadori yeniden düzenlenmesi [29]	10
Şekil 2.3. Strecker bozulması [29].....	11
Şekil 2.4. Maillard reaksiyonlarının üçüncü basamağı [29]	11
Şekil 2.5. IQ-tipi ve IQx tipi bileşenlerin oluşumu için önerilen yol [19]	12
Şekil 2.6. Maillard reaksiyonu ürünlerinden (2-metil-piridin, 2,5-dimetil-pirazin) kreatin ve asetaldehit varlığında imidazokinolin ve imidazokinokzalinlerin oluşumu [19].....	13
Şekil 2.7. Pişirilmiş gıdalarda en yaygın bulunan iki HAA'nın yapısı [7].....	13
Şekil 2.8. HAA'ların metabolizması [15].....	22
Şekil 2.9. HAA metabolizması sonucu kanser oluşumunun şematik gösterimi [63].....	23
Şekil 3.1. Köfte örneklerinin pişirilmesi	27
Şekil 3.2. Yağ miktarının belirlenmesinde kullanılan Soxhlet ekstraksiyon sistemi	28
Şekil 4.1. 150°C'de 5 dakika pişirilen örneğin merkez sıcaklığı ve fırın sıcaklığının süreyle değişimi	32
Şekil 4.2. Mix stok solüsyonlarının HPLC kromatogramı	34
Şekil 4.3. Fırında 250 °C'de 7,5 dk pişirilen örneğe ait HPLC kromatogramı	37
Şekil 4.4. Her HAA için tespit edilen en yüksek değer.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. HAA'ların sınıflandırılmaları, bazı özellik ve bilgileri.....	5
Çizelge 3.1. Deneysel örnekler için kullanılan pişirme sıcaklıkları ve süreleri	26
Çizelge 4.1. Köfte örneklerinin kod numarası, uygulanan sıcaklık-süre ve merkezi sıcaklık değerleri.....	31
Çizelge 4.2. Örnekler ait yağ, protein, pH ve TBARS değeri sonuçları.....	33
Çizelge 4.3. HPLC'de HAA mix stok solüsyonu piklerinin geliş zamanları	34
Çizelge 4.4. Analiz edilen HAA'ların S/N oranlarına göre LOD ve LOQ değerleri	35
Çizelge 4.5. Deneysel köfte örneklerinin farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilmesi sonucu oluşan HAA miktarları (ng/g)	36
Çizelge 4.6. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerin toplam HAA miktarları ...	44



KISALTMALAR DİZİNİ

1,5,6-TMIP	:	2-amino-1,5,6-trimetilimidazo[4,5-b]piridin
3,5,6-TMIP	:	2-amino-3,5,6-trimetilimidazo[4,5-b]piridin
4,7,8-TriMeIQx	:	2-amino-3,4,7,8-tetrametilimidazo[4,5-f]kinokzalin
4,8-DiMeIQx	:	2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin
4-CH₂OH-8-MeIQx	:	2-amino-4-hidroksimetil-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin
4'-OH-PhIP	:	2-amino-1-metil-6-(4-hidroksifenil)-imidazo[4,5-b]piridin
7,8-DiMeIQx	:	2-amino-3,7,8-trimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin
7,9-DiMeIQx	:	2-amino-1,7,9-trimetilimidazo[4,5-g]kinokzalin
AIA	:	Aminoimidazoazoaren
AαC	:	2-amino-9H-pirido[2,3-b]indol
BHA	:	Bütillenmiş Hidroksianisol
Cre-P-1	:	4-amino-1,6-dimetil-2-metilamino-1H,6H-pirol[3,4-f]benziimidazol-5,7-dion
dk	:	Dakika
DMIP	:	2-amino-1,6-dimetilimidazo[4,5-b]piridin
g	:	Gram
Glu-P-1	:	2-amino-6-metildipirido[1,2-a:3 ₁ ,2 ₁ -d]imidazol
Glu-P-2	:	2-aminodipirido[1,2-a:3 ₁ ,2 ₁ -d]imidazol
HAA	:	Heterosiklik aromatik amin
Harman	:	1-metil-9H-pirido[4,3-b]indol
HPLC	:	High Performance Liquid Chromatography
IARC	:	Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi
IFP	:	2-amino-1,6-dimetilfuro[3,2-e]imidazo[4,5-b]piridin
IQ	:	2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kinolin
IQx	:	2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kinokzalin
LOD	:	Limit of Detection
LOQ	:	Limit of Quantification
Lys-P-1	:	3,4-siklopentenopirido[3,2-a]karbazol
MeAαC	:	2-amino-3-metil-9H-pirido[2,3-b]indol
MeIQ	:	2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-f]kinolin
MeIQx	:	2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin
µg	:	Mikrogram
ml	:	Mililitre
Norharman	:	9H-pirido[4,3-b]indol
ng	:	Nanogram
Orn-P-1	:	4-amino-6-metil-1-H-2,5,10,10b-tetraazafluoranten
PAH	:	Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
Phe-P-1	:	2-amino-5-fenilpiridin
PhIP	:	2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridin
TBARS	:	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
Trp-P-1	:	3-amino-1,4-dimetil-5H-pirido[4,3-b]indol
Trp-P-2	:	3-amino-1-metil-5H-pirido[4,3-b]indol
UV	:	Ultraviyole

1.GİRİŞ

Beslenme, insanın büyüme, gelişme, sağlıklı ve üretken olarak uzun süre yaşaması için gerekli olan besin öğelerini dengeli ve yeterli bir şekilde alıp vücudunda kullanmasıdır. Yeterli ve dengeli beslenme, besin öğelerinin her birinin alınması olarak bilinir ve bu öğelerin gereğinden çok ya da gereğinden az alındığında büyüme ve gelişmenin engellendiği ve sağlığın bozulduğu bilimsel olarak ortaya konulmuştur. Yeterli ve dengeli beslenmenin yanı sıra vücuda alınan besin öğelerinin sağlığı tehlikeye düşürebilecek nitelikte olmaması da önemli faktörler arasında yer almaktadır [1].

Yeterli ve dengeli beslenme için temel (süt ve ürünleri, et ve ürünleri, yumurta, tahıl ve sebze-meyve) besin öğelerinin alınması şarttır. Hayvansal proteinler beslenmede önemli bir yer tutmaktadır. Bunların başında et, süt, yumurta ve bal gelmektedir. Etler, beslenmemizde önemli yer tutarlar ve kırmızı et (büyükbaş ve küçükbaş kasaplık hayvanlardan) ve beyaz et (kanatlılar ve su ürünlerinden) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Etin bileşiminde; protein, yağ, mineraller ve vitaminler bulunur. Etlerin protein miktarı ve protein kalitesi yüksektir. Yağlı etlerin özellikle doymuş yağ ve kolesterol içerikleri yüksektir. Gıda maddesi olarak yüksek değerli aminoasit içeriğiyle hayvansal protein gereksinimini karşılamaktadır. Etler; B12 vitamini, demir, çinko gibi birçok vitamin ve mineral açısından zengindir, et ve et ürünlerinde bulunan demirin vücutta kullanılabilirliği yüksektir. Protein tüketimi açısından bakıldığında, ergin bir kişinin günde yaklaşık 70 g kadar protein tüketmesi, bunun da en az yarısının hayvansal kökenli olması gerekmektedir [2].

Türkiye İstatistik Kurumu 2015 verileri gıda harcamaları dağılımına bakıldığında en büyük paylar %19,1 olmak üzere ekmek ve tahıllar ile et ve balık gruplarına aittir [3].

Et ve et ürünleri ülkemizde yaygın olarak pişirilerek tüketilmektedir. Et ve ürünleri pişirildiği zaman duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik kriterlerinde bir takım değişiklikler meydana gelmektedir. Etin pişirilmesiyle meydana gelen duyuşal özelliklerdeki değişimler pozitif yönde olur ve aroma şekillenir, parlak kırmızı renk ısının etkisiyle kahverengine dönüşür, proteinlerin denatürasyonuna bağlı olarak bağ doku proteinleri başta olmak üzere kollojenin denatürasyonu ile gevreklik kazanır. Mikrobiyolojik olarak, uygulanan ısı işlemleri ve yöntemine bağlı olarak mikrobiyel yükte

azalmalar meydana gelir. Yağ miktarı, protein miktarı ve pH değerlerinin değişmesi de kimyasal kriterler arasında yer almaktadır.

İnsanlar, etin güvenilirliğini ve lezzetini artırmak için et ve et ürünlerini pişirerek tüketmeyi tercih etmektedirler. Olgunlaştırılmış etin tadı laktik asit tadında olup, aldehitler, aminoasitler, karboniller gibi bileşenler ile gelişmektedir. Et ürünlerinde pişirme ile lezzetin artması, etin yüzeyine uygulanan ısınn etkisiyle yüzeyde şekillenen maillard reaksiyonu ile olmakta ve yüksek sıcaklıkta serbest radikaller oluşmaktadır. Bu serbest radikaller sağlık üzerine olumsuz etkiler oluşturduğu gibi, gıda bileşenleri ile (protein, karbonhidrat, yağ ve vitamin) reaksiyona girerek ürünün üzerinde istenmeyen lezzet ve tat değişimlerine de sebep olabilmektedir.

Heterosiklik aromatik aminler (HAA), bu bileşiklerin önemli bir grubunu oluşturmaktadır ve 150 °C ve daha yüksek sıcaklıklara maruz kalan etlerde, kreatin, şekerler ve aminoasitlerin Maillard reaksiyonu sonucu üretilirler [4]. HAA'lar pişmiş gıdalarda ng/g düzeylerinde bulunmaktadır [5].

HAA' lar geleneksel pişirme yöntemleri olan, tavada kızartma ve mangal kullanılarak pişirilmiş et ürünleri yanı sıra hazır gıdalarda da bulunabilmektedir [6]. Pişmiş et ürünlerinde en çok belirlenen HAA' lar 2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin(MeIQx), 2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin (4,8-DiMeIQx) ve 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridin (PhIP)'dir [7].

Bu çalışmada kırmızı etten hazırlanan köfte örneklerinden farklı sıcaklık ve süreler esas alınarak 9 deneysel grup (150 °C' de 5, 7,5 ve 10 dakika, 200 °C' de 5, 7,5 ve 10 dakika, 250 °C' de 5, 7,5 ve 10 dakika) oluşturulmuştur. Araştırmada, sanayi tipi konveksiyonel fırın kullanılarak pişirilen köftelerde HAA oluşumu üzerine farklı pişirme sıcaklıklarının ve sürelerinin etkileri incelenerek köftelerde oluşan HAA çeşitleri ve miktarları HPLC ile tespit edilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Kimyasal Yapı ve Sınıflandırma

Heterosiklik aromatik aminler en az bir azot içeren çok halkalı aromatik yapıda olup, ekzosiklik amino grubuna sahiptir [8]. Genellikle üç kaynaşmış aromatik halkadan oluşurlar. PhIP ve DMIP'in (2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridin ve 2-amino-1,6-dimetilimidazo[4,5-b]piridin) sadece iki kaynaşmış halkasının olması, harman ve norharman'ın ekzosiklik amino grubunun olmaması ve IFP (2-amino-1,6-dimetilfuro[3,2-e]imidazo[4,5-b]piridin), halka yapısında bir oksijen atomuna sahip olması ile bu genelleme dışında kalmaktadır [8].

Yapıda en fazla dört metil grubu bulunur ve bu metil gruplarının sayısı ve pozisyonları farklı HAA türevlerini oluşturmaktadır [9]. Karakteristik UV spektrumuna ve yüksek ekstinksiyon katsayısına, bazıları ise floresans özelliğe sahip olan HAA'lar genellikle 200–300°C'de eriyen dayanıklı katılardır [10,11, 12,13].

Heterosiklik aromatik aminler, aminoimidazoazoarenler (AIA) ve aminokarbolinler (AC) olmak üzere iki ana kimyasal sınıfa ayrılmışlardır [14]. Aminoimidazoazoarenler, 100-300 °C arasındaki sıcaklıklarda oluşurlar, termik HAA'lar veya IQ tipi bileşikler olarak da bilinirler [15]. AIA' lar serbest aminoasitler, kreatin ve heksozların sıradan pişirme sıcaklıklarındaki reaksiyonundan meydana gelirler [16]. AIA bileşikleri, bir kinolin (IQ ve MeIQ), bir kinokzalin (MeIQx ve DiMeIQx) ya da bir pridin (PhIP) ile kaynaşmış bir 2-aminoimidazo grubuna sahiptirler [17].

Aminokarbolinler, 300 °C üzerindeki yüksek sıcaklıklarda oluşurlar, pirolitik HAA'lar veya IQ tipi olmayan bileşikler olarak adlandırılırlar [15]. Piroliz ile çok yüksek sıcaklıklarda birçok aktif bileşen meydana gelir ve serbest radikal reaksiyonlarıyla pirolitik mutajenler oluşur [18]. Aminokarbolinler; aminopiridoindoller (A α C, MeA α C, Trp-P-1, Trp-P-2), aminopiridoimidazoller (Glu-P-1, Glu-P-2, Lys-P-1, Orn-P-1), aminofenilpridinleri (Phe-P-1) kapsamaktadır [17]. Ayrıca aminokarbolinler α -karbolinler (A α C, MeA α C), β -karbolinler (harman, norharman), γ - karbolinler (Trp-P-1 ve Trp-P-2) ve δ -karbolinler (Glu-P-1 ve Glu-P-2) olmak üzere daha fazla alt gruba ayrılmaktadır [9].

Aminokarbolinler genellikle ortak bir yapı olarak 2-aminopiridin parçası içerirler [16]. Bu sınıftaki HAA'lar genellikle bir ekzosiklik amino grubuna ve bazen de ekzosiklik bir metil grubuna bağlanmış bir piridin halkasına bağlı bir indol veya bir

imidazol parçacığına sahiptir [19]. Harman ve norharman bileşikleri ekzosiklik amino grubuna sahip değildir [8] ancak çoğunlukla β -karbolinler olarak aminokarbolinler grubuna dahil edilmişlerdir [20]. Pirolitik HAA’lardan 1-Metil-9H-pirido[3,4-b]indol (Harman) ve 9H-pirido[3,4-b]indol (Norharman) bileşiklerinin Ames testine göre mutajenik olmadığı bilinmektedir ancak ko-mutajenik etkiye sahip olduklarından diğer HAA’ların mutajenliklerini artırmaktadırlar [20].

HAA’lar kimyasal davranışlarına göre; polar (aminoimidazoazoarenler, Glu-P-1, Glu-P-2) ve apolar (diğerlerinin tümü) olarak da gruplandırılabilir [20]. Ayrıca HAA’lar mutajenik ve kanserojenik olmak üzere de iki grup altında toplanabilir. En güçlü mutajenler arasında MeIQ, IQ ve MeIQx yer almaktadır [21].

HAA’ların sınıflandırılması, kimyasal yapıları ve molekül ağırlıkları ile ilgili bilgiler izelge 2.1.’de görülmektedir.

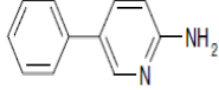
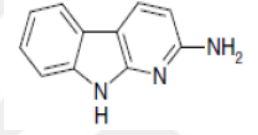
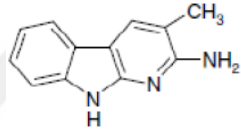
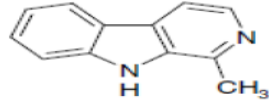
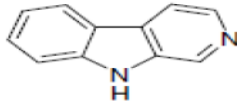
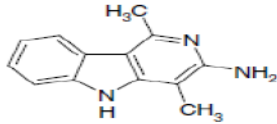
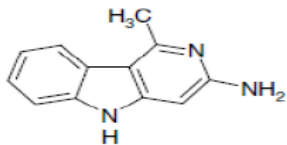
Çizelge 2.1. HAA'ların sınıflandırılmaları, bazı özellik ve bilgileri [15]

Kimyasal Adı	Kısaltması	Yapısı	Molekül Ağırlığı ve Özelliği
Termik HAA'lar: Aminoimidazoazaereler			
İmidazopridinTürevleri			
2-amino-1,6-dimetilimidazo [4,5-b]-piridin	DMIP		162,2 polar
2-amino-1,5,6-trimetilimidazo[4,5-b]-piridin	1,5,6-TMIP		176,2 polar
2-amino-3,5,6-trimetilimidazo[4,5-b]-piridin	3,5,6-TMIP		176,2 polar
2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]-piridin	PhIP		224,3 pKa =5,6 polar
2-amino-1-metil-6-(4'-hidroksifenil)-imidazo[4,5-b]-piridin	4'-OH-PhIP		240,3 polar
2-amino-1,6-dimetil-furo[3,2-e]imidazo [4,5-b]-piridin	IFP		202,3 polar
İmidazokinolinTürevleri			
2-amino-1-metilimidazo[4,5-f]-kinolin	iso-IQ		198,2 polar
2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]-kinolin	IQ		198,2 pKa1=3,5 pKa2=6,1 polar
2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-f]-kinolin	MeIQ		212,3 pKa=6,4 polar

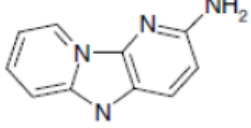
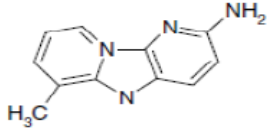
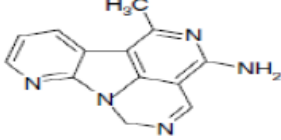
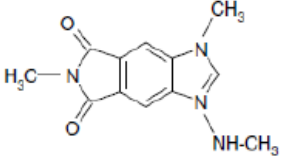
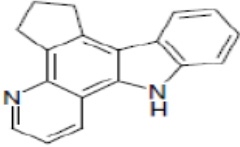
Çizelge 2.1. HAA'ların sınıflandırılmaları, bazı özellik ve bilgileri (Devamı)

Kimyasal Adı	Kısaltması	Yapısı	Molekül Ağırlığı ve Özelliği
İmidazokinokzalinTürevleri			
2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]-kinokzalin	IQx		199,3 polar
2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin	4-MeIQx		213,3 polar
2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin	8-MeIQx		213,3 pKa=5,95 polar
2-amino-3,7,8-trimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin	7,8-DiMeIQx		227,3 pKa=6,5 polar
2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin	4,8-DiMeIQx		227,3 pKa=5,8 polar
2-amino-4-hidroksimetil-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin	4-CH2OH-8-MeIQx		243,3 polar
2-amino-3,4,7,8-tetrametilimidazo[4,5-f]-kinokzalin	TriMeIQx		241,3 pKa=6,0 polar
2-amino-1,7-dimetilimidazo[4,5-g]-kinokzalin	7-MeIgQx		213,3 polar
2-amino-1,7,9-trimetilimidazo[4,5-g]-kinokzalin	7,9-DiMeIgQx		227,3 polar

Çizelge 2.1. HAA'ların sınıflandırılmaları, bazı özellik ve bilgileri (Devamı)

Kimyasal Adı	Kısaltması	Yapısı	Molekül Ağırlığı ve Özelliği
PirolitikHAA'lar:Karboniller			
FenilpridinTürevleri			
2-amino-5-fenilpridin	Phe-P-1		170,2 non-polar
PridoindolTürevleri: α-Karboniller			
2-amino-9H-prido[2,3-b]indol	AαC		183,2 pKa= 4,4 non-polar
2-amino-3-metil-9H-prido[2,3-b]indol	MeAαC		197,2 non-polar
β-Karboniller			
1-metil-9H-prido[3,4-b]indol	Harman		182,3 non-polar ko-mutajenik
9H-prido[3,4-b]indol	Nor-harman		168,2 pKa=6,8 non-polar ko-mutajenik
γ-Karboniller			
3-amino-1,4-dimetil-5H-prido[4,3-b]-indol	Trp-P-1		211,3 pKa=8,6 non-polar
3-amino-1-metil-5H-prido[4,3-b]indol	Trp-P-2		197,4 pKa = 8,5 non-polar

Çizelge 2.1. HAA'ların sınıflandırılmaları, bazı özellik ve bilgileri (Devamı)

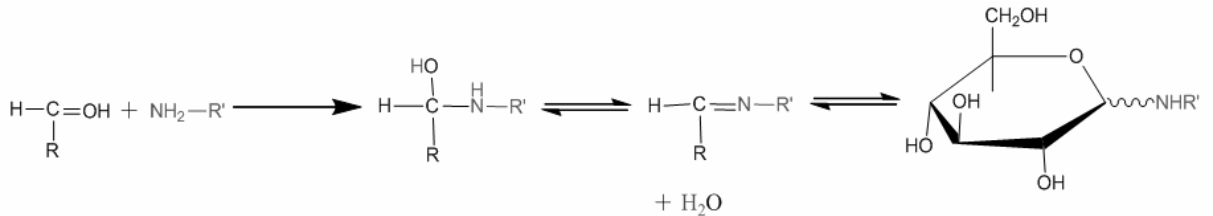
Kimyasal Adı	Kısaltması	Yapısı	Molekül Ağırlığı ve Özelliği
Pridoimidazo Türevleri: δ-Karboniller			
2-aminodiprido-[1,2- α :30,20-d]imidazol	Glu-P-2		184,3 pKa = 5,9 non-polar
2-amino-6-metildiprido-[1,2- α :30,20-d]imidazol	Glu-P-1		198,3 pKa = 6,0 non-polar
TetraazafluorantheneTürevleri			
4-amino-6-metil-1H-2,5,10,10b-tetraazafluoranthene	Orn-P-1		237,3 non-polar
BenzimidazolTürevleri			
4-amino-1,6-dimetil-2-metilamino-1H,6H-pirrolo-[3,4-f]benzimidazol-5,7-dion	Cre-P-1		244,3 non-polar
KarbazolTürevleri			
3,4-siklopenten-prido[3,2- α]karbazol	Lys-P-1		246,3 non-polar

2.2.Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu

HAA'lar genellikle protein ve kreatin gibi azotlu bileşikler içeren, hayvansal kaynaklı gıdaların sıcaklığa maruz kalmasıyla oluşurlar [22]. Etler, pişirme esnasında serbest aminoasitler ve şekerlerle reaksiyona girebilen kreatin ve kreatinin içerirler, zamana ve sıcaklığa bağlı olarak HAA'ları meydana getirirler [23]. Pişirme sıcaklığı 150 °C'yi aştığında ısıtılmış et ve balıklarda önemli miktarda bulunurlar [24]. Ayrıca HAA'lar daha düşük sıcaklıklarda daha uzun süreli pişirmelerde de oluşabilirler [25]. Etlerde kaynatma ile HAA'ların çok düşük miktarlarda oluştuğu ancak kızartma, ızgaralama, fırınlama gibi işlemlerden sonra oluşumlarının büyük oranda arttığı bilinmektedir [24].

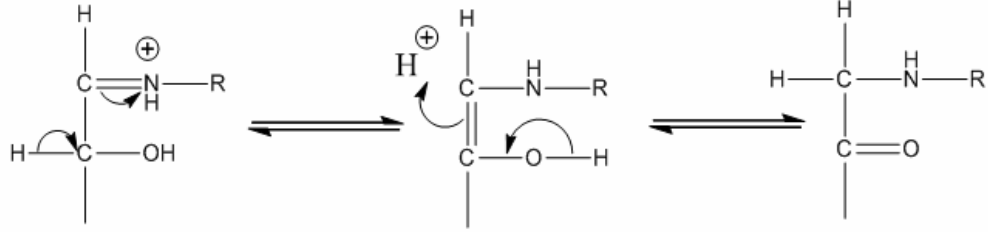
Maillard reaksiyonu AIA'ların ve aminokarbollerin oluşumu için önemlidir. Mutajenik aktivitenin üretiminde Maillard reaksiyonunun önemi birçok çalışmada belirtilmiştir [26]. Maillard reaksiyonunun, ısıtma işlemi sırasında IQ tipi mutajenlerin oluşumunda yer aldığı bilinmektedir [27].

HAA'ların bazı öncü bileşikleri kreatin/kreatinin, serbest aminoasitler, şekerler, peptidler, proteinlerdir [18,28]. Gıdalarda bulunan serbest aminoasitlerin, proteinlerin veya peptidlerin serbest amino grupları ile indirgen şekerler veya lipid oksidasyon ürünleri arasında gerçekleşen ve enzimatik olmayan kahverengileşme reaksiyonları "Maillard Reaksiyonu" olarak bilinir. Maillard reaksiyonu oldukça karmaşık olmasına rağmen üç basamakta meydana geldiği bilinmektedir. İlk basamakta indirgen şekerin karbonil grubu ve aminoasitlerin amino grubu arasındaki kondensasyon reaksiyonu sonucu yapıdan suyun uzaklaşmasıyla birlikte kapalı halka formundaki Schiff bazı (glikozilamin) oluşur [29,30]. Şekil 2.1.'de Serbest amino grubu ve karbonil grubu arasındaki kondensasyon reaksiyonu gösterilmektedir.



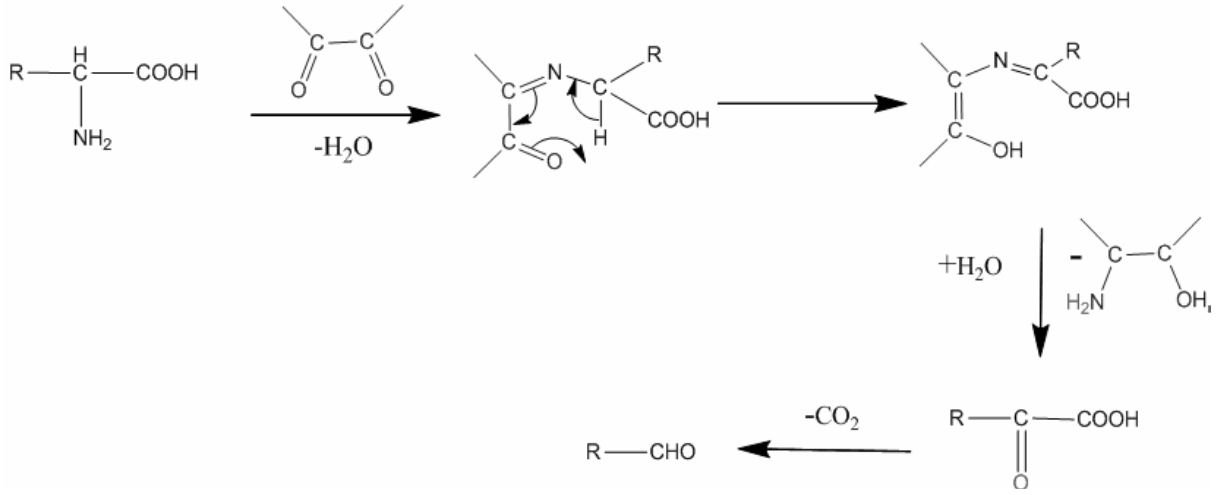
Şekil 2.1. Serbest amino grubu ve karbonil grubu arasındaki kondensasyon reaksiyonu [29]

Oluşan glikozilamin, 1-amino-1-deoksi-2-ketoza dönüşmektedir. Zayıf asidik koşulların katalize ettiği bu reaksiyondan Amadori dönüşümü olarak adlandırılmaktadır. Başlangıçta reaksiyona giren şeker ketoz ise aldozda olduğu gibi aynı mekanizmayla glikozilamin oluşmaktadır, daha sonra ters Amadori (Heyns) dönüşümüne uğrayarak 2-amino-2-deoksialdoz oluşur.

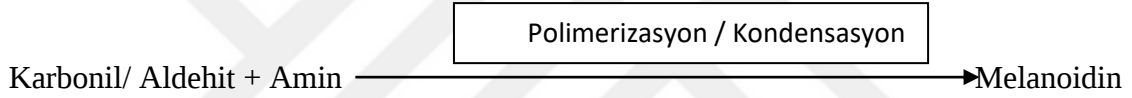


Şekil 2.2. Amadori yeniden düzenlenmesi [29]

Maillard reaksiyonunun ikinci basamağı; renk değişimlerinin de başladığı basamaktır. Bu basamakta birbirinden farklı başlıca üç yol bulunmaktadır. En önemli Maillard ara ürünlerinin oluştuğu birinci yolda 1-amino-1-deoksi-2-ketoza başka bir aldol molekülü ile reaksiyona girerek daha az stabil olan diketozamine dönüşür. Diketozamin ise monofruktozamin ve 3-deoksiosuloz gibi birçok bileşiğe parçalanır. İkinci basamağın ikinci yolu Amadori ürünlerinin enolizasyonu ile gerçekleşir. Bu yol pH'nın 7'den düşük olduğu durumlarda pentoz şekerlerin furfurala; heksoz şekerlerin de hidroksimetilfurfurala dönüşmesi ile devam ederken pH'nın 7'den yüksek olduğu durumlarda oldukça reaktif ürünlere enolize olur. İkinci basamağın üçüncü yolu Strecker bozulması olarak adlandırılmaktadır. Karbonil gruplarının amino grupları ile kondanase olduğu ve CO₂ oluşumu ile karakterize edilebilen bu basamakta aldehytler, ketonlar, aldehyt ve keton türevi bileşikler meydana gelmektedir. Üçüncü basamak önceki basamakta oluşan bileşiklerin aminlerle birleşmesi, aldollerin kondanase olması, aldehyt ve aminlerin polimerize olması ve böylece melanoidin denilen heterosiklik yapıdaki koyu renkli bileşiklerin oluşmasıdır [29,30].

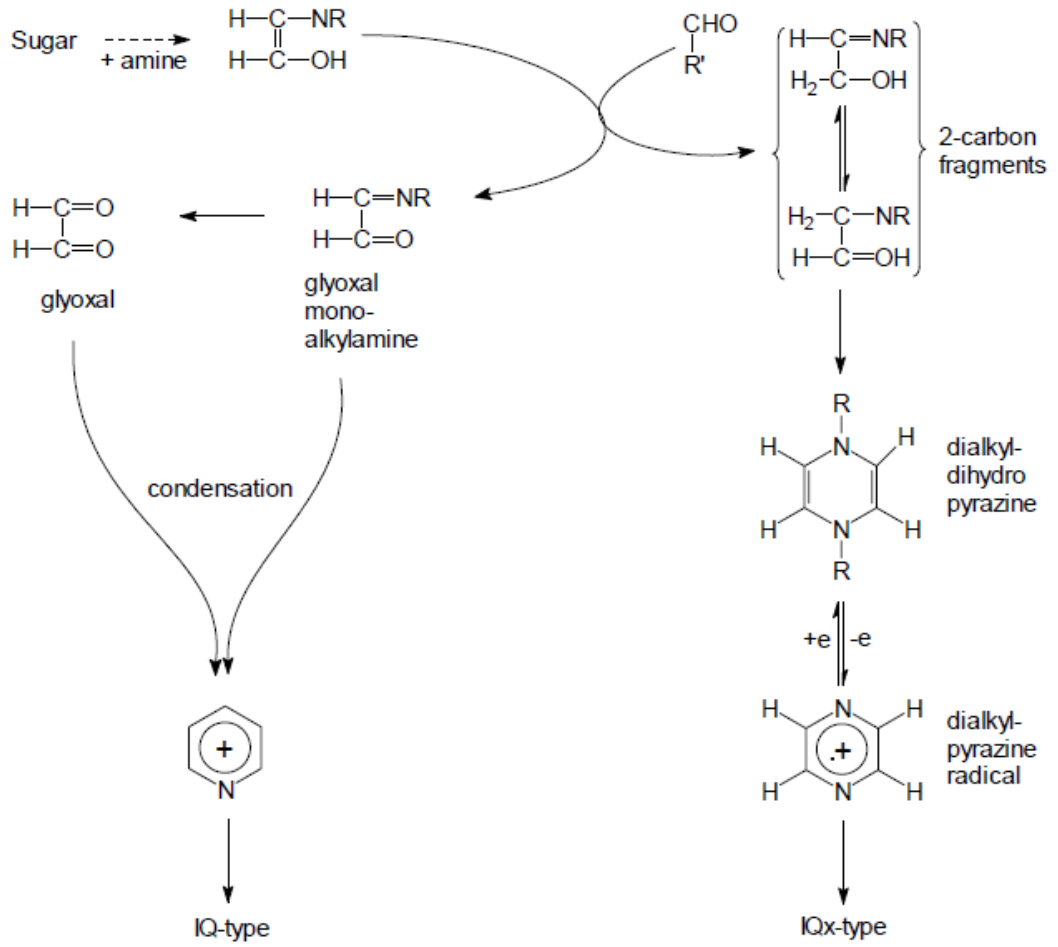


Şekil 2.3. Strecker bozulması [29]



Şekil 2.4. Maillard reaksiyonlarının üçüncü basamağı [29]

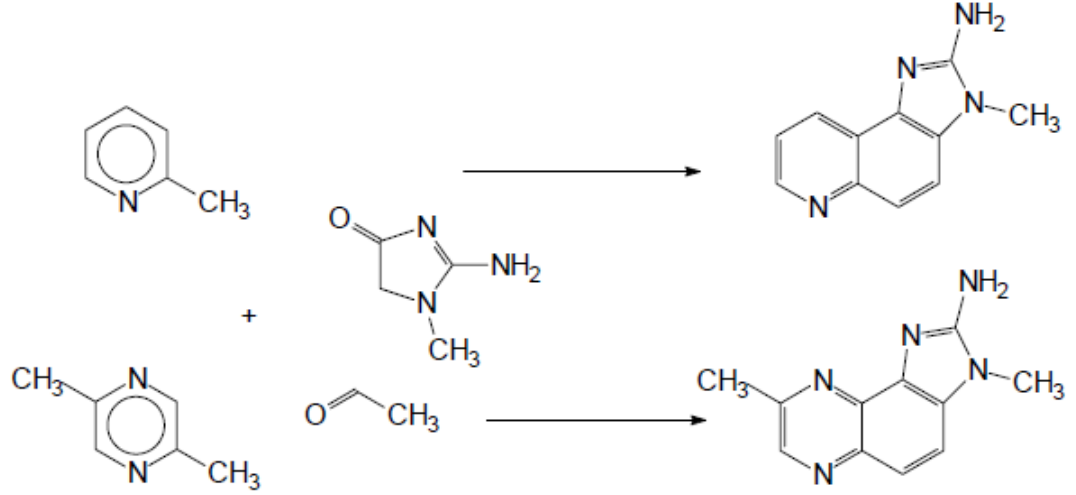
AIA'ların hepsi 2-aminoimidazo grubuna sahiptir ve bu yapının kreatin kaynaklı olduğu bilinmektedir [31]. Aminoimidazo kısmı, sıcaklık yaklaşık olarak $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ulaştığında kreatinden su eliminasyonu ile kreatininin siklizasyonu yoluyla gerçekleşmektedir [27,32]. 2-aminoimidazo kısmı mutajenik aktivite için gereklidir, metil gruplarının sayısı ve pozisyonu bu bileşiklerin mutajenik potansiyelini belirler [31]. Eğer ortamda kreatin mevcut değilse IQ ve IQx tipi HAA'arın oluşmadığı belirtilmektedir [24]. AIA'ların 2-aminoimidazo kısımları ya bir kinolin, ya bir kinokzalin ya da bir piridine bağlıdır. IQ bileşiklerinin bu geri kalan kısımlarının (kinolin, kinokzalin, piridin) ise Maillard reaksiyonu sonucu oluşan piridinler ve pirazinler gibi Strecker bozulması ürünlerinden meydana geldiği ve aldol kondensasyonu ile bu iki parçanın bir Strecker aldehiti veya ilgili bir Schiff bazı aracılığıyla birbirine bağlandığı belirtilmektedir [27,31].



Şekil 2.5. IQ-tipi ve IQx tipi bileşenlerin oluşumu için önerilen yol [19]

Pearson vd. (1992) alkilpiridin serbest radikalleri ve kreatinin'in IQ ve MeIQ, dialkilpirazin serbest radikallerinin ve kreatinin'in MeIQx ve 4-8-DiMeIQx meydana getirdiğini belirtmişlerdir. [31].

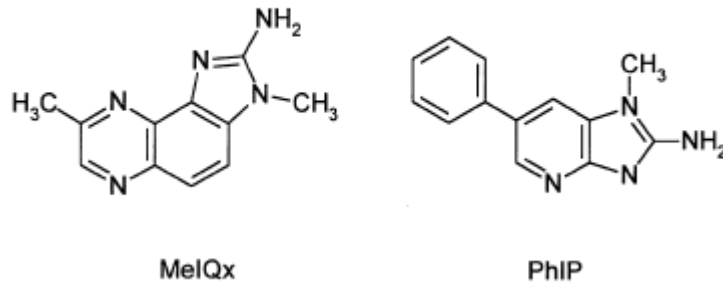
Milić vd. (1993) bu oluşumdaki ilk basamağın Maillard ve Strecker reaksiyonlarının kinetiğine, piridin ve pirazin serbest radikallerinin oluşumuna bağlı olduğunu ve piridin ve pirazin türevlerinin kreatinin'le verdiği reaksiyon sonucu bu serbest radikallerin stabilizasyonunun sağlandığını belirtmişlerdir. 2,5-dimetil-pirazin ve 2-metil-piridin, asetaldehit ve kreatinin varlığında 130 °C'de 3 saat süreyle ısıtılmasının sonucunda MeIQx ve DiMeIQx oluşumunun gözlenmesi ile bu yolun doğruluğu kanıtlanmıştır [31].



Şekil 2.6. Maillard reaksiyonu ürünlerinden (2-metil-piridin, 2,5-dimetil-pirazin) kreatin ve asetaldehit varlığında imidazokinolin ve imidazokinokzalinlerin oluşumu [19]

Felton ve Knize (1991) fenilalanin ve kreatinin PhIP'in öncül bileşikleri olduğunu ¹³C atomu işaretli fenilalanin ve kreatini kuru ortamda ısıtarak ortaya koymuşlardır. Skog (1993) lösin, izolösin ve tirozin ile ısıtılan kreatinden de PhIP'in oluştuğunu göstermiştir.

Skog ve Jägerstad (1991) fenilalanin ve kreatin sıvı model sisteminden üretilen PhIP'in oluşumunda glikozun önemli bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Manabe vd. 'ne (1992,1993) göre hem kreatinin, fenilalanin, şekerler ya da aldehit karışımları hem de kreatinin, fenilalanin ve nükleik asit karışımları ısıtıldığında da PhIP elde edilmiştir [31].



Şekil 2.7. Pişirilmiş gıdalarda en yaygın bulunan iki HAA'nın yapısı [7]

PhIP ve MeIQx pişirilmiş gıdalarda en yaygın bulunan iki heterosiklik aromatik amindir [7]. Şekil 2.7.'de PhIp ve MeIQx'in yapıları gösterilmiştir.

Pirolitik HAA'lar olarak adlandırılan aminokarbolinler, 300 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda aminoasitler ve proteinlerin pirolitik reaksiyonu yoluyla üretilirler [16,18,31]. Piroliz ile çok yüksek sıcaklıklarda birçok aktif bileşen meydana gelir ve bu bileşenlerin serbest radikal reaksiyonlarıyla heterosiklik yapılar oluşturmak üzere birleşmesi sonucu pirolitik mutajenler oluşur [9]. Aminokarbolinler, sigara ve sigara dumanından, pirolize edilmiş tek aminoasitlerden (triptofan, glutamik asit, lizin, fenilalanin, ornitin, kreatin) ve kazein, albümin, gluten veya soya globulini gibi pirolize edilmiş proteinlerden izole edilmiştir. α -karbolinler ve γ -karbolinler ya triptofanın yada hayvansal /bitkisel kaynaklı proteinlerin (albümin, kazein, soya globulini) pirolizi yoluyla oluştuğu bilinmektedir [31].

Aminokarbolinler bir öncül olarak kreatine bağımlı değildir ve bu nedenle hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklı ısıya maruz kalmış gıdalarda bulunabilirler. Ancak bir model sisteme ek olarak kreatinin eklendiğinde harman ve norharman oluşumunun artırdığı görülmüştür. Yine benzer çalışmalarda sulu ortamda kreatin ve glikoz varlığında sıradan pişirme koşullarına yakın sıcaklıklar (100-225 °C) kullanılarak ısıtılan (10 ile 120 dakika arasında) çeşitli aminoasitler ve aminoasit karışımlarının harman ve norharman ürettiği gözlenmiştir [31].

2.3. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Gıdaların pişirilmesi ile farklı çeşit ve miktarlarda HAA'lar oluşabilmektedir. HAA'ların oluşumları ve konsantrasyonları da birçok faktöre bağlıdır. Bu faktörler arasında pişirme süresi ve sıcaklığı, su aktivitesi, pH değeri, oluşum için gerekli öncüllerin (kreatin/kreatinin, serbest aminoasitler, şekerler, peptidler, proteinler) etkisi ve miktarı, yağlar, yağ oksidasyonu, antioksidanlar, mevcut inhibitör ve aktivatör bileşenlerin miktarı, ısı ve kütle aktarımı, ısıtılma işlemi gören gıdanın türü, pişirme ekipmanı ve metodu yer almaktadır [18,31,28,33,34].

2.3.1. Pişirme yöntemi

Et ve ürünlerinin tüketilmeden önce pişirilmesi, ürünün tadı üzerinde önemli rol oynamaktadır. Lipit oksidasyonu tat değişimi üzerine önemli bir rol üstlenmektedir. Pişirme yöntemleri ürüne, mevcut ekipmana ve ham maddeye göre değişmektedir. Et ve

ürünlere uygulanan ısı ürünün lezzetinde önemli olup, yüzey sıcaklığı yüksek olan ürünlerde yüzeyde gerçekleşen dehidrasyon nedeniyle aroma maddelerinin ve serbest aminoasitlerin yoğunluğunun artmasına ve lezzetin daha iyi gelişmesine neden olduğu bilinmektedir. Fakat yüksek kuru ısı pişirme kayıplarına ve zararlı bileşenlerin oluşmasına da zemin hazırlamaktadır.

2.3.1.1. Izgara yöntemi

Kömür kullanılarak yapılan ızgara türü pişirme yönteminde HAA'ların yanı sıra Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların (PAH) oluşumu da gerçekleşmektedir [35].

Izgara yönteminin genel olarak en yüksek toplam HAA miktarı ile sonuçlanan pişirme yöntemi olduğu ve bunu tavada kızartma ve kavurma yöntemlerinin izlediği bildirilmektedir [36]. Yine yapılan başka bir çalışmada ızgara pişirme yöntemi ile yüksek ısıya maruz bırakılan etlerde ikinci dakikada HAA ve PAH'ların oluşmaya başladığı ve süre artışına paralel olarak adı geçen maddelerin miktarının arttığı rapor edilmiştir [37].

Ev tipi pişirme yöntemleriyle pişirilen kırmızı ve beyaz etlerde HAA konsantrasyonları genellikle düşük ppb seviyelerinde iken iyi pişmiş ve ızgara edilmiş etlerde bu değerin 500 ppb seviyelerine çıktığı görülmektedir [21].

2.3.1.2. Tavada kızartma yöntemi

Et ve ürünlerinin bütün ya da parça haline getirildikten sonra az miktarda yağ içeren tava içerisinde yapay alev kaynağı kullanılarak pişirilme işlemidir [35].

Hwang ve Nagadi (2002) HAA'ların yüksek sıcaklıklarda pişirilen et ürünlerinin çoğunlukla yüzey kısımlarında oluşması ve tavada pişirme yöntemiyle tavada kalan kalıntılarında da HAA'ların varlığından bahsetmektedirler [6].

Pişirme yöntemleri kıyaslandığında ise tavada kızartma ve ızgara/barbekü yöntemlerinin fırında rostolama, derin yağda kızartma, mikrodalga, haşlama yöntemlerine göre daha yüksek HAA oluşumuna sebep olduğu belirtilmiştir [5].

2.3.1.3. Yağda kızartma yöntemi

Kızartma, sıcaklığı 150-190 °C'ye kadar çıkarılmış yağ içerisine etin bırakılması ve belirli bir süre yağ, hava, gıda arasındaki etkileşim olarak tanımlanabilir. Sıcaklığa bağlı olarak yağda meydana gelen degradasyon sonucu HAA'lar dışında farklı zararlı kimyasalların (akrilamid, PAH) açığa çıkması da mümkündür [35].

HAA oluşumu üzerinde pişirme yöntemlerinin etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, hamburger köftesi ve biftek örnekleri dört farklı seviyede (az, orta, iyi, çok iyi) ve üç farklı yöntemle (ızgara/barbekü, tavada kızartma ve fırında pişirme) pişirilmiştir. Oluşan MeIQx ve PhIP miktarları karşılaştırıldığında çok iyi derecede pişirilmiş hamburger köftelerinde 16,8 ng/g (ızgara/barbekü), 2,3 ng/g (tavada kızartma), nd (fırında pişirme) seviyelerinde PhIP, 4,6 ng/g (ızgara/barbekü), 4,3 ng/g (tavada kızartma), 1,6 ng/g (fırında pişirme) seviyelerinde ise MeIQx tespit edilmiştir. Tavada kızartma ve ızgara/barbekü yöntemleri kullanılarak pişirilen hamburger köftelerinde daha fazla PhIP ve MeIQx oluşmasının nedeni olarak fırında pişirmeye kıyasla aynı iç sıcaklığa daha kısa sürede ulaşıldığı belirtilmiştir [38].

Farklı kızartma yağları kullanılarak yapılan bir çalışmada tereyağı, zeytinyağı ve margarinde kızartılan kuzu etlerinden en yüksek mutajenik aktiviteyi tereyağında kızartılan örneklerin gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonucun tereyağının oleik ve linoleik asit içeriğinden kaynaklandığı belirtilmiştir [39].

2.3.1.4. Fırında pişirme yöntemi

Bu yöntemde et belirli sıcaklığa sahip sıcak hava içerisine bırakılır ve pişirme işlemi gerçekleştirilir. Fırında pişirme işleminde ısı gıdaya havadan aktarıldığı için, kızartma işlemindeki gibi direk temas olmadığından daha az HAA üretilir [7,40]. Fırınlanan et ürünlerinde ürünün çeşidi (parça büyüklüğü, yağ oranı) HAA oluşumu üzerine etkilidir. Yapılan bir çalışmada fırında rostolanan etlerde HAA'ların ağırlıklı olarak kabukta oluştuğu ve porsiyon başına HAA miktarlarının da daha düşük olduğu bildirilmiştir [7]. Yine başka bir çalışmada, tavuk ve sığır eti burgerleri konveksiyonel fırında pişirilmiş, buhar varlığında ısı iletimi ve ürünlerin yüzey sıcaklığının düşük olması ile daha az mutajenik aktivite meydana geldiği vurgulanmıştır [7].

2.3.1.5. Haşlama yöntemi

Etin belirli miktarda (et/su oranı dikkate alınarak) soğuk su içerisine konularak, suyun kaynatılması ile etin pişirildiği yöntem haşlama olarak bilinmektedir. İnsan sağlığının korunması, yeterli ve dengeli beslenmenin gerçekleştirilebilmesi için haşlama yöntemi önemli olup, pişirme kayıplarının ve heterosiklik aminler gibi kanserojen madde oluşumunun önlenmesinde de etkilidir [41].

2.3.2. Pişirme sıcaklığı ve süresi

Piştirme sıcaklığı ve süresi HAA oluşumu üzerine en etkili parametrelerdir. Piştirme sıcaklığının ise HAA oluşumunda en önemli parametre olduğu belirtilmiş ve piştirilen etlerin dış yüzeylerinin iç yüzeylerine göre daha fazla mutajenik aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Bu da; gıdanın içeriğindeki öncül bileşenlerin su ile birlikte gıdanın iç kısmından yüzeye doğru hareket etmesi ve yüzeyde sıcaklıkla daha fazla temas ederek HAA oluşumunu artırması ile açıklanabilmektedir [32,5].

Yapılan bir çalışmada, AIA' ların oluşumu üzerine sıcaklığın süreden daha etkili olduğu bildirilmiştir [42]. Yine başka bir çalışmada, AIA' ların konsantrasyonlarının ısı işlem sıcaklığı ile arttığı tespit edilmiş, oluşmalarından önce bir lag fazına sahip oldukları ve bu lag fazının karışım veya et yüzeyinin 100–150 °C' ye ulaşması için gereken süre ile ilgili olabileceği rapor edilmiştir [42].

Yapılan birçok çalışmada piştirme sıcaklığı ve süresinin artması ile oluşan HAA miktarının arttığı belirtilmiştir. Yüksek sıcaklık ve uzun piştirme süreleri kullanılarak yapılan çalışmalarda oluşan PhIP miktarının MeIQx miktarından yüksek olduğu tespit edilmiştir [7].

Knize vd. (1994) tarafından yapılan bir çalışmada kırmızı etten hazırlanan köfteler 150, 190, 230 °C sıcaklıklarda, 2 ile 10 dakika aralığındaki sürelerde kızartılmış ve oluşan MeIQx, PhIP, DiMeIQx ve IQ miktarlarının piştirme süresi ve sıcaklıkla arttığı tespit edilmiştir [39].

Kızartma sıcaklıklarının düşük olduğu durumlarda tava kalıntılarındaki HAA miktarı, etten tavaya kütle ve öncüllerin geçişine bağlı olarak ürünün kabuğundaki HAA miktarından daha yüksek olmaktadır [7].

Skog ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 19 farklı et tipi ile çalışılmış farklı sıcaklık (150, 175, 200 ve 225 °C) ve sürelerde (2,5 ile 11 dakika aralığındaki) etler kızartılarak oluşan MeIQx, DiMeIQx ve PhIP miktarları incelenmiştir. HAA oluşumunda en etkili parametrenin sıcaklık olduğu saptanmıştır [36].

Jägerstad ve Skog tarafından yapılan başka bir çalışmada fenilalanin, kreatinin ve glikoz ile hazırladıkları sıvı model sisteminde sıcaklığı 180 °C'den 225 °C'ye yükselttiklerinde PhIP oluşumunun arttığını göstermişlerdir [43].

Et ve et ekstraktları üzerinde yapılan çalışmalarda mutajenliğin 100 °C'de başladığı ancak bu sıcaklıkta mutajenliğin tanımlanamadığı belirtilmiştir. Mutajen

bileşiklerin 150 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda oluşmaya başladığı ve AIA konsantrasyonlarının işleme sıcaklığı ile arttığı belirtilmiştir [32].

2.3.3.Kreatin içeriği

Kreatin, kreatin fosfat şeklinde omurgalı hayvanlarda (sığır, koyun, keçi, tavuk, domuz) kesimden sonra enerji oluşturmaktadır. Kreatin fosfat enzimatik olarak parçalanarak serbest kreatine dönüşür ve kaslar ortalama % 0.4 oranında kreatin içerirler. HAA' ların oluşumunda öncü bileşikler arasında yer alan kreatin pişirme boyunca serbest aminoasitler ve şekerler ile reaksiyona girer. Yani, etin mutajenik aktivitesinin temelinde yer alarak, ısıtım işlemi boyunca AIA' ların imidazo kısmını oluşturup kreatinine dönüşür [23]. Kreatinin HAA oluşturabilmesi için, yüksek sıcaklık ve süre, ürünün su içeriği, ürünün glikojen ve aminoasit miktarı ve hammadde de bulunan kreatin miktarı etkilidir. Sakatatlar, peynir, fasulye vb. bakliyatlar ve karides gibi su canlılarındaki kreatin miktarı az olduğundan ya da kreatin içermediklerinden HAA oluşumu adı geçen gıdalarda sığır, koyun, keçi ve tavuk etine göre daha azdır [44]. Yüksek sıcaklığın kreatin miktarında azalışa, kreatinin miktarında ise artışa neden olduğu belirtilmektedir [42]. Yine, kreatininin aminoasitler ve glukoz ile ısıtıldığı zaman kreatinden yaklaşık % 50 daha fazla mutajen oluşturduğu tespit edilmiştir [45].

2.3.4.Etin kimyasal kompozisyonu

Genel olarak ette ortalama % 75 su, % 18,5 protein, % 3 yağ, % 1,5 protein tabiatında olmayan azotlu bileşikler, % 1 karbonhidrat ve % 1 inorganik madde bulunur.

2.3.5.Yağ içeriği

Yağlar et yüzeyinin sıcaklığının artmasını ve et içerisine etkili bir şekilde yayılmasını sağlamaktadır. Yağların oksidasyonu sonucu aldehitler ve ketonlar başta olmak üzere, alkoller, organik asitler ve N-heterosiklikler oluşur. Bu serbest radikallerin HAA'ların oluşumuna katkı sağladığı bildirilmiştir [33].

Parihar vd. (1981) tarafından yağların mutajen oluşumu üzerindeki etkisinin araştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada, model sisteme eklenen yağın MeIQx oluşumunu yaklaşık olarak iki kat artırdığını ve lipidlerin Maillard reaksiyonu ile üretilen pirazinler ile diğer ürünlerin oluşumunu hızlandırdığını belirtmişlerdir [46].

Holtz vd. (1985) yağ içeriği %2,8-16,6 aralığında olan etlerin, fırında pişirilmesi ile en düşük mutajenik aktivitenin yağ oranı en yüksek olan ette olduğunu, yüksek yağ

içeriği ile daha etkin bir ısı transferi sağlanarak pişirme süresinin kısaldığını ve böylece düşük mutajenik aktivite oluştuğunu belirtmişlerdir [47].

2.3.6. Protein içeriği

HAA' ların oluşumunda protein içeriğinin önemli olduğu bilinmektedir. Mutajenik aktivite ilk olarak protein açısından zengin gıdalarda tespit edilmiştir [48] ancak model sistemlerde aminoasitler yerine proteinlerin ısıya maruz bırakılması durumunda mutajenik aktivite gözlenmemiştir. Model sistemler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda AIA'ların oluşumu için aminoasit veya kısa zincirli peptidlerin gerekli olduğu ve aynı mutajenik molekülün farklı aminoasitler tarafından oluşturulabileceği de belirtilmiştir [17, 32].

Koehler vd.'de (1969) yaptıkları araştırmada aminoasitlerin pirazinlerin oluşumunda azot kaynağı olarak görev yaparak IQ tipi bileşiklerin öncül maddesi olduğunu, pirazinlerin verimi ve türevlerinin de aminoasitlerle değiştiğini bildirmişlerdir [49].

2.3.7. Karbonhidrat içeriği

Yapılan çalışmalarda glikozun nispi miktarlardaki değişikliği ile daha yüksek HAA verimi elde edilmiştir. Mono ve disakkaritler, sığır etinde doğal oranlara benzer oranlarda kreatin ve aminoasitlerin yaklaşık yarısı kadar bir molar miktarda bulunduğu HAA oluşumunda optimum etki gözlenmiştir [7].

Manabe vd. (1992) tarafından yapılan bir çalışmada şeker miktarı arttıkça, HAA oluşumunun azaldığı belirtilmiştir [50]. Yapılan başka bir çalışmada, eti kıyma haline getirdikten sonra belirli miktarlarda glikoz, laktoz veya süt tozu ilave ederek kızartma yöntemi ile pişirmiş ve bu karbonhidratların HAA oluşumunda önemli derecede düşüş olduğunu rapor etmiştir [51].

2.3.8. Su içeriği

Su, gıdaların içerisinde suda çözünür öncüllerin taşınması açısından önemlidir ve pişirme sırasında suda çözünebilir öncüller, su ile birlikte gıdaların yüzeyine doğru göç eder. Etin kıyılmasıyla hücresel yapının bozulmasına bağlı olarak kıyılmış etten tepsiyeye suda çözünür öncüllerin sızması, bütün ete göre daha kolaydır ve bu da HAA oluşumunu etkilemektedir [7].

Gıdaların su içeriklerinin HAA oluşumunu azaltabileceğine yönelik bir çalışmada yüksek su içeriğine sahip bir sosis türünde diğer et türlerine oranla daha düşük HAA oluşumu tespit edilmiş ve bu durum ürünün sahip olduğu yüksek su içeriği ile açıklanmıştır. Yüksek su içeriğinin daha yavaş ve dengeli sıcaklık yükselişi sağladığı, uygulanan ısı işlemi ile enerjinin öncelikle yapıdan suyu uzaklaştırmak için kullanılacağı ve böylece ürün sıcaklığının yüksek değerlere daha geç çıkacağı belirtilmektedir [33].

2.3.9. Diğer faktörler

Endüstriyel gıdalar, ürün güvenliğinin sağlanması amacıyla çeşitli gıda katkı maddelerini içermektedir. Bununla beraber gıdaların bileşiminde indoller, metal iyonları da bulunmaktadır ve bunların HAA oluşumu üzerinde artırıcı veya azaltıcı etkilerinin olduğunu söylemek mümkündür [7].

Antioksidanlar gıdalarda oksidasyonun önlemesi amacıyla kullanılmaktadırlar. Farklı etki mekanizmasına sahip olup, serbest radikal oluşumunu önleyen grup HAA oluşumu üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir [7].

Antioksidanların kullanımının HAA oluşumunu önlediği veya azalttığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir [52]. Barbes (1983) kıyma haline getirilmiş ete karıştırılan Butillenmiş Hidroksi Anitol (BHA)'nın IQ oluşumunu % 40 oranında azalttığını ve başka bir çalışmada Pearson (1992), BHA'nın MeIQx miktarını % 56 oranında azalma sağladığı bildirilmiştir [53].

Yapılan çalışmalarda indirgen özellik göstererek oksidasyon oluşumunu engelleyen gıda katkılarının yine HAA oluşumunu azalttığı bildirilmektedir. Chen vd (1992) askorbik asit ve E vitaminin kıyılmış etin kızartılması sırasında IQ, MeIQx ve 4,8-DiMeIQx oluşumunu inhibe ettiği ve indirgeyici ajanların, şelat oluşturan ajanlara kıyasla HAA oluşumunun engellenmesinde daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir [7].

Ayrıca antioksidan etkiye sahip bileşenlerce zengin baharat ve bitki ekstraktları kullanımının da HAA oluşumunu engellendiği bilinmektedir. Öz ve Kaya (2011) %30 yağlı köftelerde karabiber kullanımının HAA oluşumunda inhibitör etkisini inceledikleri çalışmalarında karabiberin %48,8-%65,8 arasında HAA oluşumunu inhibe ettiğini rapor etmişlerdir [41]. Öz (2006) pirzola ve köfteye kırmızıbiber, karabiber, kekik, defne, tuz ve sarımsak ilavesinin HAA oluşumunu büyük oranda engellediğini tespit etmiştir [32]. Murkovic vd. (1998) HAA oluşumu üzerine baharatların etkisini belirlemek amacıyla

sığır etinden yapılan köfte örneklerine eklenen baharatların (biberiye, kekik, sarımsak, adaçayı vb.) HAA oluşumunu %60 azalttığını tespit etmişlerdir [54].

Pişırmadan önce gıdaları ekmek kırıntıları ile kaplamak, kaplamanın yarattığı yalıtım etkisinden dolayı HAA oluşumunu azaltabilmektedir [7].

Bazı araştırmacılar diyet lifleri, glikozitler ve klorofil antimutagenik etkisi olduğunu belirtmişlerdir [55].

Marinasyonun da HAA konsantrasyonlarını değiştirebilen bir yöntem olduğu savunulmuş ve bazı çalışmalarla, ızgaradan önce marine edilen tavuklarda HAA seviyelerinin düştüğünü gösterilmiştir [7].

Öncüllerin taşınması tuz, soya proteini, nişasta gibi su bağlayıcı bileşenlerin ilavesiyle sınırlandırılabilir [7].

Kızartmadan önce sığır eti köftelerine eklenen soya proteini konsantresi ve nişastanın mutajenik aktivitenin azalmasına katkı sağladığı görülmüştür [7].

Kreatinin, glisin ve glikozdan oluşan bir model sisteme demir (Fe^{+2} ve Fe^{+3}) ilavesinin IQx, MeIQx ve DiMeIQx oluşumunu iki kat artırdığı belirtilmiştir. Demir lipid oksidasyonunun düşük sıcaklıklarda iyi bilinen bir katalizörüdür. MeIQx oranındaki artışın demir katalizli lipid oksidasyonu yoluyla oluşan serbest radikallere bağlı olduğu belirtilmiştir. Aksine bakır HAA verimi üzerinde artıcı etkide bulunmamıştır [56].

2.4.Heterosiklik Aromatik Aminlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi

Et ve ürünleri insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Ancak et ve ürünleri kendi besin içeriğinden (doymuş yağ oranının yüksek olması) ve bazı işleme hatalarından (nitrozamin oluşumu, PAH ve HAA) insan sağlığında çok ciddi tehlikeler oluşturabilir.

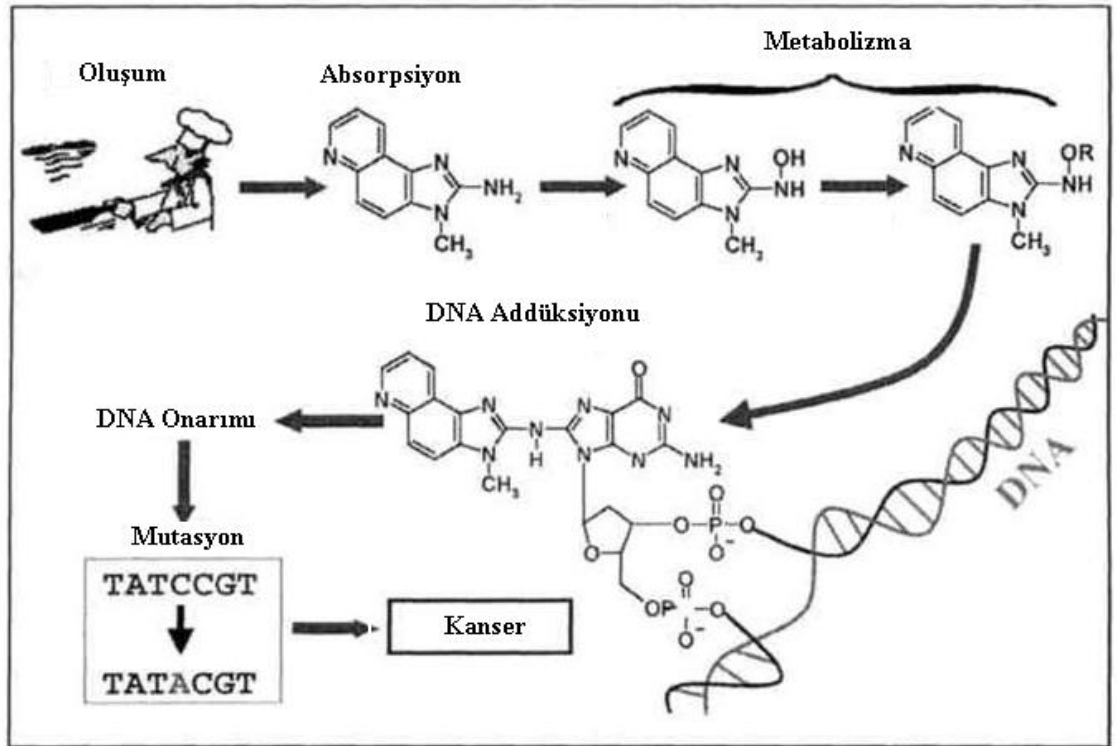
Amerikan Sağlık ve İnsan Kaynakları Departmanı tarafından MeIQ, MeIQx ve PhIP olmak üzere üç HAA muhtemel insan karsinojeni olarak listelenmiştir [57]. Uluslararası Kanseri Araştırma Merkezi (IARC) da uzun süreli çeşitli hayvan çalışmaları, in vivo ve in vitro genotoksisite testlerine dayanarak pişmiş gıdalarda bulunan bazı HAA'ların 2A ve 2B sınıfı muhtemel ve mümkün insan karsinojeni olduğunu belirtmiştir [5].

HAA'ların çeşitli organ ve dokularda karsinojenik ve mutajenik etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir. HAA'lar tüketimden sonra, gastrointestinal kanaldan emilerek, farklı bileşiklere metabolize olurlar (Şekil 2.8.). HAA'ların, sitotoksik,

HAA'ların mutasyonları indükleme olasılığı, kansere olan duyarlılığı

bağırsak ve prostat kanserlerine sebep olduğu bildirilmiştir [60]. Yine yapılan başka bir çalışmada PhIP'in meme kanserine yol açtığının insanlar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda da ortaya çıktığı belirtilmiştir [61]. Yüksek miktarlarda pişmiş köfte, tütülenmiş et ve biftek tüketen kadınların meme kanseri riskinin 4,62 kat arttığı tespit edilmiştir [33].

Layton vd. (1995) tarafından yapılan araştırmada mide kanseri ile et tüketimi arasında bir ilişki olduğu ve mide kanseri riskinin haftada dört ya da daha sık sığır eti tüketenlerde, daha az tüketenlere oranla iki kat arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca HAA'ların kanserojen potansiyellerinin $IQ > DiMeIQx > MeIQx > PhIP > A\alpha C$ şeklinde olduğu belirtilmiştir [62]. Buna karşılık kemiriciler üzerinde yapılan çalışmalarda PhIP'in prostat kanserine sebep olduğu belirlenmiştir. PhIP'in DiMeIQx VE MeIQx'e göre daha yüksek mutajenik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [33].



Şekil 2.9. HAA metabolizması sonucu kanser oluşumunun şematik gösterimi [63]

Sinha vd. (1999) yaptıkları bir çalışmada, iyi pişirilmiş kırmızı et tüketimine bağlı olarak alınan her 10 gram etin kolon adenomu riskini %29 oranında artırdığını saptamıştır [64].

Yapılan bir çalışmada çok pişirilmiş et tüketiminin kolon kanseri riskini 3,5 kat daha fazla tetiklediği belirtilirken, farklı bir araştırmada böyle bir tetikleme olmadığı saptanmıştır [36].

HAA'ların hayvanlarda kanser başlangıcı üzerindeki etkisi iyi tanımlanmasına karşın insanlarda tümör oluşumda etkisi çok az bilinmektedir [65]. HAA alımı ile insan kanseri riski arasındaki ilişkide etlerin alım miktarı, pişirilme seviyeleri ve pişirme yöntemleri önem taşımaktadır. Yiyecek hazırlama yöntemleri, alınacak HAA'ların türünü ve miktarını belirlemektedir. HAA'ların alınması, bireysel beslenme ve pişirme tercihleri nedeniyle günden güne büyük ölçüde değişmektedir [15]. Bununla birlikte bu bileşiklerin günlük kabul edilebilir tüketim miktarının kişi için 0-15µg/gün aralığında değiştiği belirtilmektedir [66]. Bu bileşiklerle birlikte kanserin etiyolojisine katkıda bulunabilecek yüksek yağ veya tuz alımı, fiziksel aktivite, genetik faktörler ve birçok farklı faktör bulunmaktadır [15].

İnsan kanseri riskinin özellikle diyetteki HAA tüketimine bağlı olduğu hipotezini destekleyen yeterli bilimsel kanıt bulunmamaktadır. Bu genotoksik bileşiklerin gerçekten insan kanserine neden olduğunu ispatlamak için yeterli bilimsel kanıt bulunmadığından, pişmiş gıdalardaki varlığı için herhangi bir sınır belirlenememiştir. Ancak oluşumlarının ve tüketimlerinin en aza indirilmesi önerilmektedir. HAA'ların kanser epidemiyolojisi açısından insanlar üzerindeki etkisinin belirlenmesi için daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

Araştırmada kullanılan sığır eti köfteleri Sivas ilinde bulunan Yarışoğlu Et ve Et Ürünleri'nden temin edilerek soğuk zincir kırılmadan laboratuvara getirilmiştir.

Analizlerde kullanılan kimyasallar, ekstraksiyon kartujları ve HAA standartlarının marka ve kodları aşağıda belirtilmiştir.

- Sodyum Hidroksit; 06203, Sigma-Aldrich.
- Extrelut NT Paketleme Materyali; CAS No: 68855-54-9, 115092, Merck.
- Ekstraksiyon Kartujları; Oasis MCX (Water), 3cc (60 mg), Part No:186000254.
- Metanol; 34885, Sigma-Aldrich.
- Asetonitril; 412372000, Carlo Erba.
- Asetik Asit; 27225, Riedel-de Haën.
- Amonyum Hidroksit; 05003, Riedel-de Haën.
- Hidroklorik Asit, 30721, Riedel-de Haën.

Analizlerde kullanılan bütün kimyasallar ve çözeltiler analitik veya HPLC (High Performance Liquid Chromatography)-grade kalitesinde olup HAA analizinde kullanılan tüm çözeltiler 0.45µ'luk (milipore) filtreden geçirilerek kullanılmıştır.

HAA standartları ve CAS numaraları aşağıda verilmiştir:

- IQx (CAS No: 108354-47-8, 2-amino-3-metilimidazo[4,5-*f*]kinokzalin),
- IQ (CAS No: 76180-96-6, 2-amino-3-metilimidazo[4,5-*f*]kinolin),
- MeIQx (CAS No:77500-04-0, 2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-*f*]kinokzalin),
- MeIQ (CAS No:77094-11-2, 2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-*f*]kinolin),
- 4,8-DiMeIQx (CAS No: 95896-78-9, 2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5-*f*]kinokzalin),
- 7,8-DiMeIQx (CAS No: 92180-79-5, 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo[4,5-*f*]kinokzalin),
- 4,7,8-TriMeIQx (CAS No: 132898-07-8, 2-amino-3,4,7,8-tetrametilimidazo[4,5-*f*]kinokzalin)
- PhIP (CAS No: 105650-23-5, 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-*b*]piridin),
- AαC (CAS No: 26148-68-5, 2-amino-9*H*-pirido[2,3-*b*]indol),
- MeAαC (CAS No: 68006-83-7, 2-amino-3-metil-9*H*-pirido[2,3-*b*]indol)

Stok standart çözeltiler 100 µg/ml metanol konsantrasyonunda hazırlanarak ileri dilüsyonlara seyreltilerek kullanılmıştır. Araştırmada 4,7,8-TriMeIQx internal standart olarak kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Köfte örneklerinin hazırlanması

Deneysel örnek olarak, ticari olarak satışa sunulan ve sadece sığır eti ve tuz (%2) içeren köfteler kullanılmıştır (Sivas Köfte, 8 cm çap ve 1 cm kalınlık).

3.2.2. Pişirme şartları

Pişirme sıcaklık dereceleri ve süreleri yapılan ön çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. Pişirme işlemi için 150 °C, 200 °C, 250 °C'lik sıcaklıklar kullanılmıştır. Pişirme süreleri ise 5 dakika, 7,5 dakika ve 10 dakika olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Deneysel örnekler için kullanılan pişirme sıcaklıkları ve süreleri

Pişirme Sıcaklığı (°C)	Pişirme Süresi (dakika)
150	5
	7,5
	10
200	5
	7,5
	10
250	5
	7,5
	10



Şekil 3.1. Köfte örneklerinin pişirilmesi

Fırında (İnoksan FKG 042) analiz için belirlenen sıcaklık süre kombinasyonunda pişirilen köftelerin merkez sıcaklıkları ve fırın içi sıcaklıkları termocouple (Datalog Termometer, RS-232 ve Extech HD200) ile pişme süresi boyunca kayıt altına alınmıştır. Çalışmada 9 deneysel grup olup, 3 tekrardan oluşmuş ve her bir grup için 4 adet köfte örneği kullanılmıştır (9x3x4, toplam 108 adet köfte).

Piştirilen örnekler oda sıcaklığında soğutulduktan sonra ev tipi mikser ile homojenize edilerek alüminyum folyo içerisinde -18 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Ham yağ miktarının belirlenmesi

Homojenize edilmiş köfte örneklerinden paralelli çalışılarak, 3–5 g bir erlene tartılarak üzerine HCl ilave edilip 1 saat boyunca kaynatılmıştır. Sonra örnek üzerine 150 ml sıcak su eklenip süzgeç kâğıdından süzülüp, süzgeç kâğıdı rulo yapılarak ekstraksiyon kartuşu içerisine yerleştirilmiştir. Erlen ve huni, çözücü ile ıslatılmış pamuk ile silinip ekstraksiyon kartuşu içerisine atılmıştır. Bu kartuş ekstraksiyon cihazında ekstraksiyon başlığına yerleştirilerek, çözücü olarak dietileter ile yaklaşık 6 saat süreyle, ekstrakte edilmiş ve ekstraksiyon kartuşu daha sonra etüvde 105 ± 2 °C’ de 1 saat süreyle tutulup, ardından oda sıcaklığına soğutulduktan sonra tartılmıştır [33].



Şekil 3.2. Yağ miktarının belirlenmesinde kullanılan Soxhelet ekstraksiyon sistemi

3.2.4. Ham protein miktarının belirlenmesi

Örneklerin protein içerikleri, proteinlerin içindeki azotu esas alarak tayin işlemi gerçekleştiren toplam azot ve ham protein tayin metodu olan Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. Kjeldahl metodunda bulunan % N miktarı, örneğin azot/protein faktörü ($100/16=6.25$) ile çarpılarak % ham protein miktarı bulunmuştur [67].

3.2.5. pH değerinin belirlenmesi

Homojenize edilmiş köfte örneklerinden 10’ar g alınarak 100 ml distile saf su ilave edilerek homojenizasyon sağlanmış ve kalibre edilen pH metre ile ölçüm yapılarak değerler kaydedilmiştir [67].

3.2.6. TBARS değerinin belirlenmesi

Tarladgis (1960)' in uyguladığı yönteme göre yapılmıştır. Bu amaçla homojenize edilmiş örnekten tam 10 g örnek 0,1 mg duyarlı hassas terazide tartılarak, Kjeldahl cihazının tüplerine aktarılmış, daha sonra örneğin üzerine 97,5 ml distile su ve 2,5ml (1:2)'lik HCl   zeltisi ilave edilerek destilasyon işlemine geçilmiş ve 200 ml destilat elde edilinceye kadar kaynatılmaya devam edilmiştir. Kaynatma işleminin sona ermesinin ardından destilat karıştırılarak, 5ml' si cam kapaklı deney tüpüne aktarılmış ve üzerine de %90' lık 100 ml glacial asetik asit içerisinde 0,2883 g çözdürülmüş 5ml TBA reaktifi ilave edilerek tüpün kapağı kapatılıp, bir vorteks kullanılarak karıştırılmıştır. K r için ise bir başka deney tüpüne 5ml TBA reaktifi ve 5 ml distile su ilave edilerek kapağı kapatılıp yine vorteksle karıştırıldıktan sonra, tüpler kaynayan su banyosunda 35 dakika tutulup, soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra spektrofotometre tüplerine aktarılarak 538 nm dalga boyunda köre karşı, optik dansitesi okunmuştur. Elde edilen dansite değeri ise 7,8 ile çarpılarak 1000 g örnekteki mevcut malonaldehit miktarı mg olarak saptanmıştır.

3.2.7. HAA miktarının belirlenmesi

3.2.7.1. HAA ekstraksiyonu

HAA'ların ekstraksiyonu Messner and Murkovic (2004)'in metodunda, bazı modifikasyonlar yapılarak   z (2006)' n metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Metoda göre; 1 g et örneğı behere tartılarak üzerine 12 ml 1 M NaOH ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde 1 h 500 rpm devirde karıştırılmıştır. Karıştırma sonunda 10 g Extrelut NT paketleme materyali ilave edilerek spatül yardımı ile iyice karıştırılmıştır. Oasis MCX kartujları vakum manifold sistemine bağlanarak  n şartlandırma işlemine tabi tutulmuştur. Oasis MCX kartujlar üzerine ekstraksiyon kartujları bağlanmış ve rezervuar içine paketleme yapılmıştır. Ardından etil asetat, hidroklorik asit, metanol ile kartujlar yıkanmış ve örneklerdeki HAA'lar, %95 metanol: %5 NH     zeltisi ile el e edilmiştir. Örnekler HPLC analizine kadar -18 C'de muhafaza edilmiş, analizden 1 gün önce 50 C'lik etüvde kurutulmuştur. Vial  zerine 100  l internal standart içeren metanol ilave edilerek HPLC analizine başlanmışır.

3.2.7.2. HAA'ların HPLC ile analizi

HAA'ların miktar tayinleri; Diode Array Dedektör (DAD-3000), auto sampler (WPS-3000), kolon fırını (TCC-3000) ve pompa (LPG-3400SD) içeren HPLC (Thermo

Ultimate 3000, Thermo Scientific, USA) ile yapılmıştır. Ayırma işlemi 35 °C' de Acclaim™ 120 C18 3mm (4.6x150 mm) Tosoh Bioscience GmbH (Stuttgart, Germany) ters fazlı analitik kolonunda; Solvent A (Metanol/Asetonitril/Su/Glasiyel asetik asitin 14/8/76/2 oranında karıştırılmasıyla elde edilen çözeltinin %25'lik NH₃ ile pH'sının 5'e ayarlanması ile elde edilmiştir) ve Solvent B (Asetonitril) çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

HAA'ların identifikasyonu, UV spektrumları standart olarak bilinen HAA'ların alıkonma süreleri ile örneklerin alıkonma süreleri karşılaştırılarak yapılmıştır. Örneklerdeki HAA'ların konsantrasyonları, farklı konsantrasyonlarda (10 ng/g, 7,5 ng/g, 5 ng/g, 2,5 ng/g, 1 ng/g, 0,5 ng/g) standartların yürütülmesi ile hesaplanmıştır. Kantitatif belirleme, harici kalibrasyon eğrisi metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. HAA standart eğrilerinin regresyon katsayılarının, analizi yapılan HAA'ların tamamında 0.9999'un üzerinde olduğu belirlenmiştir.

3.2.8. İstatistiksel analiz

Bu araştırmada, verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) testinden yararlanılmıştır. Ortalamaların ayrıştırılması, Fisher'in Least Significance Difference (LSD) metodu kullanılarak yapılmıştır. İstatistiki analizlerde 0,05'lik önem düzeyi ($p<0,05$) olarak dikkate alınmıştır. Bütün analizler Statistical Analysis System (SAS) programından yararlanılarak gerçekleştirilmiştir (SAS, 1999).

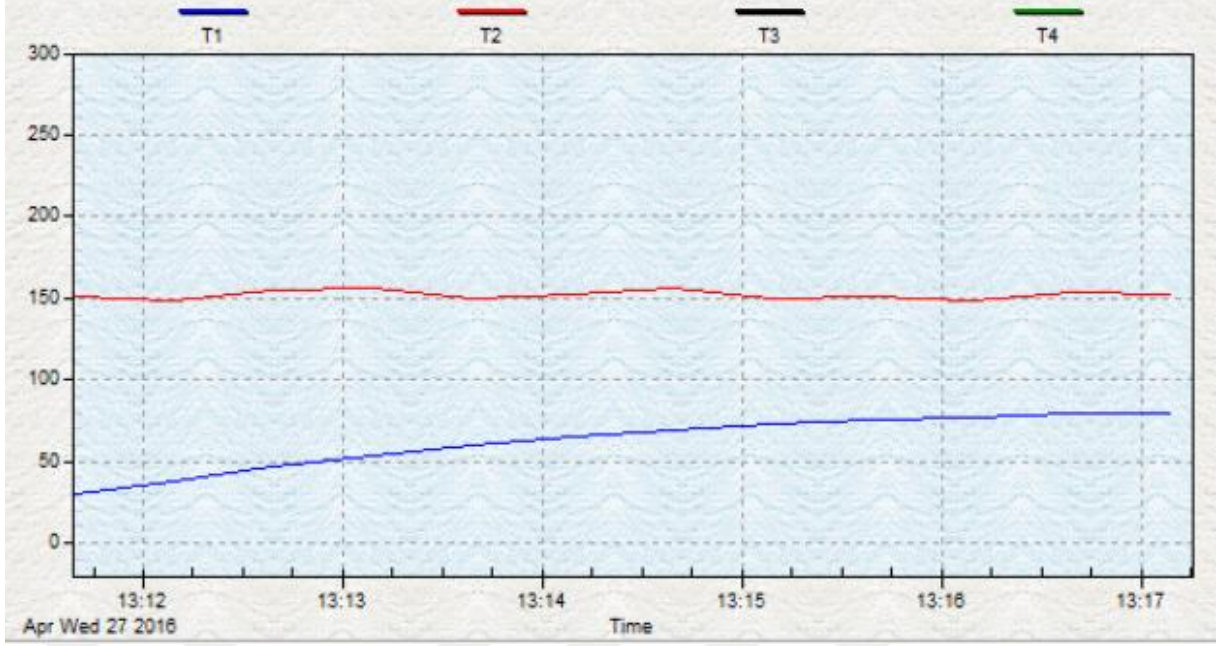
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Köfte Örneklerinin Isıl İşlem Bilgileri

Üç farklı sıcaklık ve süre kombinasyonu ile pişirilen köfte örnekleri üzerinde her sıcaklık-süre kombinasyonu için üç tekerrür ile çalışmıştır. Her köfte örneği için verilen kod numarası, pişirme sıcaklığı, pişirme süresi ve pişirilen köftelerin son ulaştığı iç sıcaklık aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.1. Köfte örneklerinin kod numarası, uygulanan sıcaklık-süre ve merkezi sıcaklık değerleri

Örnek Kodu	Pişirme Sıcaklığı (°C)	İç Sıcaklık (°C)	Pişirme Süresi(dk)
A	150	78,2	5
B	150	85,1	7,5
C	150	92,5	10
K	200	88,8	5
L	200	97	7,5
M	200	97,5	10
X	250	96,8	5
Y	250	98,5	7,5
Z	250	100,3	10



Şekil 4.1. 150°C’de 5 dakika pişirilen örneğin merkez sıcaklığı ve fırın sıcaklığının süreyle değişimi

4.2. Yağ Miktarı Sonuçları

Isı işlemi uygulanmamış örneklerdeki yağ miktarı ortalama %15.8 olarak tespit edilmiştir. Deneysel örneklerde sıcaklık süre artışına bağlı olarak örneklerdeki yağ miktarında değişiklik istatistiki olarak farklı bulunmamıştır ($p>0.05$). 150 °C ısı işlemi uygulanan deneysel örneklerde ortalama %15.1, 200 °C ısı işlemi uygulanan gruplarda ortalama % 14.9 ve 250 °C ısı işlemi uygulanan gruplarda ortalama % 15.2 olarak tespit edilmiştir. Deneysel örneklere ait yağ miktarı sonuçları Çizelge 4.2.’de verilmiştir.

4.3. Protein Miktarı Sonuçları

Isı işlemi uygulanmamış örneklerde ham protein miktarı % 32.13 olarak tespit edilmiş ve farklı süre ve sıcaklıklarda pişirilen örneklerin protein miktarları Çizelge 4.2.’de verilmiştir. Süre ve sıcaklık artışı dikkate alındığında 250 °C’ de 10 dakika pişirilen köfte örneklerinde su kaybına bağlı olarak protein konsantrasyonu %36.19 değerine ulaştığı tespit edilmiştir. 150 °C ve 200 °C sıcaklıkta pişirilen örneklerde istatistiki fark önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).

4.4. pH Değeri Sonuçları

Isı işlemi uygulanmamış örneklerde pH değeri 5.3 olarak tespit edilmiştir. Uygulanan ısı işlemine ve süresine bağlı olarak pH değerinde değişme görülmemiştir (izelge 4.2.).

4.5. Tiyobarbitürik Asit Miktarı Sonuçları

Isı işlemi uygulanmamış örneklerde 0.13 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Deneyssel örneklerde tiyobarbitürik asit miktarında değişme görülmemiş ve örneklerle ait TBARs değerleri izelge 4.2.'de verilmiştir ($p>0.05$).

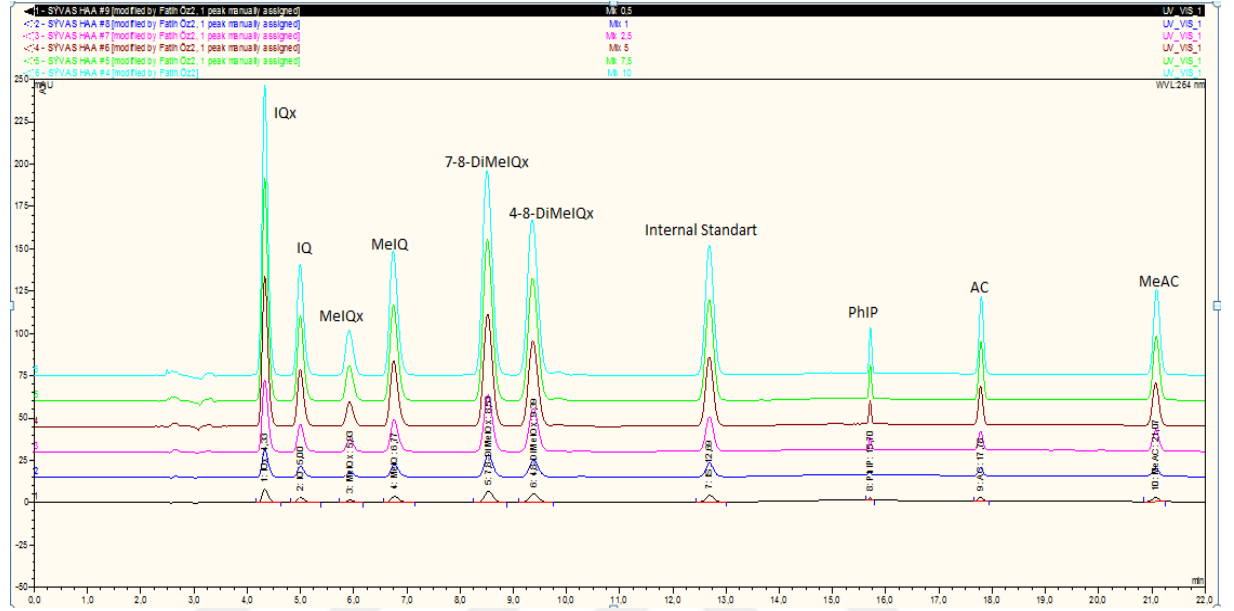
Çizelge 4.2. Örneklerle ait yağ, protein, pH ve TBARS değeri sonuçları

Gruplar	Analizler			
	Yağ (%)	Protein (%)	pH	TBARs (MDA mg/kg)
	O±S	O±S	O±S	O±S
A	14±1.13 ^a	33.51±0.71 ^a	5.28±0.96 ^a	0.12±0.02 ^a
B	14.3±1.56 ^a	32.19±1.03 ^a	5.29±0.87 ^a	0.14±0.05 ^a
C	15.1±0.98 ^a	34.15±0.86 ^a	5.33±0.35 ^a	0.16±0.02 ^a
K	14.4±2.01 ^a	35.17±0.98 ^a	5.31±0.46 ^a	0.19±0.06 ^a
L	14.9±1.16 ^a	36.11±1.11 ^a	5.26±0.63 ^a	0.15±0.05 ^a
M	14.7±0.83 ^a	35.41±0.96 ^a	5.33±0.29 ^a	0.14±0.02 ^a
X	15.2±2.26 ^a	36.10±0.76 ^a	5.21±0.33 ^a	0.24±0.03 ^a
Y	14.9±1.93 ^a	35.93±0.98 ^a	5.37±0.51 ^a	0.18±0.02 ^a
Z	15.2±1.43 ^a	36.19±1.14 ^a	5.30±0.69 ^a	0.19±0.05 ^a

a,b: Aynı satırda, farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$). O: ortalama, S: Standart sapma

4.6. HAA İçeriği Sonuçları

Farklı konsantrasyonlarda (10 ng/g, 7,5 ng/g, 5 ng/g, 2,5 ng/g, 1 ng/g, 0,5 ng/g) hazırlanan HAA mix stok solüsyonlarının piklerinin geliş zamanları Çizelge 4.2.'deki gibi belirlenmiş ve HPLC kromatogramı Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Mix stok solüsyonlarının HPLC kromatogramı

Çizelge 4.3. HPLC'de HAA mix stok solüsyonu piklerinin geliş zamanları

HAA	Süre (dk)
IQx	4,33
IQ	5
MeIQx	5,93
MeIQ	6,77
7,8-DiMeIQx	8,53
4,8-DiMeIQx	9,39
IS (4,7,8-TriMeIQx)	12,69
PhIP	15,70
AαC	17,78
MeαAC	21,07

Belirli konsantrasyonlardaki HAA stok solüsyonlarından belirlenen Sinyal/Gürültü (S/N) oranlarına göre hesaplanan LOD (Limit of detection=3) ve LOQ (Limit of quantification=10) değerleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.4. Analiz edilen HAA'ların S/N oranlarına göre LOD ve LOQ değerleri(ng/g)

HAA	LOD	LOQ
IQx	0.004	0.013
IQ	0.009	0.029
MeIQx	0.024	0.081
MeIQ	0.014	0.047
7,8-DiMeIQx	0.005	0.018
4,8- DiMeIQx	0.008	0.025
PhIP	0.025	0.085
AαC	0.012	0.039
MeAαC	0.001	0.035

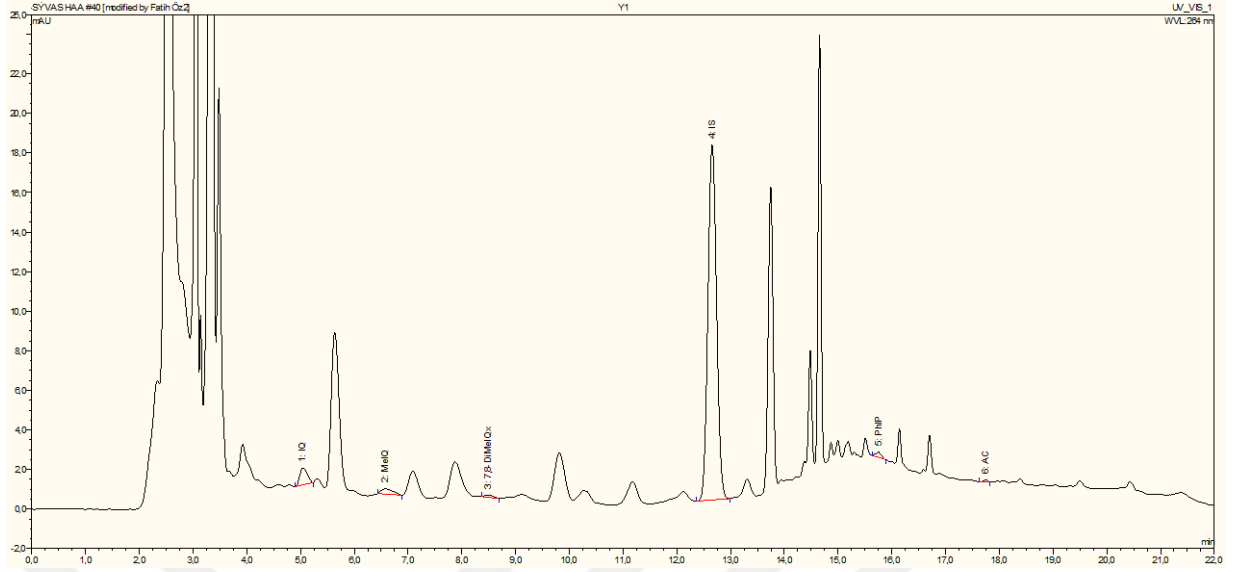
Araştırmada 9 grup için yapılan üç tekerrürün ortalama sonuçları alınmış, farklı sıcaklık ve farklı sürelerde fırında pişirilen köfte örneklerinin HAA miktarları aşağıdaki çizelgede ayrıntılı olarak verilmiştir.

Sonuçlara göre; 7,8-DiMeIQx, 4,8-DiMeIQx, AαC ve MeAαC bileşikler için hiçbir sıcaklık ve sürede sayısal değer olarak tespit edilememiştir. Diğer HAA'lar pişirme sıcaklığı ve süresine bağlı olarak değişen miktarlarda tespit edilmiştir.

nd: tespit edilemedi (<LOD), nq: miktarı belirlenemedi (LOD<...<LOQ).

Çizelge 4.5. Deneysel köfte örneklerinin farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilmesi sonucu oluşan HAA miktarları (ng/g)

Sıcaklık (°C)	150			200			250		
Süre (dk)	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10
IQx	0,05	0,06	0,03	nd	nd	nd	nd	nd	nd
IQ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,15	0,11
MeIQx	nq	0,08	nq	0,17	nd	nd	nd	nd	nd
MeIQ	nq	nq	nd	nd	nd	nd	nq	0,05	nd
7,8-DiMeIQx	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq
4,8-DiMeIQx	nd	nq	nd	nd	nd	nd	nd	nq	nd
PhIP	nd	nd	0,18	nd	nd	nd	nd	0,22	0,17
AaC	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nq
MeaAC	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nq
Toplam HAA	0,05	0,14	0,21	0,17	-	-	-	0,42	0,28



Şekil 4.3. Fırında 250 °C’de 7,5 dk pişirilen örneğe ait HPLC kromotogramı

4.6.1. IQx içerikleri

Analizi yapılan örneklerde nd-0,06 ng/g arasında IQx bileşiği tespit edilmiştir. En yüksek IQx içeriği; 0,06 ng/g değeri ile konveksiyonel fırında 150 °C’de 7,5 dk süre ile pişirilen köfte örneklerinde belirlenmiştir.

Kızıl (2012) yaptığı çalışmada farklı sıcaklıklarda fırında pişirilen köfte örneklerinin IQx içeriklerinin nd-0,60 ng/g arasında değiştiğini ve en yüksek IQx içeriğinin 150 °C’de 90 dk pişen köfte örneğinde olduğunu saptamıştır [5].

Öz vd. (2010) fırında pişirme yöntemi ile 200 °C’de, 3-12 dakikalık sürelerde pişirdikleri sığır eti örneklerinde IQx belirleyememişlerdir [68].

Zikirov (2014) farklı yöntemlerde pişirdiği sığır eti örneklerinde nd-0,156 ng/g arasında IQx bileşiği belirlemiştir [69].

Turesky vd. (2005) barbeküde pişirdikleri ve tavada kızarttıkları sığır eti bifteklerinde sırasıyla 0,2 ng/g ve 0,03 ng/g seviyelerinde IQx tespit etmişlerdir [70].

Tespit edilen IQx miktarlarının literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir.

4.6.2. IQ içerikleri

Bu çalışmada, konveksiyonel fırın ile pişirilen köfte örneklerinin nd-0,15 ng/g aralığında IQ bileşiği içerdiği belirlenmiştir. Saptanan en yüksek IQ içeriği; 250 °C’de

7,5 dakika pişirilen köfte örneklerinde (0,15 ng/g) tespit edilmiştir. Köfte örneklerinin IQ içerikleri incelendiğinde 150 °C’de ve 200 °C’de hiç IQ bileşiği oluşmadığı 250 °C’de 7,5 ve 10 dk pişirilen köftelerde sırasıyla 0,15 ng/g ve 0,11 ng/g miktarlarında IQ bileşiği tespit edildiği görülmektedir.

Kızıl (2012) fırında farklı sıcaklıklarda pişirdiği köfte örneklerinde nd-1,26 ng/g arasında IQ tespit etmiştir. En yüksek IQ değerini fırında 150 °C’de 20 dk pişen köftede tespit etmiştir [5].

Zikirov (2014) çalışmasında sous-vide pişirme yöntemi ile 75 °C ve 85 °C’de pişirdiği örneklerde ve tavada kızartma (75 °C iç sıcaklık) ile pişirdiği örneklerde IQ bileşiği tespit edememiştir. Ancak tavada 95 °C iç sıcaklığa kadar pişirdiği örneklerde ise 0,037 ng/g IQ bileşiği tespit etmiştir [69].

Balogh vd (2000) yaptıkları çalışmada, 175 °C ve 200 °C’de (12 ve 20 dk) pişirdikleri köfte örneklerinde sırasıyla 0,7 ng/g, 1,3 ng/g, 1,7ng/g ve 4,4 ng/g olarak belirlemişlerdir [71].

Abdulkarim ve Smith (1998) 200-240 °C de 7-12 dk barbeküde pişirdikleri sığır eti örneklerinde 4,11 ng/g değerine kadar IQ tespit etmişlerdir [5].

Sinha (1998) fırında farklı sıcaklıklarda pişirdiği sığır eti örneklerinde IQ bileşiği tespit edememiştir [38].

Öz (2006) çalışmasında 225 °C kızartılan pirzola örneklerinde 0,86 ng/g IQ tespit etmiş, 175 °C ve 200 °C’ de pişirme sıcaklıklarındaki örneklerde tespit edememiştir [32].

4.6.3. MeIQx içerikleri

Analiz edilen örneklerin MeIQx içeriğinin nd-0,17 ng/g arasında olduğu belirlenmiştir. En yüksek MeIQx içeriği (0,17) konveksiyonel fırında 200 °C sıcaklıkta 5 dk pişirilen köfte örneklerinde tespit edilmiştir. 150 °C’de 7,5 dk pişirilen örneklerde ise 0,08 ng/g MeIQx bileşiği tespit edilmiştir. Diğer Örneklerin hiçbirinde MeIQx bileşiği tespit edilememiştir.

Kızıl (2012) farklı sıcaklık ve sürelerde fırında pişirilmiş köfte örneklerinde 0,14-0,22 ng/g arasında MeIQx tespit etmiştir. En yüksek MeIQx içeriğinin 150 °C’de 90 dk pişen köfte örneklerinde olduğunu belirtmiştir. Analiz sonuçları karşılaştırıldığında aynı sıcaklıkta fırında pişen köftelerin MeIQx içeriklerindeki farklılığın pişirme süresinden kaynaklandığı, pişirme süresi uzadıkça MeIQx miktarının da artacağı söylenebilir [5].

Başka bir araştırmada tavada ve fırında pişirilen domuz eti örneklerinin MeIQx miktarları kızartma ile pişirilen örneklerde 0,4-4,3 ng/g fırında pişirilen örneklerde ise 0-4 ng/g arasında tespit edilmiştir [22].

Öz ve ark. (2010) fırında 200 °C’de 3-12 dk pişirdikleri sığır eti örneklerinde MeIQx bileşiğini tespit edemediklerini belirtmişlerdir [68].

Fırında pişirme için HAA miktarları genellikle düşük seviyelerde olsa da Ricling vd (1998) yaptıkları bir çalışma da fırında pişirdikleri domuz eti örneklerinin MeIQx miktarını 3,2 ng/g olarak tespit etmişlerdir. Bu değerlerin fırında pişirme işlemi için bildirilen en yüksek değerler olduğu belirtilmektedir [34].

Turesky vd (1988) yaptıkları çalışmada 275 °C’de 5, 10 ve 15 dk kızartılan köftelerde 2,7 ng/g, 4,2 ng/g ve 12,3 ng/g MeIQx bileşiği tespit etmişlerdir [72].

Hargraves ve Priza (1983) 191 °C’de 4 dk pişirilen sığır etinde 0,45 ng/g, Gross vd. (1989) 10 dk kızartılan sığır etinde 1,1-1,4 ng/g arasında MeIQx bileşiği tespit ettikleri belirtmişlerdir [32].

Balogh vd. (2000) 175 °C ve 200 °C’de (12 ve 20 dk) pişirdikleri köfte örneklerinde 175 °C’de sırasıyla 0,5 ng/g ve 0,8 ng/g, 200 °C’de ise sırasıyla 1,5 ng/g ve 4,2 ng/g MeIQx bileşiği tespit etmişlerdir. Sıcaklığın ve sürenin artması MeIQx bileşiğinin miktarının artmasına sebep olmuştur [71]. Analiz edilen köfte örneklerinin MeIQx sonuçları literatür sonuçları ile karşılaştırıldığında uyum sağladığı görülmektedir.

4.6.4. MeIQ içerikleri

Yapılan çalışmada köfte örneklerinde nd-0,05 ng/g arasında MeIQ bileşiği tespit edilmiştir.

En yüksek MeIQ miktarı 0,05 ng/g değeri ile fırında 250 °C’de 7,5 dk pişirilen köfte örneklerinde tespit edilmiştir.

Kızıl (2012) çalışmasında farklı sıcaklık ve sürelerde fırında pişirdiği köfte örneklerinde nd-4,65 ng/g arasında MeIQ bileşiği tespit etmiştir. En yüksek MeIQ değerini ise 150 °C’de 90 dk pişen köfte örneklerinde tespit etmiştir. Yine ızgara pişirme yöntemi uygulanan köfte örneklerinde ise nd-0,82 ng/g MeIQ bileşiği tespit edildiği belirtilmiştir [5].

Zikirov (2014) araştırmasında tavada kızartılan sığır eti örneklerinde nd-0,068 ng/g arasında MeIQ bileşiği tespit etmiştir [69].

Klassen vd. (2002) hamburger köftesi örneklerinde MeIQ içeriğinin 0,1 ng/g’ dan az olduğunu tespit etmişlerdir [73].

Öz (2006) çalışmasında 175 °C’de pişirilen pirzola örneklerinde 1,34 ng/g MeIQ bileşiği tespit etmiştir. Yine % 30 yağ içeren köftelerin 175, 200 ve 250 °C sıcaklıklarda pişirilen örneklerinde 175 °C’de MeIQ tespit edilemezken 200 °C’de 0,24 ng/g ve 250 °C’de 2,66 ng/g MeIQ bileşiği tespit edilmiştir [32].

Balogh vd. (2000) 175-225 °C’de 12-20 dk tavada kızarttıkları örneklerde 0,1-3,5 ng/g arasında MeIQ bileşiği tespit etmişlerdir [71].

Abdulkarim ve Smith (1998) 200 ve 240 °C’de ızgara edilen etlerde 0,38 ng/g MeIQ bileşiği tespit etmişlerdir [74]. Felton vd. (1994) yaptıkları çalışmada 200 °C’de 12 dakika pişirilen köfte örneklerinde MeIQ bileşiği tespit edememişlerdir [23].

4.6.5. 7,8-DiMeIQx içerikleri

Analizi yapılan bütün köfte örneklerinde 7,8-DiMeIQx bulunmuş ancak hiçbir örnekte miktarı belirlenememiştir (LOD<...LOQ).

Kızıl (2012) çalışmasında fırında pişirilen (farklı sıcaklık ve sürelerde) köfte örneklerinde nd-0,26 ng/g 7,8-DiMeIQx bileşiği tespit etmiştir. Izgara edilen örneklerde ise nd-0,13 ng/ seviyelerinde 7,8-DiMeIQx bileşiği tespit edilmiştir [5].

Öz vd. (2010) sığır eti örneklerinin fırında ve ısıtıcı plaka üzerinde 200 °C sıcaklıkta 2-8 dk pişirilmesi sonucu 7,8-DiMeIQx bileşiğini tespit edemediklerini belirtmişlerdir [68].

Zikirov (2014) yaptığı çalışmada sous-vide, haşlama, 180 °C’lik yüzey sıcaklığına ısıtılan teflon tavada 75 °C iç sıcaklığa kadar pişirilen sığır pirzola eti örneklerinde 7,8-DiMeIQx bileşiği tespit edememiştir. Tavada 95 °C iç sıcaklığa kadar pişirilen örneklerde ise 0,039 ng/g 7,8-DiMeIQx bileşiği tespit etmiştir [69].

Fay vd. (1997) ızgara yapılan et örneklerinde 0,2 ng/g 7,8-DiMeIQx bileşiği tespit etmişlerdir [75].

Busqet vd. (2004) 180-210 °C’de ızgara edilen bifteklerde 7,8-DiMeIQx bileşiğini tespit edememişlerdir [76].

4.6.6. 4,8-DiMeIQx içerikleri

Analiz edilen örneklerin hiçbirinde 4,8-DiMeIQx tespit edilememiştir. Bazı örneklerde bulunmuş ancak tespit edilebilir değerin altında olduğundan miktarı belirlenememiştir.

Kızıl (2012) farklı sıcaklık ve sürelerde fırında pişirilen köfte örnekleri üzerinde yaptığı analizlerde 30 köfte örneği arasından sadece bir örnekte 0,15 ng/g 4,8-DiMeIQx tespit etmiştir [5].

Öz (2006) 175, 200 °C sıcaklıklarda kızartılan (15 dk) pirzola örneklerinde 4,8-DiMeIQx tespit edemezken ve 225 °C sıcaklıkta kızartılan (15 dk) pirzola örneklerinde 1,77 ng/g 4,8-DiMeIQx tespit etmiştir [32].

Öz vd. (2010) yaptıkları çalışmada fırında 200 °C’de 3-12 dk pişirdikleri sığır etinde 4,8-DiMeIQx bileşiğini tespit edemediklerini belirtmişlerdir [68].

Gross vd. (1993) ızgarada pişirilen sığır eti köftelerinde tespit edilebilir değerin (0,5 ppb) altında olduğundan 4,8-DiMeIQx miktarını belirleyememişlerdir [77]. Yine yaptıkları başka bir çalışmada 250 °C’de 10 dk kızartılan sığır etlerinde 4,8-DiMeIQx tespit edilememiştir. Ancak 190 °C’de 6 dk tavada kızartılan biftekte 1,3 ng/g 4,8-DiMeIQx tespit etmişlerdir [32].

Zikirov (2014) sous-vide yöntemiyle pişirilen sığır etlerinde nd-0,044 ng/g arasında 4,8-DiMeIQx tespit ettiğini, örneklerin neredeyse tamamına bu bileşiğin oluştuğunu, sıcaklık ve süredeki artışa paralel olarak miktarının arttığını belirtmiştir [69].

Balogh vd. (2000) 175 °C’de 12-20 dk pişirdiği köfte örneklerinde sırasıyla 0,8 ng/g ve 0,9 ng/g 4,8-DiMeIQx tespit etmiş, aynı şekilde 200 °C’de 12-20 dk pişirilen köftelerde ise sırasıyla 0,9 ng/g ve 4,5 ng/g 4,8-DiMeIQx oluşumu tespit etmişlerdir. Oluşum miktarının sıcaklık ve süreyle arttığı gözlemlenmiştir [71]. Analiz sonuçları literatür verileri ile uyum içerisindedir.

4.6.7. PhIP içerikleri

Yapılan analizlerde köfte örneklerinde nd-0,22 arasında PhIP bileşiği tespit edilmiştir. En yüksek PhIP içeriği 250 °C’de 7,5 dk pişirilen örneklerde tespit edilmiştir. PhIP 0,22 ng/g değeri ile bu çalışmada analizi yapılan HAA’lar arasında en yüksek miktarda tespit edilebilen HAA’dır.

Yapılan bir çalışmada hamburger köfteleri ızgara/barbekü, tavada kızartma, fırında pişirme yöntemleri kullanılarak pişirilmiş ve 16,8 ng/g (ızgara/barbekü), 2,3 ng/g (tavada kızartma), nd (fırında pişirme) seviyelerinde PhIP tespit edilmiştir. Tavada kızartma ve ızgara/barbekü yöntemleri kullanılarak pişirilen hamburger köftelerinde daha fazla PhIP oluşmasının nedeni olarak fırında pişirmeye kıyasla aynı iç sıcaklığa daha kısa sürede ulaşıldığı belirtilmiştir [38].

Kızıl (2012) fırında pişirme yöntemi uygulanan köfte örneklerinin PhIP içeriklerinin nd-2,07 ng/g arasında değiştiğini belirlemiştir. [5].

Zikirov (2014) önceden 180 °C’ye ısıtılan tavada 75 °C, 85 °C ve 95 °C iç sıcaklıklara gelene kadar pişirilen sığır pirzola etlerinde sırasıyla 0,130 ng/g, 0,507 ng/g ve 0,535

ng/g seviyelerinde PhIP bileşiği tespit etmiştir. İç sıcaklığın artışı PhIP miktarının da artmasına sebep olduğunu bildirmişlerdir [69].

Abdulkarim ve Scot (1998) 190 °C’de 10 dk kızartılan köfte örneklerinin 0,85 ng/g PhIP içerdiğini, sıcaklığın 230 °C’ye sürenin de 15 dk’ya yükseltilmesi ile PhIP miktarı 1,09 ng/g olarak tespit etmişlerdir [74].

Öz vd. (2010) fırında 200 °C’de 3-12 dk pişirdikleri sığır eti örneklerinde ve aynı sıcaklıkta 2-8 dk ızgara yaptıkları sığır etinde PhIP tespit edememişlerdir [68].

Klassen vd. (2002) tavada 160-220 °C sıcaklıkta 14 dk kızartılan örneklerde 0,2-1,1 ng/g arasında PhIP tespit etmiştir [73].

PhIP oluşumunun büyük ölçüde pişirme sıcaklığına bağlı olduğu, yüksek sıcaklıklarda fazla miktarda oluştuğu belirtilmektedir [32].

Literatür verileri PhIP’in gıdalarda en yaygın bulunan heterosiklik aromatik amin olduğunu göstermektedir [7]. Yine yapılan bu araştırma da en yüksek konsantrasyonda belirlenen HAA’nın PhIP olması literatür verilerini desteklemektedir.

4.6.8. AαC içerikleri

Analizi yapılan hiçbir örnekte AαC içeriği tespit edilememiştir. Çalışılan en yüksek sıcaklıkta AαC bulunmuş ancak miktarı belirlenememiştir.

Kızıl (2012) fırında farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerde nd-1,31 ng/g AαC tespit etmiştir. Saptanan AαC düzeyinin diğer çalışmalarla kıyaslandığında yüksek bir değerde olduğunu belirtmiştir. Fırında pişirilen köfteler arasında en yüksek AαC miktarı 150 °C’de 90 dk pişirilen köftelerde belirlenmiştir. Pişirme süresinin uzun olması AαC oluşumunun sebebi olabileceği belirtilmiştir [5].

Öz vd. (2010) 200 °C’de fırında pişirdikleri (3-12 dk), ızgara yaptıkları (2-8 dk) ve kızarttıkları (1,5-6 dk) sığır eti örneklerinde AαC bileşiğinin tespit edilemediğini belirtmişlerdir [68].

Toribo vd (2007) ızgarada 180-210 °C’de 4 dk pişirdikleri etlerde 0,33 ng/g’a kadar AαC tespit ettiklerini belirtmişlerdir [78].

Gross vd. (1993) ızgara edilen sığır eti köftelerinde AαC değerinin tespit edilebilir değerin altında olduğunu belirtmişlerdir [79].

4.6.9. MeAαC içerikleri

Farklı sıcaklık ve sürelerde konveksiyonel fırın kullanılarak pişirilen hiçbir örnekte MeAαC bileşiği tespit edilememiştir. Çalışılan en yüksek sıcaklıkta MeAαC bulunmuş ancak miktarı belirlenememiştir.

Zikirov (2014) farklı yöntemlerle farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen sığır eti örneklerinde MeAαC bileşiğinin tespit edilemediğini belirtmiştir [69].

Kızıl (2012) farklı sıcaklık ve sürelerde fırında ve ızgarada pişirilen köfte örneklerinde MeAαC bileşiğini tespit edememiştir [5].

Öz vd. (2010) 200 °C’de fırında ve ızgarada pişirilen sığır eti örneklerinde MeAαC bileşiğini tespit edememişlerdir [68].

Fay vd. (1997) yaptıkları çalışmada MeAαC bileşiğini tespit edemediklerini belirtmişlerdir [75].

Turesky vd. (2005) tavada 150-300 °C’de 12-24 dk pişirdikleri sığır etinde 0,03-0,14 ng/g arasında ve mangalda 130-300 °C’de 20 dk pişirdikleri sığır etinde 0,09-0,29 ng/g arasında MeAαC bileşiğini tespit edildiğini belirtmişlerdir [70]. Araştırma sonuçları literatür verileriyle benzerlik göstermiştir.

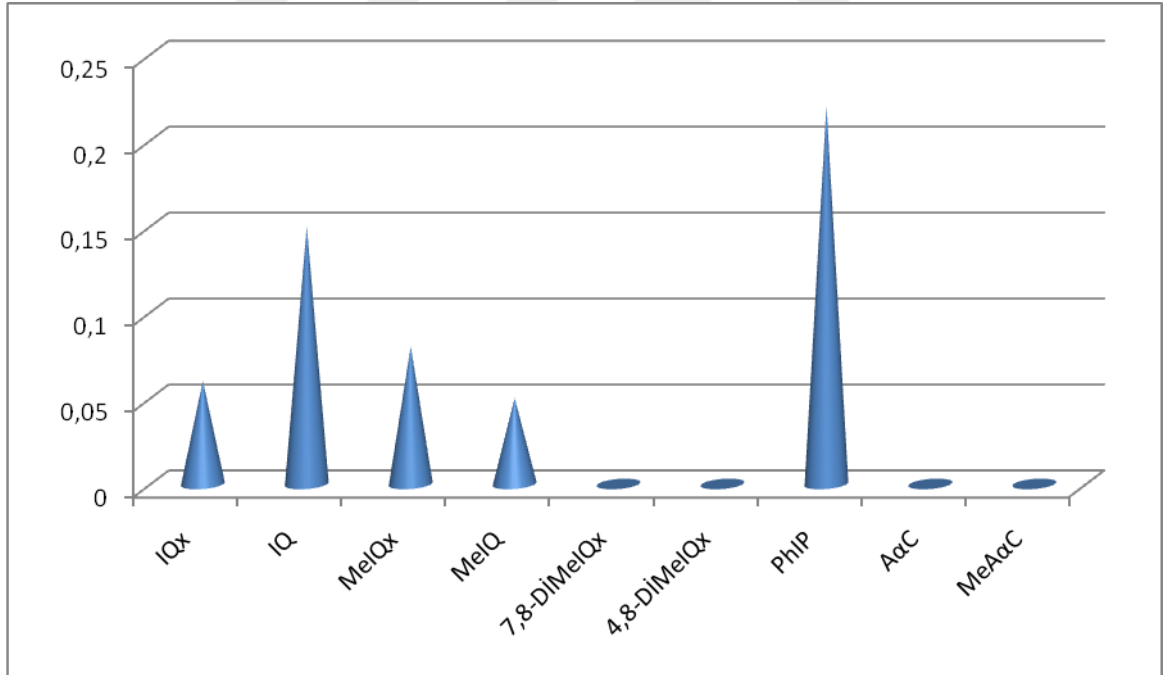
4.6.10. Örneklerin toplam HAA içerikleri

Farklı sıcaklık ve süreler kullanılarak konveksiyonel fırında pişirilen örneklerin toplam HAA miktarlarının 0-0,42 ng/g arasında olduğu görülmüştür. 200 °C’de 7,5 dk, 200 °C’de 10 dk ve 250 °C’de 5 dk pişirilen köfte örnekleri için hiçbir sıcaklık ve sürede HAA tespit edilememiştir. Köfte örneklerinin pişirildiği sıcaklık ve sürelerle göre toplam HAA miktarları aşağıdaki çizelgede ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerin toplam HAA miktarları

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Toplam HAA (ng/g)
150	5	0,05
	7,5	0,14
	10	0,21
200	5	0,17
	7,5	-
	10	-
250	5	-
	7,5	0,42
	10	0,28

HAA'ların belirlenen en yüksek miktarları; IQx 0,06 ng/g, IQ 0,15 ng/g, MeIQx 0,08 ng/g, MeIQ 0,05 ng/g, PhIP 0,22 ng/g olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Her HAA için tespit edilen en yüksek değer

Öz vd. (2008) kuzu etinin mikrodalga, fırın, ısıtıcı plaka, tavada yağsız ve mangalda pişirme metotlarını kullanarak pişirilmesi sonucu sırasıyla 4,47 ng/g, 0,62 ng/g, 1,43 ng/g, 1,98 ng/g ve 3,31 ng/g olarak belirlemişlerdir [77].

Kızıl (2012) farklı sıcaklık ve sürelerde fırın pişirme yöntemi uygulanmış köfte örneklerinin toplam HAA içeriklerini 0-6,34 ng/g olarak tespit etmiştir [43].

Skog vd. (1997) yaptıkları araştırmada sığır eti, domuz eti, balık vb. gıda örneklerinde 150 °C’de oluşan toplam HAA miktarının < 2ng/g, 175 °C’de oluşan toplam HAA miktarının < 1 ng/g olduğunu ve sıcaklıkların 200 °C ve 225 °C’ye çıkması durumunda toplam HAA miktarının arttığını belirtmiştir [80].

Öz (2006) kızartılan sığır eti pirzolarında toplam HAA miktarını 175 °C’de 2,88 ng/g, 200 °C’de 9,47 ng/g ve 225 °C’de 2,63 ng/g olarak belirlemiştir [32].

Öz vd. (2010) yaptıkları çalışmada farklı pişirme yöntemi kullanarak tavuk ve balık örneklerinde toplam HAA değerleri belirlemiştir. Tavuk eti örneklerinin en yüksek toplam HAA miktarları sırasıyla mikrodalga, tavada kızartma, mangalda pişirme, ısıtıcı plaka ve fırında pişirilen örneklerde olduğunu belirtmişlerdir. Fırında pişirme için toplam HAA düzeyinin 1 ng/g’den küçük olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada 175-245 °C’de 25-40 dk fırında rostolama işleminden sonra MeIQx, 4,8-DiMeIQx, PhIP, harman ve norharman HAA’larının toplamının beş örneğin birinde 3,3 ng/g, diğer dördünde ise 0,1 ng/g’den daha küçük olduğu bildirilmiştir [81].

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Isı işlemleri uygulanmamış örneklerdeki yağ miktarı ortalama %15,8 olarak tespit edilmiştir. Deneysel örneklerde sıcaklık süre artışına bağlı olarak örneklerdeki yağ miktarında değişiklik istatistiki olarak farklı bulunmamıştır ($p>0,05$). 150 °C ısı işlemi uygulanan deneysel örneklerde ortalama %15,1, 200 °C ısı işlemi uygulanan gruplarda ortalama % 14,9 ve 250 °C ısı işlemi uygulanan gruplarda ortalama % 15,2 olarak tespit edilmiştir.
2. Isı işlemi uygulanmamış örneklerde ham protein miktarı % 32,13 olarak tespit edilmiştir. Süre ve sıcaklık artışı dikkate alındığında 250 °C’ de 10 dakika pişirilen köfte örneklerinde su kaybına bağlı olarak protein konsantrasyonu %36,19 değerine ulaştığı tespit edilmiştir. 150 °C ve 200 °C sıcaklıkta pişirilen örneklerde istatistiki fark önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
3. Isı işlemi uygulanmamış örneklerde pH değeri 5,3 olarak belirlenmiş, ısı işleme ve süreye bağlı olarak pH değerinde değişme gözlenmemiştir.
4. Isı işlemi uygulanmamış örneklerde 0,13 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Deneysel örneklerde tiyobarbitürik asit miktarında değişme görülmemiştir ($p>0,05$).
5. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin IQx içeriklerinin nd-0,033 ng/g arasında olduğu tespit edilmiştir.
6. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin IQ içeriklerinin nd-0,07 ng/g arasında olduğu tespit edilmiştir.
7. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin MeIQx içeriklerinin nd-0,056 ng/g arasında olduğu tespit edilmiştir.
8. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin MeIQ içeriklerinin nd-0,016 ng/g arasında olduğu tespit edilmiştir.
9. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin hiçbirinde 7,8-DiMeIQx tespit edilememiştir.
10. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin hiçbirinde 4,8-DiMeIQx tespit edilememiştir.
11. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin PhIP içeriklerinin nd-0,12 ng/g arasında olduğu tespit edilmiştir.

12. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin hiçbirinde AaC tespit edilememiştir.
13. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin hiçbirinde MeAaC tespit edilememiştir.
14. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örneklerinin HAA içeriklerinin belirlenebilen en yüksek değerleri; IQx için 0,033 ng/g, IQ için 0,07 ng/g, MeIQx için 0,056 ng/g, MeIQ 0,016 için ng/g, PhIP için 0,12 ng/g olarak belirlenmiştir.
15. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örnekleri için üç sıcaklık-süre kombinasyonunda (200 °C’de 7,5 dk, 200 °C’de 10 dk ve 250 °C’de 5 dk) hiç HAA tespit edilememiştir.
16. Fırında pişirme yöntemi ile farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köfte örnekleri için en yüksek toplam HAA miktarı 0,206 ng/g değeri ile 250 °C’de 7,5 dk pişirilen örneklerde tespit edilmiştir.
17. Fırında pişirme yöntemi ile pişirilen köfte örneklerinin toplam HAA miktarları analiz edilen tüm örnekler için 1 ng/g’ın altındadır.
18. Bu araştırmanın sonuçları esas alındığında MeIQx bileşiği oluşumunun artan pişirme sıcaklığı ile arttığı tespit edilmiştir. Diğer HAA’ların oluşum miktarlarında dalgalanmalar olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- [1] Baysal, A. (2007). Genel Beslenme, Hatiboğlu Yayınları, No: 14, 1-8s, Ankara.
- [2] Öztan, A. (2011). Et Bilimi ve Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, No:1, 1-3s, Ankara.
- [3] <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21580> Erişim Tarihi: 11.10.2016
- [4] Keşkekoğlu, H., Üren, A. (2014). Inhibitory effects of pomagranate seed extract on the formation of heterocyclic aromatic amines in beef and chicken meatballs after cooking by four different methods. *Meat Science*, 96, 1446-1451.
- [5] Kızıl, M. (2012). Ankara’da Toplu Beslenme Yapılan Kurumlardan Alınan Farklı Pişirme Yöntemleri Uygulanmış Köfte Örneklerinin Heterosiklik Aromatik Amin İçeriklerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Araştırma. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), Ankara.
- [6] Hwang, D. K., Ngadi, M. (2002). Kinetics of Heterocyclic Amines Formation in Meat Emulsion at Different Fat Contents. *LWT-Food and Science Technology*, 35(7), 600-606.
- [7] Skog, K., Johansson, M., Jägerstad, M. (1998). Carcinogenic Heterocyclic Amines in Model Systems and Cooked Foods: A Review on Formation, Occurrence and Intake. *Food and Chemical Toxicology*, 36, 879-896.
- [8] Skog, K. (2004). Blue cotton, Blue Rayon and Blue Chitin in the analysis of heterocyclic aromatic amines-a review. *Journal of Chromatography B*, 802, 39-44.
- [9] Skog, K., Solyakov, A., Jägerstad, M. (2000). Effect of heating conditions and additives on the formation of heterocyclic amines with reference to amino-carbolines in a meat juice model system. *Food Chemistry*, 68, 299-308.
- [10] Knize, M. G., Felton, J. S. (1992). Chromatography methods for the analysis of heterocyclic amine food mutagens/carcinogens. *Journal of Chromatography A*, 624(1-2), 253-265.
- [11] Grivas, S. (2000). Organic Synthesis of the Heterocyclic Amines. Baffins Lane, Chichester, West Sussex, 373, England.
- [12] Kataoka, H. (1997). Methods for the determination of mutagenic heterocyclic amines and their applications in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 774(1-2), 121-142.
- [13] Nagao, M., (1999). A new approach to risk estimation of food-borne carcinogens-heterocyclic amines-based on molecular information. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanism of Mutagenesis*, 431(1), 3-12.
- [14] Puignou, L., Casal, J., Santos, F., Galceran, M. (1997). Determination of heterocyclic aromatic amines by capillary zone electrophoresis in a meat extract. *Journal of Chromatography A*, 797, 293-299.
- [15] Alaejos, M., Pino, V., Afonso, A. (2008). Metabolism and toxicology of heterocyclic aromatic amines when consumed in diet: Influence of the genetic susceptibility to develop human cancer. A review. *Food Research International*, 41, 327-340.
- [16] Toribio, F., Moyano, E., Puignou, L., Galceran, M. T. (2002). Ion-trap tandem mass spectrometry for the determination of heterocyclic amines in food. *Journal of Chromatography A*, 948, 267-281.
- [17] Robbana- Barnat, S., Rabache, M., Rialland, E., Fradin, J. (1996). Heterocyclic amines: occurrence and prevention in cooked food. *Environ Health Perspect*, 104(3), 280-288.

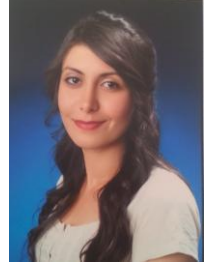
- [18] Bermudo, E., Ruiz-Calero, V., Puignou, L., Galceran, M. T. (2005). Analysis of heterocyclic amines in chicken by liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta*, 536, 83-90.
- [19] Murkovic, M. (2004). Formation of heterocyclic aromatic amines in model systems. *Journal of Chromatography B*, 802, 3-10.
- [20] Cárdenes, L., Ayala, J. H., Afonso, A. M., González, V. (2004). Solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for the analysis of the heterocyclic aromatic amines. *Journal of Chromatography A*, 1030, 87-93.
- [21] Turesky, R. J. (2007). Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. *Toxicology Letters*, 168, 219-227.
- [22] Gibis, M. (2016). Heterocyclic Aromatic Amines in Cooked Meat Products: Causes, Formation, Occurrence, and Risk Assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 269-302.
- [23] Felton, J. S., Fultz, E., Dolbeare, F. A., Knize M. G. (1994). Reduction of heterocyclic aromatic amine mutagens/carcinogens in fried beef patties by microwave pretreatment. *Food and Chemical Toxicology*, 32(10), 897-903.
- [24] Murkovic, M. (2004). Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic aromatic amines in fried products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 777-785.
- [25] Rahman, U., Sahar, A., Khan, M. I., Nadeem, M. (2014). Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review. *Food Science and Technology*, 59, 229-233.
- [26] Jägerstad, M., Laser Reuterswärd, A., Olsson, R., Grivas, S., Nyhammar, T., Olsson, K., Dahlgvist, A. (1983). Creatin(in)e and Maillard Reaction Products as Precursors of Mutagenic Compounds: Effects of Various Amino Acids. *Food Chemistry*, 12, 255-264.
- [27] Lee, H., Lin, M.-Y., Hao, N. J. (1995). Effects of Maillard reaction products on mutagen formation in boiled pork juice. *Mutagenesis*, 10(3), 179-183.
- [28] Knize, M. G., Cunningham, P. L., Griffin Jr, E. A., Jones, A. L., Felton, J. S. (1994). Characterization of mutagenic activity in cooked-grain-food products. *Food and Chemical Toxicology*, 32(1), 15-21.
- [29] Yıldız, O., Şahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö., Kolaylı, S. (2010). Maillard Reaksiyonları ve Reaksiyon Ürünlerinin Gıdalardaki Önemi. *Akademik Gıda*, 8(6), 44-51.
- [30] Burdurlu, H. S., Karadeniz, F. (2002). Gıdalarda Maillard Reaksiyonu. *GIDA*, 27(2), 77-83.
- [31] Jägerstad, M., Skog, K., Arvidsson, P., Solyakov, A. (1998). Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic amines identified in model systems and cooked foods. *Z Lebens Unters Forsch A*, 207, 419-427.
- [32] Öz, F. (2006). Farklı Sıcaklıklarda Pişirilen Taze Et Ürünlerinde Baharat Kullanımının Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), Erzurum.
- [33] Dündar, A. (2011). Farklı Sıcaklık ve Sürelerde Pişirilen Köftelerde Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumunun Sınırlandırılmasında Optimum Tuz, Askorbik Asit ve Yağ Kullanım Seviyelerinin Yanıt Yüzey Yöntemi ile Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), Konya.
- [34] Skog, K., Solyakov, A. (2002). Heterocyclic amines in poultry products: a literature review. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1213-1221.

- [35] Babür, T. E., Gürbüz, Ü. (2015). Geleneksel Pişirme Yöntemlerinin Et Kalitesine Etkileri. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 3(4), 58-64.
- [36] Keating, G. A., Layton, D. W., Felton, J. S. (1999). Factors determining dietary intakes of heterocyclic amines in cooked foods. *Mutation Research*, 443, 149-156.
- [37] Sinha, R., Rothman, N. (1999). Role of well-done, grilled red meat, heterocyclic amines (HCAs) in the etiology of human cancer. *Cancer Letters*, 143(2), 189-194.
- [38] Sinha, R., Rothman, N., Salmon, C. P., Knize, M. G., Brown, E. D., Swanson, C. A., Rhodes, D., Rossi, S., Felton, J. S., Levander, O. A. (1998). Heterocyclic Amine Content in Beef Cooked by Different Methods to Varying Degrees of Doneness and Gravy made from Meat Drippings. *Food and Chemical Toxicology*, 36, 279-287.
- [39] Barrington, P. J., Baker, R. S. U., Truswell, A. S., Bonin, A. M., Ryan, A. J., Paulin, A. P. (1990). Mutagenicity of basic fraction derived from lamb and beef cooked by common household methods. *Food and Chemical Toxicology*, 28(3), 141-146.
- [40] Bordas, M., Moyano, E., Puignou, L., Galceran, M. T. (2004). Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system Effect of temperature, time and precursors. *Journal of Chromatography B*, 802, 11-17.
- [41] Çiçek, Ü., Bulgan, A. (2013). Et ve Et Ürünlerinde Heterosiklik Aminler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(1), 25-32.
- [42] Jackson, L. S., Hargraves, W. A. (1995). Effect of Time and Temperature on the Formation of MeIQx and DiMeIQx in a Model System Containing Thereonine, Glucose, and Creatine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(6), 1678-1684.
- [43] Skog, K., Jägerstad, M. (1991). Effect of glucose on the formation of PhIP in a model system. *Carcinogenesis*, 12(12), 2297-2300.
- [44] Reuterswärd, A. L. (1987). Mutagenicity of pan-fried bovine tissues in relation to their content of creatine, creatinine, monosaccharides and free amino acids, *Food and Chemical Toxicology*, 25(10), 755-762.
- [45] Skog, K., Jägerstad, M. (1990). Effect of monosaccharides and disaccharides on the formation of food mutagens in model systems. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 230(2), 263-272.
- [46] Parihar, D. B., Vasundhara, T. S., Vijayayaghavan, P. K. (1981). Effect of metal ions such as iron and copper on the formation of nitrogen heterocyclic compounds in sesame oil- α -amino acids model systems under frying conditions. *International Journal of Food Science Technology*, 16(3), 313-319.
- [47] Holtz, E., Skjöldebrand, C., Jägerstad, M., Reuterswärd, A. L., Isberg, P. E. (1985). Effect of recipes on crust formation and mutagenicity in meat products during baking. *International Journal of Food Science Technology*, 20(1), 57-66.
- [48] Wakabayashi, K., Nagao, M., Esumi, H., Sugimura, T. (1992). Food-derived Mutagens and Carcinogens. *Cancer Research (Suppl.)*, 52, 2092-2098.
- [49] Koehler, P. E., Mason, M. E., Newell, J. A. (1969). Formation of pyrazine compounds in sugar-amino acid model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(2), 393-396.
- [50] Manabe, S., Kurihara, N., Wada, O., Tohyama, K., Aramaki, T. (1992). Formation of PhIP in a mixture of creatinine, phenylalanine and sugar or aldehyde by aqueous heating. *Carcinogenesis*, 13(5), 827-830.

- [51] Skog, K., Jägerstad, M., Reuterswärd, A. L. (1992). Inhibitory effect of carbohydrates on the formation of mutagens in fried beef patties. *Food Chemical Toxicology*, 30(8), 681-688.
- [52] Lan, C. M., Kao, T. H., Chen, B. H. (2004). Effects of heating time and antioxidants on the formation of heterocyclic amines in marinated foods. *Journal of Chromatography B*, 802, 27-37.
- [53] Öz, F., Kaya, M. (2007). Et ve Et Ürünlerinde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunun Engellenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 38(1), 121-126.
- [54] Murkovic, M., Steinberger, D., Pfannhauser, W. (1998). Antioxidant spices reduce the formation of heterocyclic amines in fried meat. *European Food Research and Technology*, 207(6), 477-480.
- [55] Edenharder, R., Leopold, C., Kries, M. (1995). Modifying actions of solvent extracts from fruit and vegetable residues on 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA 98. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 341(4), 303-318.
- [56] Johansson, M. A. E., Jägerstad, M. (1996). Influence of pro- and antioxidants on the formation of mutagenic-carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Food Chemistry*, 56(1), 69-75.
- [57] Salmon, C. P., Knize, M. G., Felton, J.S., Zhao, B., Seow, A. (2006). Heterocyclic aromatic amines in domestically prepared chicken and fish from Singapore Chinese households. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 484-492.
- [58] Turesky, R. J. (2002). Heterocyclic aromatic amine metabolism, DNA adduct formation, mutagenesis, and carcinogenesis. *Journal Drug Metabolism Reviews*, 34(3), 625-650.
- [59] Sinha, R. (2002). An epidemiologic approach to studying heterocyclic amines. *Mutation Research*, 506-507, 197-204.
- [60] Felton, J. S., Knize, M. G., Bennett L. M., Malfatti, M. A., Colvin, M. E., Kulp, K. S. (2004). Impact of environmental exposures on the mutagenicity/carcinogenicity of heterocyclic amines. *Toxicology*, 198, 135-145.
- [61] Felton, J. S., Knize, M. G., Salmon, C. P., Malfatti, M. A., Kulp, K. S. (2002). Human Exposure to Heterocyclic Amine Food Mutagens/Carcinogens: Relevance to Breast Cancer. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 39, 112-118.
- [62] Layton, D. W., Bogen, K. T., Knize, M. G., Hatch, F. T., Johnson, V. M., Felton, J. S. (1995). Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research. *Carcinogenesis*, 16(1), 39-52.
- [63] Ekici, L., Sağdıç, O., Yetim, H. (2012). Et Tüketimi ve Kanser. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(1), 136-145.
- [64] Sinha, R., Chow, W. H., Kulldorff, M., Denobile, J., Butler, J., Garcia-Closas, M., Weil, R., Hoover, R. N., Rothman, N. (1999). Well-done, grilled red meat increases the risk of colorectal adenomas. *Cancer Research*, 59(17), 4320-4324.
- [65] Knize, M. G., Kulp, K. S., Salmon, C. P., Keating, G. A., Felton, J. S. (2002). Factors affecting human heterocyclic amine intake and the metabolism of PhIP. *Mutation Research* 506-507, 153-162.
- [66] Skog, K. (2002). Problems associated with the determination of heterocyclic amines in cooked foods and human exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 40(8), 1197-1203.
- [67] Yetim, H., Kesmen, Z. (2009). Gıda Analizleri. *Erciyes Üniversitesi Ders Yayınları*-163, 65, 163s, Kayseri.

- [68] Öz, F., Kaban, G., Kaya, M. (2010). Heterocyclic Aromatic Amine Contents of Beef and Lamb Chops Cooked by Different Methods to Varying Levels. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(10), 1436-1440.
- [69] Zikirov, E. (2014). Sous-vide Pişirme Yönteminin Sığır Etinde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumu ve Bazı Kalitatif Kriterler Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), Erzurum.
- [70] Turesky, R. J., Taylor, J., Schnackenberg, L., Freeman, J. P., Holland, R. D. (2005). Quantitation of Carcinogenic Heterocyclic Aromatic Amines and Detection of Novel Heterocyclic Aromatic Amines in Cooked Meats and Grill Scrapings by HPLC/ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3248-3258.
- [71] Balogh, Z., Gray, J. I., Gomaa, E. A., Booren, A. M. (2000). Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food Chemical Toxicology*, 38(5), 395-401.
- [72] Turesky, R. J., Bur, H., Huynh-Ba, T., Aeschbacher, H. U., Milon, H. (1988). Analysis of mutagenic heterocyclic amines in cooked beef products by high-performance liquid chromatography in combination with mass spectrometry. *Food and Chemical Toxicology*, 26(6), 501-509.
- [73] Klassen, R. D., Lewis, D., Lau, B. P. Y., Sen, N. P. (2002). Heterocyclic aromatic amines in cooked hamburgers and chicken obtained from local fast food outlets in the Ottawa region. *Food Research International*, 35(9), 837-847.
- [74] Abdulkarim, B. G., Smith, J. S. (1998). Heterocyclic Amines in Fresh and Processed Meat Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11), 4680-4687.
- [75] Fay, L. B., Ali, S., Gross, G. A. (1997). Determination of heterocyclic aromatic amines in food products: automation of the sample preparation method prior to HPLC and HPLC-MS quantification. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 376(1-2), 29-35.
- [76] Busquets, R., Bordas, M., Toribio, F., Puignou, L., Galceran, M. T. (2004). Occurrence of heterocyclic amines in several home-cooked meat dishes of the Spanish diet. *Journal of Chromatography B*, 802(1), 79-86.
- [77] Öz, F., Kaban, G., Kaya, M. (2008). Farklı Pişirme Metotlarının Kuzu Etinde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumu Üzerine Etkileri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, 507, Erzurum.
- [78] Toribio, F., Busquets, R., Puignou, L., Galceran, M. T. (2007). Heterocyclic amines in griddled beef steak analysed using a single extract clean-up procedure. *Food and Chemical Toxicology*, 45(4), 667-675.
- [79] Gross, G. A., Turesky, R. J., Fay, L. B., Stillwell, W. G., Skipper P. L., Tannenbaum, S. R. (1993). Heterocyclic aromatic amine formation in grilled bacon, beef and fish and grill scrapings. *Carcinogenesis*, 14(11), 2313-2318.
- [80] Skog, K., Augustsson, K., Steineck, G., Stenberg, M., Jägerstad, M. (1997). Polar and Non-polar Heterocyclic Amines in Cooked Fish and Meat Products and their Corresponding Pan Residues. *Food and Chemical Toxicology*, 35, 555-565.
- [81] Öz, F., Kaban, G., Kaya, M. (2010). Effect of cooking methods and levels on formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish with Oasis extraction method. *LWT-Food Science and Technology*, 43(9), 1345-1350.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Ayşegül Demir
Doğum Yeri ve Tarihi	Elazığ, 13.07.1990
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
E-posta Adresi	aysgl_aytkn@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Elazığ Balakgazi Lisesi, 2006
Lisans	İnönü Üniversitesi, 2013
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2017

İş Tecrübesi

Sivas 5. Er Eğitim Tugayı, Gıda Mühendisi
(2014-2015)
Cumhuriyet Üniversitesi Merkezi Kafeterya, Gıda Mühendisi
(2015-2016)
Ted Elazığ Koleji, Gıda Mühendisi
(2016-2017)

Kongreler ve Bildiriler

Can, Ö. P., Aytekin, A. (2016). Köfte Örneklerinin Aktif Paketleme ile Muhafazası.
Türkiye 12. Gıda Kongresi, 05-07 Ekim, S365, Trakya Üniversitesi, Edirne.