

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

REİSHİ MANTARI EKSTRAKTININ KÖFTEDE HETEROSİKLİK AROMATİK
AMİNLERİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ

Uzm. Dyt. Bengü GÜZEL

Toplu Beslenme Sistemleri Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2019

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

REİSHİ MANTARI EKSTRAKTININ KÖFTEDE HETEROSİKLİK AROMATİK
AMİNLERİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ

Uzm. Dyt. Bengü GÜZEL

Toplu Beslenme Sistemleri Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Mevlüde KIZIL

ANKARA

2019

ONAY SAYFASI**REİSHİ MANTARI EKSTRAKTININ KÖFTEDE HETEROSİKLİK AROMATİK****AMINLERİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ****Bengü GÜZEL****Danışman: Doç. Dr. Mevlüde KIZIL**

Bu tez çalışması 03.01.2019 tarihinde, jürimiz tarafından "Toplu Beslenme Sistemleri Programı"nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

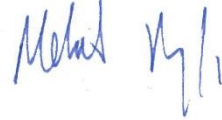
Doç. Dr. Aydan ERCAN
(Trakya Üniversitesi)

**Tez Danışmanı:**

Doç. Dr. Mevlüde KIZIL
(Hacettepe Üniversitesi)

**Üye:**

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet FİSUNOĞLU
(Hacettepe Üniversitesi)



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

08 Ocak 2019


Prof. Dr. Diclehan Orhan
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

03/01/2019



Bengü GÜZEL

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü tezele ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlerle ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince **enstitü** veya **fakülte** tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Doç. Dr. Mevlüde KIZIL danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Uzm. Dyt. Bengü GÜZEL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle desteğini her zaman hissettiğim, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Doç. Dr. Mevlüde KIZIL'a,

Araştırma boyunca yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi M. Merve TENGİLİMOĞLU METİN'e,

Araştırma boyunca sabrı, güzel kalbi ve anlayışıyla, her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan çalışma arkadaşım sevgili Uzm. Dyt. Arife MACİT'e,

Laboratuvardaki bilgi ve tecrübesiyle araştırma boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Namık YİĞİT'e,

Üniversite yıllarımdan bu yana her daim yanımda olan, sevgisini ve desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Ali GÜZEL ve masum kalbiyle sevgisini her zaman hissettiğim minik oğlum Çınar GÜZEL'e,

Son olarak hayattaki en büyük şansım olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, canım annem Sabiha GEZGİN, canım babam Hüseyin GEZGİN ve canım kardeşim Bilge GEZGİN'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Güzel, B. Reishi Mantarı Ekstarktının Köftede Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkisi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Toplu Beslenme Sistemleri Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2019. Heterosiklik aromatik aminler (HAA), öncüsü olan kreatin, kreatinin, amino asitler ve şekerlerin Maillard tepkimesi yoluyla oluşan pişirilmiş kas etlerinde bulunan karsinogenik ve mutajenik bileşiklerdir. Epidemiyolojik çalışmalar, HAA'lara yüksek oranda maruz kalmanın insanlarda kanser riskini artırabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalar antioksidanların HAA oluşumu üzerinde inhibe edici özelliklerinin olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, reishi mantarı ekstraktının HAA oluşumunu önleyici etkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Farklı konsantrasyonlarda (%0, %0,25, %0,5 ve %1) reishi mantarı ekstarktının farklı yöntemlerle (yüzeyine serpmeye ve içine karıştırma) köftelere eklenip, iki farklı pişirme sıcaklığında (150°C ve 190°C), derin yağda kızartma işlemi uygulanarak HAA oluşumunu azaltıcı etkisi incelenmiştir. Pişmiş köfte örneklerinde 2-amino-1-metilimidazo [4,5-f]-kinolin (IQ), 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]-kinokzalin (IQx), 2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-f]-kinolin (MeIQ), 2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin (MeIQx), 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]-piridin (PhIP), 2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin (4,8-DiMeIQx), 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo[4,5-f]-kinokzalin (7,8-DiMeIQx), 3-amino-1-metil-5H-pirido [4,3-b]-indol (Trp-P-2), 2-amino-9H-pirido[2,3-b]indol (AαC), 2-amino-3-metil-9H-pirido[2,3-b]indol (MeαC) ve 9H-pirido[3,4-b]indol (Norharman) olmak üzere toplam 11 HAA analizi yapılmıştır. Köfte örneklerinde bulunan toplam HAA miktarı tespit edilebilir sınırın altında ile 2,92 ng/g arasında olduğu belirlenmiştir. Yüzeyine serpmeye yöntemi ile %0,25, %0,50 ve %1 konsantrasyonunda eklenen reishi mantarı ekstraktının toplam HAA oluşumunu %54,26-100 oranında önlediği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Heterosiklik aromatik amin, reishi mantarı ekstraktı, köfte

ABSTRACT

Guzel, B., Effect of Reishi Mushroom Extract on the Formation of Heterocyclic Aromatic Amines in Patties, Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, Master of Sciences Thesis in Food Service Systems Programme, Ankara, 2019. Heterocyclic aromatic amines (HAA) are carcinogenic and mutagenic compounds found in cooked muscle meats formed by Maillard reaction of creatinine, creatine, amino acids and sugars. Epidemiological studies have shown that high exposure to HAAs may increase cancer risk in humans. Studies have shown that antioxidants have inhibitory properties on HAA formation. In this study, it is aimed to investigate the effect of reishi mushroom extract on HAA formation. Different concentrations (0%, 0.25%, 0.5% and 1%) of the reishi mushroom extract were added to the patties by different methods (spreading on the surface or mixing) and the effect of reducing the HAA formation by deep frying at two different cooking temperatures (150°C and 190°C) were investigated. In cooked patties, a total of 11 HAA analyzes were performed including 2-amino-1-methylimidazo [4,5-f] -quinoline (IQ), 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] -quinoxaline (IQx), 2-amino-3,4-dimethylimidazo [4,5-f-quinolin] (MeIQ), 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoxalin (MeIQx), 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] -pyridine (PhIP), 2-amino-3,4,8-trimethylimidazo [4,5-f] -quinoxaline (4,8-DiMeIQx), 2-amino-3,7,8-trimethylimidazo [4, 5-f]-quinoxaline (7,8-DiMeIQx), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-b]-indole (Trp-P-2), 2-amino-9H-pyrido [2,3-b] indole (AαC), 2-amino-3-methyl-9H-pyrido [2,3-b] indole (MeαC) and 9H-pyrido [3,4-b] indole (Norharman). It was determined that the total amount of HAA found in the beef patty samples was below the detectable limit of 2.92 ng/g. Reishi mushroom extract, added at a concentration of 25%, 50% and 1% by spreading on the surface method was found to inhibit total HAA formation by 54.26-100%.

Key words: Heterocyclic aromatic amine, reishi mushroom extract, beef patties

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam	1
1.2. Amaç ve Varsayım	2
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Sınıflandırılması ve Oluşumu	4
2.1.1. Amino-imidazo-azaarenler (Termik HAA'lar)	5
2.1.2. Amino-karbolinler (Pirolitik HAA'lar)	5
2.2. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Metabolizması ve Karsinojenitesi	6
2.2.1. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Metabolizması	6
2.2.2. DNA Katımı Oluşturma	7
2.2.3. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Karsinojenitesi	7
2.2.4. Epidemiyolojik Çalışmalar	8
2.3. Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	9
2.3.1. Pişirme Yöntemi	10
2.3.2. Pişirme Sıcaklığı ve Süresi	11
2.3.3. Öncü Madde Konsantrasyonu	11
2.3.4. Nem İçeriği	12
2.3.5. Yağ İçeriği	13
2.3.6. Etin Özellikleri	13

2.4. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumunun Önlenmesi	14
2.4.1. Antioksidanlar	14
2.4.2. Marinasyon	15
2.4.3. Mikrodalga Fırın ile Ön İşlem	15
2.4.4. Su Tutma Kapasitesinin Artırılması	16
2.5. Reishi Mantarı ve Sağlık Etkileri	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Örneklerin Hazırlanması	19
3.2. Pişirme Süreci	19
3.3. Materyal	20
3.4. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde TBARS Analizi	20
3.5. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Yağ Tayini	21
3.6. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Protein Tayini	21
3.7. Pişirme ile Ağırlık Kaybının Belirlenmesi	21
3.8. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Kül Tayini	22
3.9. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinin pH Analizi	22
3.10. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinin Nem İçerikleri Analizi	22
3.11. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Ekstraksiyonu	22
3.12. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Analizi	23
3.13. Verilerin İstatistiksel Analizi	24
4. BULGULAR	25
4.1. Çiğ Köfte Örneklerinde Proksimet, pH ve TBARS Analiz Sonuçları	25
4.2. Pişmiş Köfte Örneklerinin Toplam Yağ, Toplam Protein, Nem ve Kül İçerikleri	25
4.3. Pişmiş Köfte Örneklerinin Pişirme ile Oluşan pH, Ağırlık Kaybı ve İç Sıcaklık Değerleri	28
4.4. Pişmiş Köfte Örneklerinde TBARS Değerleri (mg MDA/kg)	29
4.5. Pişmiş Köfte Örneklerinin Heterosiklik Aromatik Amin İçerikleri	30
4.6. Pişmiş Köfte Örneklerinde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunu Etkileyen Parametreler	34
5. TARTIŞMA	39
5.1. Köfte Örneklerinin Proksimet Analiz Sonuçları	39

5.2. Köfte Örneklerinin İç Sıcaklık, Ağırlık Kaybı ve pH Sonuçları	41
5.3. Köfte Örneklerinin TBARS değerleri	42
5.4. Köfte Örneklerinin Heterosiklik Aromatik Amin İçerikleri	43
5.4.1. Köfte örneklerinin IQx içerikleri	43
5.4.2. Köfte Örneklerinin IQ İçerikleri	44
5.4.3. Köfte Örneklerinin MeIQ İçerikleri	44
5.4.4. Köfte Örneklerinin MeIQx İçerikleri	45
5.4.5. Köfte Örneklerinin Trp-P-2 İçerikleri	45
5.4.6. Köfte Örneklerinin PhIP İçerikleri	46
5.4.7. Köfte Örneklerinin Norharman İçerikleri	46
5.4.8. Köfte Örneklerinin 4,8-DiMeIQx İçerikleri	47
5.4.9. Köfte Örneklerinin 7,8-DiMeIQx İçerikleri	47
5.4.10. Köfte Örneklerinin AaC İçerikleri	48
5.4.11. Köfte Örneklerinin MeAaC İçerikleri	48
5.4.12. Köfte Örneklerinin Toplam HAA İçerikleri	48
5.5. Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunu Etkileyen Parametreler	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
6.1. Sonuçlar	51
6.2. Öneriler	52
7. KAYNAKLAR	54
8. EKLER	
EK-1: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
EK-2: Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
4,8-DiMeIQx	2-amino-3,4,8-trimetil imidazol [4,5-f] kinoksalin
7,8-DiMeIQx	2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] kinoksalin
4,7,8-TriMeIQx	2-Amino-3,4,7,8-tetrametilimidazo [4,5-f] kinoksalin
AIA	Amino-imizado-azoarenler
AαC	2-amino-9H-dipirido [2,3-b] indol
cm	Santimetre
dG	Deoksiguanin
DMIP	Dimetilimidazopiridin
g	Gram
Glu-P-1	2-amino-6-metil-dipirido [1,2-a: 3', 2'-d] imidazol
Glu-P-2	2-amino-dipirido [1,2-a: 3', 2'-d] imidazol
H₂SO₄	Sülfirik asit
HAA	Heterosiklik Aromatik Amin
Harman	1-metil-9H-pirido [3,4-b] indol
HCl	Hidroklorik asit
IARC	Uluslar Arası Kanser Araştırmaları Kurumu
IQ	2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolin
IQx	2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinoksalinler
kg	Kilogram
LOD	Tespit Edilebilme Sınırı
LOQ	Miktarın Belirlenebilme Sınırı
MDA	Malondialdehit
MeAαC	2-amino-3-metil-9H-dipirido [2,3-b] indol
MeIQ	2-amino-3,4-dimetilimidazo [4,5-f] kinolin
MeIQx	2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5-f] kinoksalin

mg	Miligram
ml	mililitre
Na₂SO₄	Sodyum sülfat
NaOH	Sodyum hidroksit
NAT	N-asetil transferaz
nd	Tespit edilemedi
ng	Nanogram
Norharman	9H-pirido [3,4-b] indol
nq	Hesaplanamadı
PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-b] piridin
rpm	Dakikada dönme hızı
TBARS	Tiobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
TMIP	Trimetilimidazopiridin
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
USDA	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
4.1.	Yüzeyine serpmeye yöntemiyle ekstrakt eklenmiş köfte örneklerinin reishi mantarı ekstraktının farklı konsantrasyonlarına göre toplam HAA içerikleri	34
4.2.	Yağ yüzdesi ile toplam HAA düzeylerinin saçılım grafiği	37
4.3.	Ağırlık kaybı ile toplam HAA düzeylerinin saçılım grafiği	37
4.4.	Nem yüzdesi ile toplam HAA düzeylerinin saçılım grafiği	38



TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
2.1.	Heterosiklik Aromatik Aminlerin Kimyasal İsimleri ve Kısaltmaları	4
3.1.	Analizi yapılan HAA'ların LOD ve LOQ değerleri	24
4.1.	Çiğ köfte örneklerinin toplam protein, yağ, nem, kül, pH ve TBARS değerleri	25
4.2.	Pişmiş köfte örneklerinin toplam yağ, protein, nem ve kül içerikleri	27
4.3.	Pişmiş köfte örneklerinin iç sıcaklık, ağırlık kaybı ve pH değerleri	29
4.4.	Pişmiş köfte örneklerinin TBARS (mg MDA/kg) değerleri	30
4.5.	Farklı ekstrakt ekleme yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda reishi mantarı eklenmiş köfte örneklerinin farklı sıcaklıklarda pişirilmesi sonucu oluşan heterosiklik aromatik amin miktarları	33

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Heterosiklik aromatik aminler (HAA), diyetle insan kanseri için bir risk faktörü olarak çok ilgi gören bir bileşik sınıfıdır (1). Bu bileşikler 1977 yılında Profesör Sugimura ve Japonya'daki meslektaşları tarafından keşfedilmiştir. Japon bilim insanları kavrulmuş balık ve sığır etlerinden elde edilen kömürleşmiş parçaların ve dumanın *Salmonella thyphimurium* bazlı mutajenez testlerinde etkili bir faaliyet gösterdiğini ortaya koymuşlardır (2). Heterosiklik aromatik aminler, ızgara, rosto, yağda kızartma gibi çeşitli yöntemlerle pişirme ile yüksek sıcaklık nedeniyle oluşabilmektedir. Günümüzde bu yöntemlerle pişirilmiş gıdalardan 25'ten fazla HAA izole edilerek tanımlanmıştır (3). 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 (4).

Heterosiklik aromatik aminler, 2 büyük sınıfa ayrılmaktadır. Bunlardan bir tanesi pirolitik HAA'lardır. Amino-karbolinler veya IQ tipinde olmayan bileşikler olarak da isimlendirilmektedir. Bu bileşikler bazı özel aminoasitlerin yüksek sıcaklıkta (>300 °C) pirolizi ile ortaya çıkmaktadır. Bu aminoasitler triptofan, glutamik asit, fenil alanin ve ornitindir. Birkaç HAA'nın da soya globulini ve kazein gibi proteinlerin pirolizi ile oluştuğu bildirilmiştir (5). Aminoimidazoarenler (AIA) ise, evde pişirmede daha yaygın olarak kullanılan daha düşük sıcaklıklarda (150-300 °C) pişirilen etlerde oluşmakta ve IQ tipi bileşikler veya termik HAA'lar olarak da adlandırılmaktadır. Molekülün N-metil-2-aminoimidazol bölümü kreatinden türetilmekte ve AIA iskeletinin geri kalan kısımları Maillard reaksiyonunda oluşan Strecker degradasyon ürünlerinden (örneğin, piridinler veya pirazinler) ortaya çıktığı kabul edilmektedir (6).

Birçok in vivo ve in vitro çalışmada HAA'ların güçlü bir mutajen olduğu, karsinogen etkilerinden dolayı çeşitli organlarda tümör oluşumuna sebep olduğu bildirilmiştir (6). Epidemiyolojik çalışmalar, HAA'lara maruz kalma ile insanlardaki

kolon, prostat, meme ve pankreas gibi çeşitli organların kanseri arasında güçlü bir ilişki olduğunu da ortaya koymuştur (7-12). Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu (IARC) (1993), HAA'ları karsenojenite çalışmalarına göre 2 gruba ayırmaktadır: MeIQ, MeIQx, PhIP, AαC, MeAαC, Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1 ve Glu-P-2 muhtemel insan karsenojenleri (grup 2B) ve IQ ise olası insan karsenojenleri (grup 2A) (13).

Pişirme işlemiyle et ve balıklarda oluşan HAA konsantrasyonu ve tipi, pişirme yöntemi, pişirme süresi ve sıcaklığı, öncü maddelerin konsantrasyonu ve ham maddenin su ve yağ içeriği gibi birçok faktöre bağlı olmaktadır (14).

Antioksidanların HAA'ların oluşumunun engellenmesinde rolü olduğu bildirilmiştir. Bu etki, HAA oluşumunun farklı evrelerini inhibe etmesiyle açıklanmıştır (15). Elma kabuğu polifenol ekstraktı (16), üzüm çekirdeği ve biberiye ekstraktı (17), yeşil çay (18), alıç ekstraktı (19), kırmızı biber (20), enginar ekstraktı (21), karabiber (22), nar çekirdeği ekstarktı (23) gibi çeşitli antioksidanlarla yapılan çalışmalarda HAA oluşumunun farklı oranlarda önlendiği gösterilmiştir.

Çin'de 'Lingzhi' olarak anılan ve Aphylophorales'in Ganodermataceae'sine ait olan *Ganoderma lucidum*, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için geleneksel Çin tıbbında yaygın olarak kullanılan bir mantar türüdür (24). *G. lucidum*'un yararlı sağlık özellikleri, meyve cisimcikleri, miselyum ve sporlarda bulunan çok çeşitli biyoaktif bileşiklerden kaynaklanmaktadır (25). *G.lucidum*'un belli başlı kimyasal bileşenlerinden bazıları polisakaritler, polisakarit-peptid kompleksi, β -glukanlar, lektinler, organik germanyum (Ge), adenosin, triterpenler, steroller ve nükleositlerdir (26). Temel olarak, antioksidan, antitümör, anti-inflamatuar, antihipertansif, antilipidemik etki göstermesine ek olarak bronşit, artrit, kronik hepatit, mide ülseri, immünolojik bozukluklar ve skleroderma gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (27). Antioksidan özellik göstermesinden dolayı reishi mantarının HAA oluşumu üzerine etkisi olabileceği düşünülmektedir.

1.2. Amaç ve Varsayım

Bu çalışmada köftelere farklı konsantrasyonlarda reishi mantarı ekstraktı eklemenin HAA oluşumu üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada

pişirme sıcaklığı(150°C ve 190°C), ekstrakt yüzdesi (%0, %0,25, %0,50 ve %1) ve ekstraktı ekleme yöntemi (yüzeyine serpmeye ve içine karıştırma) ile oluşan HAA miktarı arasındaki ilişki incelenmektedir. Bu çalışmanın HAA oluşumunu azaltmak için reishi mantarı ekstraktı ve diğer antioksidan içerikli ekstraktların köfte yapımında kullanımına öncülük edebileceği düşünülmektedir.

Hipotez 1: Reishi mantarı ekstraktı ekleme köftede HAA oluşumunu azaltır.

Hipotez 2: Farklı konsantrasyonlarda reishi mantarı ekstraktı ekleme HAA oluşumunu farklı düzeyde etkiler.

Hipotez 3: Ekstraktı ekleme yöntemi HAA oluşumunu etkiler.

Hipotez 4: Pişirme sıcaklığı arttıkça HAA oluşumu artar.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Sınıflandırılması ve Oluşumu

HAA'lar, özellikle et gibi protein içeriği yüksek besinlerin yüksek sıcaklıklarda pişirilmesi sonucu oluşan mutajenik ve karsinojenik bileşiklerdir (28). Bu bileşikler ilk olarak 1977 yılında Profesör Sugimura tarafından normal ev tipi pişirme işlemlerinin sonucunda tanımlanmıştır (29). Proteinli besinlerde 25'ten fazla HAA tespit edilmiştir. Bu HAA'lar 2 farklı gruba ayrılmıştır: Amino karbolinler veya pirolitik HAA'lar ve amino-imidazo-azaarenler (AIA) (30). Bu HAA'ların kimyasal isimleri ve kısaltmaları Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Kimyasal İsimleri ve Kısaltmaları (31).

Heterosiklik Aromatik Aminler		
Amino karboniller		
α-amino-karbolinler	AαC	2-amino-9H-dipirido [2,3-b] indol
	MeAαC	2-amino-3-metil-9H-dipirido [2,3-b] indol
β-amino-karbolinler	Norharman	9H-pirido [3,4-b] indol
	Harman	1-metil-9H-pirido [3,4-b] indol
	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
	Glu-P-1	2-amino-6-metil-dipirido [1,2-a: 3', 2'-d] imidazol
	Glu-P-2	2-amino-dipirido [1,2-a: 3', 2'-d] imidazol
Amino-imidazo-azaarenler		
Kinolinler	IQ	2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolin
	MeIQ	2-amino-3,4-dimetilimidazo [4,5-f] kinolin
Kinoksalinler	IQx	2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinoksalin
	MeIQx	2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5-f] kinoksalin
	4,8-DiMeIQx	2-amino-3,4,8-trimetil imidazol [4,5-f] kinoksalin
	7,8-DiMeIQx	2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] kinoksalin
	4,7,8-TriMeIQx	2-Amino-3,4,7,8-tetrametilimidazo [4,5-f] kinoksalin
Piridinler	PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-b] piridin
	DMIP	Dimetilimidazopiridin
	TMIP	Trimetilimidazopiridin

2.1.1. Amino-imidazo-azaarenler (Termik HAA'lar)

AIA'lar, kızartma, kavurma gibi pişirme yöntemleri için kullanılan sıcaklıkta, 300 °C'nin altında kolaylıkla oluşabilmektedir. AIA'ların oluşumuna yol açan üç ana öncü madde, kas etlerinde orijinal olarak bulunan kreatin/kreatinin, şekerler ve amino asitlerdir (32). AIA'lar, 2-aminoimidazo parçasına ve imidazo halkasındaki nitrojenlerden birine bağlı bir metil grubuna sahiptir (33). AIA'lar, 2-aminoimidazo'ya bağlanan gruplara bağlı olarak üç alt gruba ayrılabilir. Bu alt gruplar, kinolinler, kinoksalinler ve piridinlerdir. Kinolinler IQ-tipi (örneğin IQ ve MeIQ) olarak adlandırılırken, kinoksalinler IQx tipi olarak adlandırılır (ör. IQx, MeIQx ve DiMeIQx). Piridin alt grubundaki en önemli HAA'lar PhIP, DMIP ve TMIP'dir (34).

Maillard reaksiyonunun AIA'ların oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Molekülün N-metil-2-aminoimidazol kısmı kreatinden türetildiği ve IQ ve IQx iskeletinin kalan kısımlarının, heksozlar ve aminoasitler arasındaki Maillard reaksiyonunda oluşan Strecker bozunma ürünlerinden (örn., Piridinler veya pirazinler) kaynaklandığı varsayılmaktadır (35, 36). Bir aldol kümelenmesinin, IQ ve IQx-halkalı yapıdaki HAA'ları oluşturmak için iki molekülü bir aldehit veya ilgili Schiff bazına bağladığı düşünülmektedir. PhIP fenilalanin, kreatinin ve glikoz içeren bir model sisteminde oluşabildiği gibi şeker yokluğunda da oluşabilmektedir (1).

PhIP oluşumunun mekanizması, diğer AIA'ların oluşum mekanizmasından farklıdır. PhIP mekanizması, fenilasetaldehit oluşturan iki öncü, fenilalanin ve kreatinin reaksiyonu ile başlamaktadır. Daha sonra kreatinin ile fenilasetaldehidin aldol kümelenmesi gerçekleşmekte ve PhIP son ürün olarak üretilmektedir. PhIP molekülü içindeki azot oluşturan piridin parçası başlangıçta ya kreatininin ya da fenil alaninin bir amino grubu ya da serbest amonyaktan türetilmiştir (37).

2.1.2. Amino-karbolinler (Pirolitik HAA'lar)

Amino karboniller ise daha yüksek sıcaklıklarda (>300°C) aminoasit ve proteinlerin pirolitik reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (29). Amino karbonillerin yapısı, iki-altı adet aromatik halkalar arasında tabakalanmış beş adet heterosiklik aromatik halkayı içerir. Amino karboniller ayrıca kendi içinde α -alt gruba (örn. A α C

ve MeAcC), β -alt gruba (ör. Norharman, harman), γ -alt gruba (ör. Trp-P-1, Trp-P-2) ve δ -alt gruba (örn. Glu-P-1, Glu-P-2) ayrılmaktadır. Diğer HAA'lardan farklı olarak, β -amino-karbolinler (ör. Norharman ve harman), Ames Salmonella mutajenite testinde mutajenik olmamalarına neden olan ekzosiklik amino grubundan yoksundur (34). Amino karbonillerin oluşumunun ana öncüleri, kreatin/kreatinin varlığından bağımsız olarak amino asitler veya proteinlerdir (34, 37). Bu reaksiyonda yer alan amino asitler ve proteinler arasında triptofan, glutamik asit, lizin, fenilalanin, ornitin, kreatin veya pirolize edilmiş proteinler (örneğin kazein, albümin, gluten veya soya fasülyesi globulini) yer almaktadır (38). Oldukça yüksek sıcaklıklarda oluştukları için, bunlar evde pişirme yöntemi uygulanmış besinlerde tespit edilememekte veya seyrek olarak oluşmaktadır. Amino-karbolinler oluşumunun muhtemel mekanizmaları, birçok reaktif parça üreten ve daha sonra amino-karbolin HAA'larını oluşturmak üzere yoğunlaşan serbest radikal reaksiyonları yoluyla gerçekleşmektedir (39).

2.2. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Metabolizması ve Karsinojenitesi

2.2.1. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Metabolizması

Doğal formunda bulunan çoğu HAA, mutajenik veya karsinojenik değildir. Ancak metabolik aktivasyondan sonra DNA katımları oluşturma yeteneğine sahip olurlar. HAA'ların başlıca metabolik aktivasyon yolu, faz I ve faz II biyoaktivasyon yoludur. HAA'lar, hepatik sitokrom CYP1A2 aracılığıyla ekzosiklik amino grubunda katalize edilen N-hidroksilasyon yoluyla aktive edilir ve N-hidroksi-HAA türevleri oluşturur (40). Bu N-hidroksi-HAA türevlerinin çoğu N-asetil transferaz (NAT), sülfotransferaz, prolil tRNA sentetaz ve fosforilazı içeren 4 sitosolik enzimle faz II biyoaktivasyonunu takip eder. Ekzolik amino gruplarında NAT, N-asetoksi-ester türevleri; sülfotransferaz, sülfoniloksi ester türevleri; prolil tRNA sentetaz N-propiloksi ester türevleri ve fosforilaz N-fosfatil ester türevleri oluşturur (41). Bu reaktif esterler daha sonra DNA veya proteinler ve diğer hücrel bileşenlerle reaksiyona girerek DNA katımı oluşturma yeteneğine sahip reaktif nitronyum iyon-asetat anyon çiftini oluşturmak için heterolitik bölünmeye uğrarlar (42). HAA-DNA

oluşumunun N-hidroksi-HAA türevlerinin faz II biyoaktivasyonu ile büyük ölçüde arttığı düşünülmektedir. Synderwine ve ark. (43) yaptıkları bir çalışmada N-hidroksi-IQ'nun NAT aracılı metabolizmasının N-asetoksi-IQ'ya göre IQ-DNA katım oluşturma seviyesinin 30 kat daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

2.2.2. DNA Katımı Oluşturma

DNA katımı oluşumu, genotoksik kimyasalların mutajenik ve karsinojenik potansiyelini değerlendirmek için bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir. DNA katımı, reaktif nitronyum iyonları aracılığı ile esterleşmiş N-hidroksi-HAA ve deoksiguanozinin C-8 atomunun (dG-C8) reaksiyonundan meydana gelmektedir (44).

DNA eklentileri oluşturulduktan sonra DNA onarımına girebilirler; Nükleotid eksizyon onarımının 3' kesme aşaması, HAA'lar tarafından zarar gören DNA onarımında önemli bir rol oynamaktadır (45). DNA onarımının aktivitesi büyük ölçüde hücre döngüsünün hızına bağlıdır. Hücre döngüsü hızlandırılırsa, sıklıkla karsinojenler, mutajenler veya organa özgü başlatıcılar gibi eksojen toksik maddelerin etkisinden kaynaklanan hücre hasarının bir sonucu olarak, DNA hasarı tamir edilemez. Mutasyona uğramış DNA, tümör oluşumunun olası bir öncüsüdür. Diğer taraftan, eğer hücre döngüsü azalır, çay polifenoller, ahududu polifenoller veya karotenoidler gibi bazı fitokimyasallarla gözlemlendiği gibi, DNA hasarı tamir edilebilmektedir (46).

2.2.3. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Karsinojenitesi

HAA'ların karsinojenitesi, uzun süreli hayvan çalışmalarında geniş bir organ ve doku yelpazesinde değerlendirilmiştir (31). Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu (IARC) (1993), HAA'ları karsinojenite çalışmalarına göre 2 gruba ayırmaktadır: MeIQ, MeIQx, PhIP, AαC, MeAαC, Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1 ve Glu-P-2 muhtemel insan karsinojenleri (grup 2B) ve IQ ise olası insan karsinojenleri (grup 2A) (13). IQ, düşük dozda (10 mg/kg) ve yüksek dozda (20 mg/kg) % 95 oranında insan dışı primatların %55'inde hepatoselüler karsinom indüklemeye kabiliyeti nedeniyle olası insan karsinojen olarak sınıflandırılmaktadır (47).

Karaciğerin, HAA'ların metabolik aktivasyonundaki baskın rolü nedeniyle birçok HAA tarafından indüklenen karsinojeneze duyarlı olduğu gösterilmiştir (48). Bu karsinojenitenin, ilgili organ/dokulardaki HAA düzeyindeki metabolitleri ve/veya DNA katımları ile ilişkili olduğunu gösteren kanıtlarla desteklenmektedir (34).

2.2.4. Epidemiyolojik Çalışmalar

Epidemiyolojik çalışmalar, uzun vadede HAA genotoksitesi ve insan sağlığı riskleri arasında en doğrudan bağlantıyı sağlamaktadır. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, insanların et tüketiminin ve diyetSEL maruziyetin kanserin etiolojisindeki potansiyel rolüne ilişkin kanıtları değerlendirmiştir (49). Son 10 yıldaki epidemiyolojik çalışmalar, iyi pişirilmiş etlerin yüksek oranda tüketilmesinin ve et karsinojenlerine, özellikle de HAA'lara yüksek oranda maruz kalmanın insanlarda kanser riskini artırabileceğini göstermiştir (50-52).

Kolorektal kanser (CRC) dünyadaki en yaygın üçüncü kanserdir; Avrupa'da ikinci sırada yer almaktadır (53). Çalışmalar, kırmızı veya işlenmiş et veya yüksek sıcaklıkta pişmiş etlerin CRC riskini arttırdığını göstermiştir (54). Amerika'da yapılan multi-etnik bir kohort çalışmasında kırmızı et, işlenmiş et ve toplam et tüketiminin CRC riski ile ilişkisi incelenmiştir. Çalışmaya 131.763 kişi katılmış ve bu kişilere ayrıntılı bir besin tüketim sıklığı anketi uygulanmıştır. Yüksek miktarda kırmızı et, işlenmiş et tüketiminin CRC riskini artırdığı bulunmuştur (55). 1996-2010 yılları arasında yapılan prospektif kohort çalışmasında 29.615 erkek ve 65875 kadının PhIP, MeIQx, DiMeIQx alımları incelenmiştir. Kırmızı et tüketimi ile alınan PhIP'in proksimal kolon kanseriyle ilişkili olduğu saptanmıştır (56).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2014 yılı Kanser Raporuna göre, prostat kanseri, erkeklerde dünya genelinde en sık rastlanan ikinci kanser olup, 2012 yılında tahminen 1.1 milyon vaka ve 0.3 milyon ölüm gerçekleşmiştir (57). Pişmiş ette en fazla bulunan HAA'lardan biri PhIP'dir. PhIP'in rat prostatında mutasyon sıklığını artırdığı, kemirgen modellerde prostat tümörüne neden olduğu gösterilmiştir. Sitokrom P450 1A2 (CYP1A2), CYP1B1, N-asetiltransferaz 1 (NAT1) ve NAT2 de dahil olmak üzere heterosiklik aminlerin metabolik aktivasyonu için gerekli olan bazı enzimler insan prostat dokusunda eksprese edilmektedir (58). Koutros ve ark. (8)

ABD'de bir kohort çalışması yürütmüş ve prostat kanseri insidansı ile iyi veya çok iyi pişirilmiş etlerin tüketimi arasında pozitif bir ilişki bulmuştur. ABD'de 10 merkezde yapılan başka bir prospektif bir kohort çalışmasında da pişirme metotları ve pişirme seviyeleriyle birlikte yaklaşık 29.000 yetişkin erkeğin et tüketimleri değerlendirilmiştir. Takip süresi boyunca 868 prostat kanseri vakası rapor edilmiştir. Kırmızı ve beyaz etin yüksek tüketimi prostat kanseri ile ilişkili bulunmazken, çok pişmiş et tüketimi ve PhIP'e maruz kalmanın doza bağlı olarak kanserle ilişkili olduğu bulunmuştur (58).

Meme kanseri, en sık görülen kanserdir ve gelişmiş ülkelerde kadınlarda kanserden ölümün ikinci en sık nedenidir (59). PhIP hem epigenetik hem de genotoksik mekanizmalarda rol alan tam bir karsinojendir. Ayrıca düşük konsantrasyonlarda östrojenik aktivite göstermektedir (60). Uruguay ve ABD'de yürütülen hastaneye dayalı vaka kontrol çalışmalarında iyi pişirilmiş et tüketimi ve HAA maruziyeti ile meme kanseri arasında pozitif ilişki olduğunu bildirilmiştir (9, 10).

Pankreas kanseri insanlardaki en ölümcül kanserlerden biridir (50). Yapılan bir çalışmada heterosiklik aminlerden Trp-P-1 ve 4,8-DiMeIQx'in pankreas kanserine neden olabileceği belirtilmiştir (61). Amerika'da yapılan nüfus bazlı vaka-kontrol çalışmasında et tüketimleri, pişirme metotları, pişirme seviyeleri değerlendirilmiştir. Çalışmaya 193 kanserli vaka ve 674 kontrol vakası katılmıştır. Izgarada pişirme yönteminin pankreas kanseri için risk olduğu sonucuna varılmıştır (51). Amerika'da yapılan başka bir vaka-kontrol çalışmasında 626 kanser vakası 530 kontrol vakası değerlendirilmiştir. Kanseri hastaların daha fazla gıda mutajeni aldığı görülmüştür (11).

2.3. Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Pişmiş etlerde HAA'ların oluşumu, etin türüne, pişirme sıcaklığına, pişirme süresine ve pişirme sırasında kızarma derecesine bağlıdır (38).

2.3.1. Pişirme Yöntemi

Pişirme yönteminin HAA oluşumunu ısı transferi ve su kaybı aracılığı ile etkilediği düşünülmektedir (62). Tavada kızartma, ızgara ve kavurma yöntemleri, gıdaların yüksek sıcaklıklarda ışımsal ve iletken süreçlerle işlem gördüğü pişirme yöntemleridir. Araştırmalar, bu yöntemlerle pişirilen et örneklerinin yüksek miktarlarda HAA oluşumuna neden olduğunu ortaya koymuştur (52, 63, 64). Fırında pişirme yönteminde ise gıdalar dolaylı konveksiyonla orta veya orta yüksek derecede ısı işlem görmektedir. Bu yöntemle düşük veya orta seviyede HAA oluştuğu bildirilmiştir (65). Yapılan bir çalışmada tavuk ve ördek göğsü kullanılarak 4 farklı pişirme yöntemi HAA oluşumu açısından incelenmiştir. Sonuçlar, en yüksek HAA içeriğinin kömür ızgarasında pişirilen tavuk göğsü (112 ng/g), ardından tavada kızartılmış ördek göğsü (53.3 ng/g), kömür ızgarada ördek göğsü (32 ng/g), tavada kızartılmış tavuk göğsü (27.4 ng/g), derin kızartılmış tavuk göğsü (21.3 ng/g), kızartılmış ördek göğsü (14 ng/g), kavrulmuş ördek göğsü (7 ng/g) ve kavrulmuş tavuk göğsü (4 ng/g) olduğunu göstermiştir (63). Yapılan başka bir çalışmada 5 farklı yöntemle (mikrodalga, fırın, elektrikli ocak, tavada kızartma ve ızgara/barbekü) pişirilen tavuk pizola ve balık fileto örneklerinde oluşan HAA miktarları değerlendirilmiştir. Tavuk pizola örnekleri için en yüksek ve en düşük HAA miktarları mikrodalga fırında pişirme yönteminde oluşmuştur (0.24 ng/g, 8.21 ng/g). Balık fileto örneklerinde ise mikrodalga, fırın, elektrikli ocak, tavada kızartma ve ızgara/barbekü yöntemleri kullanılmasıyla oluşan en yüksek HAA miktarları sırasıyla 18.09, 4.28, 3.12, 6.98 ve 5.22 ng/g bulunmuştur (66).

Pişirme yöntemlerinin (tavada kızartma, fırında pişirme ve ızgara/barbekü) heterosiklik amin oluşumu üzerine etkilerini belirlemek için yapılan başka bir çalışmada da, çok iyi derecede ızgara/barbekü yapılan hamburgerlerde 16,8 ng/g PhIP ve 4,6 ng/g MeIQx, çok iyi derecede tavada kızartılmış biftekte 8,2 ng/g MeIQx tespit edilmiştir. PhIP ise ızgarada pişirilmiş biftekte maksimum 30,0 ng/g düzeyinde tespit edilmiştir (67).

2.3.2. Pişirme Sıcaklığı ve Süresi

Pişirme süresi ve sıcaklığı HAA oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerdendir. Yapılan çalışmalar hem pişirme süresi hem de pişirme sıcaklığının HAA oluşumunda çok güçlü etkileri olduğunu göstermiştir (32).

Gibis ve ark. (68) yaptığı bir çalışmada domuz pastirmaları 150-170 °C ve 200-220 °C'de tavada kızartma yöntemiyle pişirilmiştir. 150-170°C'de 4 farklı pişirme süresinde (3, 4, 5, 6 dk), 200-220 °C'de ise 2 farklı pişirme süresinde (2, 3 dk) oluşan HAA miktarı değerlendirilmiştir. En yüksek HAA miktarları 150-170 °C'de 6 dk pişirilen (21.8 ng/g), 200-220 °C'de ise 3 dk pişirilen örneklerde (29.7 ng/g) bulunmuştur. Liao ve ark. (64) yaptığı bir çalışmada domuz eti 100, 125 ve 150°C'de tavada sotelenmiştir. Oluşan toplam HAA miktarları 100°C'de 47,83 ng/g, 125°C'de 57,97 ng/g ve 150°C'de 91 ng/g olarak bulunmuştur.

Knize ve ark. (69). yaptıkları bir çalışmada köfteler 150°C, 190 °C ve 230°C 'de 2,4,6 ve 10 dakika kızartmışlardır. 150°C'de 10 dakika kızartılan köftelerde en yüksek MelQx, PhIP, DiMelQx ve IQ miktarları sırasıyla 0.6 ng/g, 1.8 ng/g, 0.4 ng/g ve 0.1 ng/g'dir. 190°C'de kızartılan köftelerde ise MelQx 0.1-1.3 ng/g, PhIP saptanabilir sınırın altında bir değerle 9.8 ng/g arasında, DiMelQx saptanabilir değerinin altında bir değerle 1.1 ng/g arasında ve IQ ise 0.1-0.4 ng/g arasında ölçülmüştür. 230°C'de kızartılan köftelerde ise en yüksek MelQx, PhIP ve IQ miktarları 10 dakika kızartma sonucunda 7.3 ng/g, 32 ng/g ve 0.7 ng/g olarak tespit edilmiştir.

2.3.3. Öncü Madde Konsantrasyonu

HAA'lar, ana öncü maddelerin (kreatin veya kreatinin, şeker ve amino asitler) miktarlarına ve aynı zamanda ette bulunan ara maddeler (örneğin, Amadori bileşikleri, Strecker dehidrasyon, piridin ve pirazin) miktarlarına bağlı olan karmaşık kimyasal reaksiyonlar yoluyla oluşurlar (14, 41, 70).

Kreatin/Kreatinin: Kreatin veya kreatinin çeşitli modellerde ve kızartma deneylerinde gösterildiği gibi çeşitli HAA'ların oluşumu için öncü maddelerdir (38). Bordas ve ark. (71) yaptığı bir çalışmada kreatininin miktarındaki 5 kat artışın, yüksek miktarlarda IQ, MelQx ve PhIP oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir. Bununla

birlikte kreatinin miktarı 25 katına kadar artırıldığında, PhIP miktarının arttığı, ancak IQ ve MeIQx miktarlarının azaldığı gösterilmiştir. Bu durum aşırı miktarda kreatininin IQ ve IQx tipi bileşiklerin üretilmesinde elverişli olmadığını göstermektedir.

Şeker: Mutajenik ajanların oluşumu için şekerin varlığı gerekli değildir. Kuru ısı işlemler kullanılan model sistemlerde şeker veya aldehitlerin yokluğunda AIA'lar elde edilmiştir. Bununla birlikte sıvı model sistemlerinde belirli konsantrasyonlarda şeker gereklidir (70). Diğer öncü maddelere karşı şeker miktarının aşırı artırılması HAA oluşumunu yavaşlatabilmektedir (72). Yapılan bir çalışmada kızarmış balık lifine %9, %14 ve %19 oranlarında şeker eklenmiştir. HAA seviyeleri şeker seviyesi %14 olana kadar artmıştır. Bununla birlikte şeker seviyesi %19 olduğunda ise HAA oluşumu %43 oranında azalmıştır (73). Hasnol ve ark. (74) yaptıkları bir çalışmada farklı şeker tipleri ile marine ettikleri tavuk etinde HAA oluşumunu incelemişlerdir. Glikoz ve fruktozdan zengin olan balın HAA oluşumunu sukroz oranı yüksek olan sofr şeker ve esmer şeker göre daha etkili bir şekilde önlediğini göstermişlerdir.

Aminoasit : Serbest aminoasitlerin doğasına bağlı olarak bazı HAA'ların öncelikli oluşumunu indükleyerek hız sınırlamada önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (30). Borgen ve ark. (75) farklı et türlerinde oluşan PhIP miktarını ve birkaç serbest aminoasidin karşılık gelen oranını ilişkilendirerek tavuktaki yüksek PhIP oranının fenil alanin ve lösinle bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada liyolifize et ekstraktına 50 katı kadar glisin, alanin ve fenil alanin eklenmesinin MeIQx ve PhIP miktarlarında artışa neden olduğu bildirilmiştir (76).

2.3.4. Nem İçeriği

Bir et dokusunda su, suda çözünebilir öncü maddelerin etin yüzeyine taşınmasında önemli role sahiptir (77). Su seviyesi yüksek ise, pişirme sırasında bazı HAA öncüleri etin iç kısmından yüzeye kolaylaştırılmış difüzyonla taşınarak HAA oluşumunda artışa neden olurlar (72). Bir model sistemde yapılan çalışmada 0.44'lük bir su oranının IQ bileşiklerinin oluşumunu desteklediği bildirilmiştir (38).

Su varlığı, HAA'ların tipini de etkilemektedir. Piridin aminler (PhIP, TMIP, IFP) kuru koşullarda oluşurken, IQ ve IQx tipi aminler nemli koşullarda oluşmaktadır (39). Kuru model sistemde önemli ölçüde artan PhIP oluşumu genellikle pişirme sırasında

etin yüzeyinde (kabuk) gerçekleşmektedir. Yüksek oranda su kaybı yaratan pişirme koşulları, PhIP için uygun ortam hazırlamaktadır (37) ve tavuk göğsünde PhIP çok yüksek seviyelerde (480 ng/g'a kadar) tespit edilmiştir (78).

2.3.5. Yağ İçeriği

Lipitlerin HAA oluşumu üzerindeki etkileri tam olarak anlaşılamamıştır çünkü HAA oluşumu üzerinde hem inhibe edici hem de artırıcı özellikleri olduğu gösterilmiştir. Lipitlerin HAA oluşumu üzerindeki inhibe edici etkisinin etteki öncü maddeleri seyreltmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (79). HAA oluşumu üzerindeki artırıcı etkisinin ise lipitlerin ısıyı besinlere daha verimli aktarmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (80-82). Lipitler, Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumunu hızlandıran lipit oksidasyonu yoluyla HAA 'ların oluşumunda kimyasal olarak yer alabilirler (83). Robbana-Barnat ve ark. (70) mutajenik bileşiklerin maksimum seviyede oluşabilmesi için optimum bir yağ seviyesi olduğunu ve bu optimum seviyenin kıyma için %10 olduğunu bildirmiştir. Holtz ve ark. (84) yağ seviyesinin (%2.8-16.6) mutajenik aktivite üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada en düşük mutajenik aktivitenin yüksek yağlı örneklerde olduğunu rapor etmişlerdir. Buna ek olarak Abdulkarim ve ark. (82) % 5 yağ içeren sığır etinde HAA'ların oluşumunun % 15 yağ içeren sığır etinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

2.3.6. Etin Özellikleri

Hayvan türleri, kas tipi, olgunlaşma ve et kalitesi de dahil olmak üzere et özelliklerinin, pişmiş et ürünlerinde HAA'ların oluşumunu etkileyen kaslardaki öncü maddelerin endojen konsantrasyonları üzerinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (72). Etin, özellikle dana etinin olgunlaştırılması (yumuşatılması), protein proteoliz aşamalarından kaynaklanan hassasiyet ve lezzette artış gösteren normal bir yöntemdir (85, 86). Dana etinin olgunlaştırılmasının HAA (PhIP ve MeIQx) seviyelerinde artışa neden olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada 1-10 gün arasında olgunlaştırılan dana etlerinde HAA miktarlarında artış gözlemlenmiştir. Bu artışın kreatinin, toplam aminoasit ve glukoz miktarının artışından kaynaklandığı düşünülmektedir (86).

2.4. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumunun Önlenmesi

Daha önce belirtildiği gibi HAA oluşumu pişirme sıcaklığı ve süresi, pişirme yöntemi, öncü madde konsantrasyonu gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (65, 69, 87). Bunun yanında yapılan çalışmalarda antioksidanlar, marinasyon işlemi, mikrodalga ile ön işlem ve su tutma kapasitesinin artırılmasının HAA oluşumunun azaltılmasında önemli bir rolü olabileceğini göstermiştir (7, 23, 45, 88).

2.4.1. Antioksidanlar

Yapılan çalışmalarda doğal antioksidanların HAA'ların miktarlarını azaltmada önemli bir rol oynayabileceği rapor edilmiştir (72, 89, 90). HAA oluşumunda yer alan serbest radikal yollar (piridin ve pirazin radikalleri) yolu ile antioksidanların radikal söndürücü ve serbest radikal temizleyici özelliklerinden dolayı HAA oluşumunun sınırlandırılmasında etkili oldukları düşünülmektedir (15).

Özellikle meyve ve sebzelerden elde edilen ekstraktların, pişmiş et ürünlerinde HAA oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Alıç ekstarktı kullanılarak yapılan bir çalışmada alıç ekstarktının % 0.5 ve % 1 oranlarında kullanılmasının toplam HAA miktarını sırasıyla tavuk göğsünde %12-100 ve %19-97; biftekte ise %42-100 ve %20-35 oranında azalttığı rapor edilmiştir (19). Nar çekirdeği ekstarktı ile yapılan başka bir çalışmada %0.5 oranında ekstrakt eklenmesiyle köftelerde PhIP oluşumunda %68, norharman oluşumunda %24, harman oluşumunda %18, IQ oluşumunda %45 ve MeIQx oluşumunda % 57 oranında azalma gözlemlenmiştir (23). Cheng ve ark. (91) yaptıkları bir çalışmada polifenol bakımından zengin dört meyve ekstarktı (elma, mürver ağacı meyvesi, üzüm çekirdeği ve ananas), kızartılmış sığır köftelerinde oluşan MeIQx, DiMeIQx ve PhIP miktarını önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (%15-% 71).

Baharatlar, dana etinde HAA'ların azaltılmasında yardımcı olan antioksidan maddelere sahiptir. Yapılan bir çalışmada köftelere farklı oranlarda kırmızı biber (%0.5, %1 ve %1,5) ve kapsaisin (2, 4 ve 6 mg) eklenerek HAA oluşum miktarları değerlendirilmiştir. Kırmızı biber ve kapsaisinin tüm konsantrasyonlarda HAA miktarını azaltmada etkili olduğu belirlenmiştir (20). Öz ve Kaya (22) yaptıkları bir

çalışmada köftelere %1 oranında karabiber eklemişlerdir. Toplam HAA miktarında azalma olduğunu (%12-100), en yüksek azalmanın ise PhIP oluşumunda (%100) olduğunu rapor etmişlerdir. Puangsombat ve ark. (92) yaptıkları bir çalışmada köftelere %0.2 oranında kimyon, kişniş tohumu, kulunçotu, Çin zencefili, biberiye ve zerdeçal eklemenin HAA oluşumu üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. HAA oluşumunu azaltmadaki en etkili baharatların Çin zencefili (% 33), biberiye (%43) ve zerdeçal (%39) olduğu belirlenmiştir.

2.4.2. Marinasyon

Marinasyon, etin pişirmeden önce marinatın difüzyon yoluyla ete nüfuz edebilmesi için birkaç saat hatta günlerce sürebilen bir süre zarfında sıvı bir marinatın içerisine batırılması işlemidir (93). Evlerde insanlar genellikle basit marinatlar kullanırlar. Bunlar genellikle baharatlar, sirke, limon suyu, tuz ve şaraptır. Günümüzde insanlar evde basit bir hazırlık gerektiren kullanıma hazır formda (toz, sıvı marinatlar) marinatlar kullanabilmektedirler (94).

Birçok çalışma et ürünlerinde marinasyon işleminin HAA oluşumu üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir. Busquets ve ark. (7) yaptıkları bir çalışmada kırmızı şarapla marinasyonun tavuk göğsünde HAA oluşumuna etkisini değerlendirmişlerdir. Kırmızı şarabın toplam HAA oluşumunda azalmaya neden olduğu, en çok azalmanın PhIP (%88) oluşumunda olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada da sarımsak, soğan, limon suyu ve zeytinyağıyla marinasyonun köftelerde HAA oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Daha fazla sarımsak ve soğan eklenmesi MeIQx miktarlarında azalmaya neden olduğu, HAA oluşumunda en fazla azalmanın sağlandığı soğan, sarımsak ve limon suyu oranlarının sırasıyla %31.2, %28.6 ve %14.6 olduğu belirlenmiştir (95).

2.4.3. Mikrodalga Fırın ile Ön İşlem

Mikrodalga fırın ile ön işlem, et ürünlerindeki HAA seviyesini azaltmanın pratik bir yoludur. Felton ve ark. (96) yaptıkları bir çalışmada, mikrodalga fırın ile ön işlemin kızartılmış köftelerdeki HAA seviyesinin azaltılmasındaki etkisini incelemişlerdir. Kızartma işleminden önce 3 dakika mikrodalga fırınla ön işlemin

MelQx, IQ, DiMelQx ve PhIP miktarlarında 3-9 kat azalma sağladığı sonucuna varmışlardır. Bu azalma etkisinin mikrodalga fırınlama işlemi sırasında HAA'ların (kreatin, şeker ve amino asitler) suda çözünebilir öncülerinin yaklaşık % 30 oranında ortadan kaldırılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

2.4.4. Su Tutma Kapasitesinin Artırılması

Daha önce de belirtildiği gibi, su, pişirme sırasında etin yüzeyindeki HAA'ların oluşumunda suda çözünebilir öncüllerin taşınmasında önemli bir rol oynar. Bu nedenle, su-bağlayıcı bileşiklerin eklenmesi, öncül maddelerin gıdaların iç kısımlarından yüzeye taşınmasını kısıtlayabilir ve böylece yüzeyde HAA oluşumunda bir azalmaya neden olabilmektedir (32). Yapılan bir çalışmada % 1.5 sodyum klorür ve % 0,3 sodyum tripolifosfattan oluşan bir çözeltinin sığır etlerine ilave edilmesinin, su tutma kapasitelerini arttırdığı, pişirme kaybını azaltmanın etkili bir yolu olduğu ve bunun da kızarmış dana burgerlerinde HAA'ların oluşumunu kontrollere göre % 38 oranında azalttığı rapor edilmiştir (97).

Bazı karbonhidratların ilavesinin besinlerdeki HAA oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (32). Persson ve ark. (88) yaptığı bir çalışmada %1.5 oranında karbonhidratların (patates nişastası, patates lifi ve buğday kepeği) % 1.5 oranında NaCl ve % 0.3'lük tripolifosfat ile sığır burgerine eklenmesinin hem ağırlık kaybını hem de HAA oluşumunu etkilediğini göstermiştir. Çiğ patates nişastasının HAA oluşumunu %70 oranında inhibe ettiği rapor edilmiştir.

2.5. Reishi Mantarı ve Sağlık Etkileri

Reishi, Ling-zhi veya ölümsüzlük mantarı olarak da bilinen Ganoderma Lucidum (G. Ludicum), yaklaşık 2000 yıldır Çin tıbbında kullanılan bir mantar türüdür. Parlak bir koyu kırmızı renge ve odunsu bir dokuya sahiptir. İsmi, parlak anlamına gelen "lucidus" kelimesinden türetilmiştir (98). Dünya çapında 80'den fazla türe sahip olup, tropikal bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır (99).

Reishi mantarının tıbbi kullanımı milattan önceye kadar dayanmaktadır. Özellikle Asya toplumları tarafından genel sağlığı geliştirmek amacıyla kullanılmaktaydı. Ayrıca tek başına veya kemoterapiyle birlikte kanser tedavisinde

kullanılmıştır (100). Günümüzde *G. lucidum*, doğu ülkelerinde en çok aranan şifalı mantarlardan biridir, popüler olarak, Çin'de Ling-zhi, Japonya'da Reishi ve Güney Kore'de Yeongji olarak bilinmektedir. Bu türler, en çok rapor edilenler olan polisakkarid ve triterpenik bileşenler olmak üzere başlıca biyoaktif bileşikler, özellikle polisakkaritler, terpenoidler, nükleotidler, steroidler, yağ asitleri, proteinler ve glikopeptidler bakımından zengindir (101).

G. lucidum, Geleneksel Çin Tıbbında (TCM) migren ve baş ağrısı, hipertansiyon, artrit, bronşit, astım, gastrit, hemoroid, hiperkolesterolemi, nefrit, dismenore, kardiyovasküler problemler ve kanser gibi 20'den fazla farklı hastalığı tedavi etmek için kullanılmıştır (102). Reishi mantarı ile ilgili yeni çalışmalar, antitümör, antiinflamatuvar, karaciğer koruyucu, antimikrobiyal, hipotansif, antidiyabetik ve hipolipodemik etkiler dahil olmak üzere, bu tür mantarlar arasında sayısız biyolojik aktivite göstermiştir (103-106).

Son yıllarda yapılan çalışmalar biyoaktif bileşikler olan polisakkarit ve triterpenler üzerine yoğunlaşmıştır (100). *G. lucidum*'dan elde edilen çeşitli ekstraktlar, göğüs, pankreas, akciğer, kolon, deri ve prostat dahil olmak üzere çok çeşitli kanser hücre dizilerinde antikanserojen etkiler göstermiştir (107). Yapılan hücre kültürü çalışmasında reishi mantarı triterpenlerinin insan prostat kanser hücrelerinde antikanser etkileri incelendiğinde yüksek doz (2 mg/ml) triterpenin matriks metalloproteinlerinin regülasyonu ile zaman ve doza bağımlı şekilde hücre canlılığını inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği belirlenmiştir (108). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise reishi mantarı ekstraktının kolorektal adenomalı bireylerde adenomaları baskıladığı görülmüştür (105).

Reishi mantarında bulunan biyoaktif bileşenler antioksidan, antihipertansif, hipokolesterolemik, immünomodülatör, platelet agregasyonunu önleme etkileriyle ateroskleroza önleyebilmektedir (109). Yapılan bir çalışmada stable anjina hastası ve risk altındaki bireylere 750 mg/gün dozunda reishi mantarından elde edilen polisakkarit peptid verilmiş ve risk altındaki bireylerde süperoksit dismutaz seviyesinde artış, her iki grupta da dolaşımdaki endotel hücre sayısında azalma

gözlenmiştir (110). Ratlarla yapılan başka bir çalışmada da ratlara farklı dozlarda (50,150 ve 300 mg/gün) reishi mantarından elde edilen polisakkarit peptid verilmiş ve H₂O₂ ve köpük hücre seviyelerinde doza bağımlı bir azalma, perivasküler doku ve plak kalınlığında azalma olduğu gösterilmiştir (103). Reishi mantarının içerdiği biyoaktif bileşenlerin antidiyabetik etkileri olduğu da literatürde belirtilmiştir (111). Ratlarla yapılan bir çalışmada Tip 2 diyabetli ratlara farklı dozlarda (50 ve 100 mg/kg/gün) resihi mantarından elde edilen polisakkaritler (GLP) verilmiştir. Açlık serum glikozu ve insülin her iki GLP grubunda diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur. GLP alan gruplarda açlık serum glikozu doza bağımlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir (112).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Hazırlanması

Araştırmada kullanılan az yağlı dana kıyma Ankara'da bulunan yerel bir marketten temin edilmiş ve yağ miktarı %8¹ olacak şekilde laboratuvar ortamında ayarlanmıştır. Köfte harcı dana kıyma ve %10 galeta unundan oluşmuştur. Antioksidan etki gösterecek herhangi bir bileşik (sarımsak,baharatlar vb.) ve tuz eklenmemiştir. Köfteler 1,5 cm kalınlığında 10 cm çapında kalıp kullanılarak şekillendirilmiştir.

Reishi mantarı ekstarktı Balen firmasından temin edilmiştir. Reishi mantarı ekstarktı %0 (kontrol), %0.25, %0.5 ve %1 konsantrasyonlarında köftelerin yüzeyine sürme veya içine karıştırma yöntemleriyle eklenmiştir. Ekstraktın köftelere nüfuz edebilmesi için hava ile teması engellenerek 16-18 saat süre ile 4°C ortamda bekletilmiştir.

3.2. Pişirme Süreci

Hazırlanan köfte örneklerine 150 ve 190 °C'de derin yağda kızartma işlemi uygulanmıştır. Derin yağda kızartma işlemi termostatlı fritöz (Tefal Principio,Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Pişirme süresi ön denemelerle 3 dakika olarak belirlenmiştir. Örnekler iki farklı sıcaklık, iki farklı yöntem ve dört farklı konsantrasyonda pişirildiğinden dolayı 16 farklı grup oluşturulmuştur. Örnekler iki tekrarlı olarak pişirilmiştir. Sekiz kontrol grubu olmak üzere toplamda 32 örnek grubu oluşturulmuştur.

Pişmiş köfte örneklerinin iç sıcaklığı probe termometre (Testo 905-T1) ile ölçülmüştür. Pişmiş ve pişmemiş örneklerin ağırlığı hassas terazi kullanılarak ölçülmüştür. Ağırlık kayıpları % olarak hesaplanmıştır.

Pişirme işlemi takiben örnekler oda sıcaklığında 30 dakika soğutulduktan sonra mutfak robotu ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler

¹Tez önerisinde bu miktar %20 olarak belirtilmiş ancak köftenin şekillendirilmesi ve dağılması açısından ön denemelerle %8 olarak belirlenmiştir.

folyo ile kaplanıp analizi yapılana kadar -20°C 'de bekletilmiştir. Örnekler analizden 1 gün önce 4°C 'de çözdürülmüştür.

3.3. Materyal

Heterosiklik aromatik amin analizi için kimyasallar etil asetat, metanol, aseton, sodyum hidroksit, hidroklorik asit, glasiyal asetik asit, asetonitril ve amonyum hidroksit çözeltisi (%25) Merck'ten temin edilmiştir. Katı faz ekstraksiyonu için Extrelut NT ambalaj malzemesi (Merck, Darmstadt, Almanya), Bond Elut rezervuarı (Varian, Harbor City, California, ABD), Oasis MCX kartuşu (Waters, Milford, Massachusetts, ABD), SPE manifold (Supelco Visiprep, Louis, Missouri, ABD) kullanılmıştır. Heterosiklik aromatik amin standartları, Toronto Research Chemicals'dan (Downsview, Ontario, Kanada) temin edilmiştir: 4,7,8-TriMeIQx (CAS no: 132898-07-8, 2-amino-3,4,7,8- tetrametilimidazo [4,5-f] kinoksalin), IQ (CAS no: 76180-96-6, 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolin), MeIQ (CAS no: 77094-11-2, 2-amino-3,4-dimetilimidazo [4,5-f] kinolin), IQx (CAS no: 108354-47-8, 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinoksalin), MeIQx (CAS no: 77500-04-0, 2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5-f] kinoksalin), PhIP (CAS no: 105650-23-5, 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-f] piridin), 4,8-DiMeIQx (CAS no: 95896-78-9, 2-amino-3,4,8-trimetilimidazo [4,5-f] kinoksalin), 7,8-DiMeIQx (CAS no: 92180-79-5, 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] kinoksalin), AαC (CAS no: 26148-68-5, 2-amino-9H-pirido [2,3-b] indol), MeAαC (CAS no: 68006-83-7, 3-amino-3-metil-9H-pirido [2,3-b] indol), Trp-P-2 (CAS no: 72254-58-1, 3-amino-1-metil-5H-pirido [4,3-b]indol). Araştırmada internal standart olarak 4,7,8-TriMeIQx kullanılmıştır. Analizde kullanılan tüm çözeltiler 0.45 mikron filtreden (Millipore, Billerica, Massachusetts, ABD) geçirilip kullanılmıştır.

3.4. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde TBARS Analizi

Lipit oksidasyon derecesi tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) belirlenmesiyle tespit edilmiştir. TBARS, Kerth ve Rowe (113) tarafından oluşturulan

prosedürün modifiye edilmesiyle elde edilen prosedüre göre belirlenmiştir. TBARS değerleri mg malondialdehit eşdeğer (MDA)/ kg et olarak gösterilmiştir.

3.5. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Yağ Tayini

Çiğ ve pişmiş köfte örneklerinde yağ tayini Soxhelet yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemde göre soxhelet kartuşlarına 2 g homojenize edilmiş köfte örneği ve 2 g sodyum sülfat (Na_2SO_4) eklenip üzeri cam pamukla kapatılmıştır. Soxhelet kartuşları, soxhelet cihazının kolonlarına yerleştirilmiş ve kolonlar alttan daha önceden sabit ağırlığı alınan cam balona bağlanmıştır. 150-200 ml eter kolonlara eklenip kolonlar cihazın soğutucu kısmına bağlanmıştır. Sistem 6-8 saat boyunca alttan ısıtılmıştır. Isıtma işleminden sonra cam balonların eteri uçurulup 105°C 'lik etüvde kurutulup 0,1 mg'a duyarlı hassas terazide tartılmıştır.

3.6. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Protein Tayini

Çiğ ve pişmiş köfte örneklerinde protein tayini Kjeldahl yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemde göre Kjeldahl balonlarına 1,5 g homojenize edilmiş köfte örneği, 20 ml % 96'lık sülfirik asit (H_2SO_4) ve 2 adet kjeldahl tableti eklenmiştir. Kjeldahl balonları, Kjeldahl cihazının yakma ünitesine yerleştirilip yakma işlemi uygulanmıştır. Yakma işlemi sonrasında Kjeldahl balonlarına 175 ml distile su, 2 tablet çinko ve 10 ml sodyum tiyosülfat eklenip Kjeldahl cihazının distilasyon kısmına yerleştirilmiştir. Distilasyon kısmının alt tarafına da içerisinde 50 ml borik asit çözeltisi bulunan erlenler yerleştirilmiştir. Kjeldahl balonlarına 60 ml doymuş NaOH çözeltisi eklenip ocak yakılmıştır. Erlende 150 ml distilasyon sıvısı toplanınca bu sıvı 0.1 N'lik HCl ile titre edilmiştir. Protein yüzdesi titrasyondan elde edilen sonuca göre hesaplanmıştır.

3.7. Pişirme ile Ağırlık Kaybının Belirlenmesi

Köfte örneklerinin pişirme öncesi ağırlıkları ve pişirme sonrası oda sıcaklığında 30 dk soğutulduktan sonraki ağırlıkları belirlenerek pişirme kayıpları % olarak hesaplanmıştır.

3.8. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinde Kül Tayini

Çiğ ve pişmiş köfte örneklerinde kül tayini için analiz öncesinde porselen krozelere 600 °C'lik kül fırınında 3 saat bekletilmiş ve desikatörde soğutularak hassas terazide daraları alınmıştır. Porselen krozelere 2 g homojenize edilmiş örnek konulmuştur. Krozeler kül fırınında 600 °C'de 5-6 saat tutulmuştur. Bu işlem sonrasında krozeler desikatörde soğutulup hassas terazide tartımlar yapılmıştır.

3.9. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinin pH Analizi

Köfte örneklerinden 10 g tartılıp üzerine 100 ml distile su ilave edilmiş ve Ultra Turrax karıştırıcı ile homojenize edilmiştir. Karışım Whatman 1 nolu filtre kağıdı ile süzöldükten sonra pH 4 ve pH 7 ile kalibre edilmiş pH metre ile ölçüm yapılmıştır.

3.10. Çiğ ve Pişmiş Köfte Örneklerinin Nem İçerikleri Analizi

Köfte örneklerinin nem içerikleri analizi Sartorius® MA150 nem tayini cihazı ile 105°C'de yapılmıştır.

3.11. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Ekstraksiyonu

Köfte örneklerinin HAA içeriği, Messner ve Murkovic (33) tarafından belirlenen ve Öz ve ark.(66) tarafından modifiye edilen bir metotla belirlenmiştir. Bu yöntemde 1 g köfte örneği 12 mL 1 M sodyum hidroksit (NaOH) içinde 500 rpm devirde 1 saat manyetik karıştırıcı kullanılarak homojenize edilmiştir. Üzerine 13 g paketleme materyali (Extrelut NT Packing Material, Merck, Darmstadt, Almanya) eklenerek karıştırılmıştır. Oasis MCX kartuşları vakum sistemine bağlanarak 2 mL etil asetat ile yıkanmıştır. Daha sonra ekstraksiyon kartuşları sisteme takılıp etil asetat ile yıkanmıştır. Oasis kartuşları önce 2 mL 0.1 M HCl ile sonra 2 mL metanol ile tekrar yıkanıp 4 ml'lik viallere 2 ml metanol: NH₃ (%25) (19:1) ile elue edilme işlemine dayanır. Analiz öncesinde eluat 50 °C'lik etüvde kurutulmuştur. Analizden hemen önce 100 µL metanol ilave edilerek çözdürülmüştür.

3.12. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Analizi

Ekstraksiyondan sonra yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile analiz edilmiştir. Ayrılma, ters fazlı bir analitik kolon (Semi mikro ODS-80 TS kolonu) (5 um, 250 mm x 2 mm i.d.) aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Ayırım Solvent A ve Solvent B (Asetonitril) gradient elüsyon ile 0,3 mL/dk akış hızında gerçekleştirilmiştir. Solvent A, metanol/asetonitril/su/glasiyel asetik asit'in 14/8/76/2 oranında karıştırılmasıyla elde edilen çözeltinin pH'sını 5'e ayarlayabilmek için %25'lik NH₃ eklenerek elde edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 5 µL ve gradient programı, 0-12 dk, %0 B; 12-20 dk, %0-30 B; 20-35 dk, %30 B olarak belirlenmiştir.

Köfte örneklerindeki farklı HAA 'lar için geri kazanım oranları, standart ekleme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Belirli HAA konsantrasyonları (0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 ng/g) ham örneklerle eklenmiştir. Ekstraksiyon ve analizden sonra HAA'ların geri kazanım oranları belirlenmiştir. HAA'ların geri kazanım oranları IQ için %65, MeIQ için %79, IQx için %78, MeIQx için %76, 4,8-DiMeIQx için %78, 7,8-DiMeIQx için %73, AαC için %62, MeAαC için %68, PhIP için %98 ve Trp-P-2 için %64 olarak belirlenmiştir. Analizi yapılan HAA'ların LOD (Limit of detection=3) ve LOQ (limit of quantification=10) değerleri ise Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Analizi yapılan HAA'ların LOD ve LOQ değerleri

HAA	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)
IQ	0,002	0,01
IQx	0,003	0,01
MelQ	0,005	0,02
MelQx	0,006	0,02
4,8-DiMelQx	0,005	0,02
7,8-DiMelQx	0,003	0,01
A α C	0,008	0,03
MeA α C	0,008	0,03
PhIP	0,005	0,02
Trp-P-2	0,005	0,02

3.13. Verilerin İstatistiksel Analizi

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS 23.0 paket programı kullanılmıştır. Verilerin istatistiksel analizi ANOVA ile yapılmış ve farklı bulunan ortalamalar için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında ve anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Çiğ Köfte Örneklerinde Proksimet, pH ve TBARS Analiz Sonuçları

Çiğ köfte örneklerinin toplam protein, yağ, nem, kül, pH ve TBARS değerleri tablo 4.1.'de gösterilmiştir. Çiğ köftede toplam protein miktarı % 18,19±0,19, toplam yağ miktarı 7,81±0,64, nem miktarı %61,07, kül miktarı % 1,05, pH 5,38 ve TBARS değeri 1,60±0,02 mg MDA/kg olarak bulunmuştur.

Tablo 4.1. Çiğ köfte örneklerinin toplam protein, yağ, nem, kül, pH ve TBARS değerleri

Et türü	Toplam protein (%)	Toplam yağ (%)	Nem (%)	Kül (%)	pH	TBARS (mg MDA/kg)
Çiğ köfte	18,19±0,19	7,81±0,64	61,07	1,05	5,38	1,60±0,02

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.2. Pişmiş Köfte Örneklerinin Toplam Yağ, Toplam Protein, Nem ve Kül İçerikleri

Pişmiş köfte örneklerinin ekstrakt ekleme metodu, ekstrakt yüzdesi ve pişirme sıcaklığına göre toplam yağ, protein, nem ve kül içerikleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Köfte örneklerinin ortalama toplam yağ yüzdeleri incelendiğinde, pişirme sıcaklığı arttıkça toplam yağ yüzdesinde artma olduğu belirlenmiştir. 150°C'de pişen örneklerin toplam yağ yüzdelerinin ortalaması 7,97±0,84, 190°C'de pişen örneklerin ise 12,30±0,65'tir. Pişirme sıcaklığı ve toplam yağ yüzdesi arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir(p<0,05). Ekstrakt ekleme metodu ve ekstrakt yüzdesi ile toplam yağ yüzdesi arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Toplam protein yüzdeleri incelendiğinde, pişirme sıcaklığı arttıkça toplam protein yüzdelerinde artma olduğu belirlenmiştir. 150 °C'de pişen örneklerin toplam protein yüzdelerinin ortalaması %17,01±2,00, 190 °C'de pişen örneklerin ise %20,60± 3,23 olarak bulunmuştur. Pişirme sıcaklığı ve toplam protein yüzdesi

arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Ekstrakt ekleme metodu ve ekstrakt yüzdesi ile toplam protein yüzdesi arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır.

Nem içerikleri, pişirme sıcaklığı yönünden incelendiğinde 150°C 'de pişen örneklerin nem içeriği yüzdelerinin ortalaması $\%58,25\pm1,16$, 190°C 'de pişen örneklerin ise $\%47,16\pm2,94$ 'tür. Aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). Ekstrakt ekleme metodu ve ekstrakt yüzdesi ile nem içeriği arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır.

Toplam kül miktarı pişirme sıcaklığı yönünden incelendiğinde 150°C 'de pişen örneklerin toplam kül miktarı yüzdelerinin ortalaması $1,42\pm0,14$, 190°C 'de pişenlerin ise $1,63\pm0,10$ 'dur. Aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). Ekstrakt ekleme metodu ve ekstrakt yüzdesi ile kül miktarı arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo 4.2. Pişmiş köfte örneklerinin toplam yağ, protein, nem ve kül içerikleri

	Toplam yağ (%)	Toplam protein (%)	Nem (%)	Kül (%)
Ekstrakt ekleme metodu				
Yüzeyine serpme	10,01±2,50	19,34 ± 4,18	53,14 ± 6,24	1,49 ± 0,15
İçine karıştırma	10,25±2,19	18,28 ± 1,75	52,27 ± 6,03	1,56 ± 0,17
p değeri	0,780	0,358	0,691	0,177
Ekstrakt yüzdesi				
Kontrol	10,54±2,56	18,17 ± 3,62	53,88 ± 6,69	1,54 ± 0,16
0,25	9,98±2,46	19,08 ± 3,01	52,67 ± 6,10	1,51 ± 0,17
0,5	9,43±2,30	19,03 ± 3,07	52,56 ± 5,88	1,47 ± 0,19
1	10,59±2,23	18,95 ± 3,61	51,71 ± 6,55	1,57 ± 0,13
p değeri	0,743	0,941	0,922	0,663
Piştirme Sıcaklığı				
150 °C	7,97±0,84	17,01 ± 2,00	58,25 ± 1,16	1,42 ± 0,14
190 °C	12,30±0,65	20,60 ± 3,23	47,16 ± 2,94	1,63 ± 0,10
p değeri	0,000*	0,001*	0,000*	0,000*

Veriler ortalamama±standart sapma olarak verilmiştir. *p <0,05

4.3. Pişmiş Köfte Örneklerinin Pişirme ile Oluşan pH, Ağırlık Kaybı ve İç Sıcaklık Değerleri

Pişmiş köfte örneklerinin iç sıcaklık, ağırlık kaybı ve pH değerleri Tablo 4.3.'e gösterilmiştir.

Pişirme sıcaklığı yükseldikçe köftelerde ağırlık kayıplarının da arttığı saptanmıştır. 150°C'de pişen örneklerin iç sıcaklık değerlerinin ortalaması 71,99±1,94 °C, 190°C'de pişen örneklerin ise 84,93±1,65 °C olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,01). Diğer yandan köftelere eklenen ekstrakt miktarı ile iç sıcaklıklar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05).

Ekstrakt ekleme metodu ile ağırlık kaybı yüzdeleri arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki saptanmamıştır (p> 0,05). Pişirme sıcaklığı yükseldikçe köftelerde ağırlık kayıplarının da arttığı saptanmıştır. 150°C'de pişen örneklerin ağırlık kaybı yüzdelerinin ortalaması 8,63±1,72, 190°C'de pişen örneklerin ise 28,13±1,32 olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,01). Ağırlık kaybı yüzdeleri ile ekstrakt yüzdesi arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Ekstrakt ekleme metodu ile pH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05). pH değerleri ile pişirme sıcaklığı arasında istatistiksel olarak önemli bir fark belirlenmiştir (p<0,05). 150°C'de pişen örneklerin ortalama pH değeri 6,31±0,06, 190°C'de pişen örneklerin ise 6,24±0,09'dur. Pişirme sıcaklığı arttıkça pH değeri artmıştır.

Tablo 4.3. Pişmiş köfte örneklerinin iç sıcaklık, ağırlık kaybı ve pH değerleri

	İç sıcaklık (°C)	Ağırlık kaybı (%)	pH
Ekstrakt ekleme metodu			
Yüzeyine serpmeye	78,81±7,35	18,34 ± 10,77	6,29 ± 0,05
İçine karıştırma	78,11±6,44	18,41 ± 9,57	6,26 ± 0,11
p değeri	0,776	0,986	0,288
Ekstrakt yüzdesi			
Kontrol	77,94±8,11	18,44 ± 11,98	6,30 ± 0,06
0,25	78,36±6,64	18,69 ± 9,99	6,28 ± 0,04
0,5	77,90±7,12	18,38 ± 10,05	6,32 ± 0,06
1	79,63±6,51	18,00 ± 10,00	6,22 ± 0,13
p değeri	0,958	0,999	0,093
Piştirme Sıcaklığı			
150 °C	71,99±1,94	8,63 ± 1,72	6,31 ± 0,06
190 °C	84,93±1,65	28,13 ± 1,32	6,24 ± 0,09
p değeri	0,000*	0,000*	0,036*

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. *p<0,05

4.4. Pişmiş Köfte Örneklerinde TBARS Değerleri (mg MDA/kg)

Pişmiş köfte örneklerinin TBARS değerleri (mg MDA/kg) tablo 4.4'te verilmiştir. Ekstrakt ekleme metodu ile TBARS değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki saptanmıştır (p<0,05). Yüzeyine serpmeye metoduyla ekstrakt eklenen köfte örneklerinin TBARS değerleri ortalaması 1,92±0,26 mg MDA/kg iken, içine karıştırma yöntemiyle ekstrakt eklenen köfte örneklerinin TBARS değerleri ortalaması 1,67±0,13'tür.

Ekstrakt yüzdeleri ve piştirme sıcaklıkları ile TBARS değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo 4.4. Pişmiş köfte örneklerinin TBARS (mg MDA/kg) değerleri

	TBARS (mg MDA/kg)
Ekstrakt ekleme metodu	
Yüzeyine serpmeye	1,92±0,26
İçine karıştırma	1,67±0,13
p değeri	0,002*
Ekstrakt yüzdesi	
Kontrol	1,84±0,23
0,25	1,88±0,24
0,5	1,82±0,28
1	1,64±0,18
p değeri	0,206
Piştirme Sıcaklığı	
150 °C	1,84±0,33
190 °C	1,75±0,09
p değeri	0,339

Veriler ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir. *p<0,05

4.5. Pişmiş Köfte Örneklerinin Heterosiklik Aromatik Amin İçerikleri

Pişmiş köfte örneklerinin ekstrakt ekleme metodu, ekstrakt yüzdesi ve piştirme sıcaklığına göre HAA içerikleri Tablo 4.5'te verilmiştir. Analizi yapılan pişmiş köfte örneklerinin hiçbirinde MeIQx, 7,8 DiMeIQx, 4,8 DiMeIQx, AαC, MeAαC, Harman bileşikleri tespit edilememiştir. Trp-P-2 bileşiği ise sadece 150°C'de pişirilen kontrol grubunda tespit edilmiştir. Diğer HAA'lar ekstrakt ekleme metodu, piştirme sıcaklığı ve reishi mantarı ekstraktı konsantrasyonuna bağlı olarak değişen miktarlarda tespit edilmiştir.

Analiz sonucunda elde edilen verilere göre IQx bileşiği saptanabilir sınırın altında ile 1,47 ng/g arasında bulunmuştur. Belirlenen en yüksek değer içine karıştırma yöntemiyle %0,5 konsantrasyonunda ekstrakt eklenmiş ve 190°C'de pişirilmiş örnekte tespit edilmiştir. Yüzeyine serpmeye yöntemiyle ekstrakt eklenen ve 190°C'de pişirilen örneklerden sadece kontrol grubunda tespit edilmiştir. İçine karıştırma yöntemiyle ekstrakt eklenen ve 190°C'de pişirilen örneklerde ise değişen miktarlarda tespit edilmiştir. %0,25 ve %1 konsantrasyonda reishi mantarı ekstraktı

kullanımının IQx miktarını sırasıyla %43,06 ve %26,39 oranında azalttığı, %0,5 konsantrasyonda kullanımının ise IQx miktarını %104,17 oranında arttırdığı belirlenmiştir.

Analiz sonucunda MelQ bileşiği sadece 2 grupta tespit edilmiştir. 190°C kontrol grubunda 0,72 ng/g düzeyinde, içine karıştırma yöntemiyle %0,25 konsantrasyonunda ekstrakt eklenen ve 190°C'de pişirilen örnekte ise 0,45 ng/g düzeyinde belirlenmiştir. 190°C'de pişirilen örneklerde yüzeyine serpmeye yöntemiyle reishi mantarı ekstraktı kullanımının MelQ miktarını %100 azalttığı tespit edilmiştir.

Analizi yapılan örneklerden sadece 150°C kontrol grubunda 2,10 ng/g düzeyinde Trp-P-2 tespit edilmiştir. 150°C'de pişen diğer örneklerde Trp-P-2 miktarı tespit edilebilir sınırın altındadır. Farklı konsantrasyonlarda (%0,25, %0,5, %1) reishi mantarı ekstraktı eklemenin 150°C'de Trp-P-2 oluşum miktarını %100 azalttığı tespit edilmiştir.

Analiz sonucunda elde edilen verilere göre PhIP miktarları tespit edilebilir sınırın altında ile 1,86 ng/g düzeyleri arasında tespit edilmiştir. 150 ve 190°C kontrol gruplarındaki PhIP düzeyleri tespit edilebilir sınırın altındadır. Yüzeyine serpmeye yöntemiyle %1 oranında reishi mantarı ekstraktı eklenen ve 150°C'de pişirilen örnekte 1,29 ng/g düzeyinde belirlenmiştir. İçine karıştırma yöntemiyle %0,25, %0,5 ve %1 oranında ekstrakt eklenen ve 150°C'de pişirilen örneklerde sırasıyla 0,67 ng/g, 0,63 ng/g, 1,86 ng/g düzeyinde PhIP bileşiği tespit edilmiştir. Yüzeyine sürme yöntemiyle %0,25 ve %1 konsantrasyonunda ekstrakt eklenen ve 190°C'de pişirilen örneklerde sırasıyla 0,85 ng/g ve 1,29 ng/g PhIP bileşiği belirlenmiştir. İçine karıştırma yöntemiyle %0,25,%0,5 ve %1 oranında ekstrakt eklenen ve 190°C'de pişirilen örneklerde belirlenen PhIP düzeyleri sırasıyla 0,67 ng/g, 0,86 ng/g ve 1,25 ng/g'dir. Reishi mantarı ekstraktı konsantrasyonu arttıkça oluşan PhIP miktarı artış göstermiştir.

Analiz sonucunda elde edilen verilere göre Norharman bileşiği sadece 190°C kontrol grubunda 0,95 ng/g düzeyinde tespit edilmiştir. Yüzeyine serpmeye yöntemiyle %0,25, %0,5 ve %1 konsantrasyonunda ekstrakt eklenen ve 190°C'de pişirilen örneklerde oluşan PhIP miktarı tespit edilebilir sınırın altındadır. Kontrol grubu

örneklerine göre farklı konsantasyonlarda ve farklı yöntemlerle reishi mantarı ekstraktı eklenen köftelerde Norharman oluşumu tespit edilmemiştir.

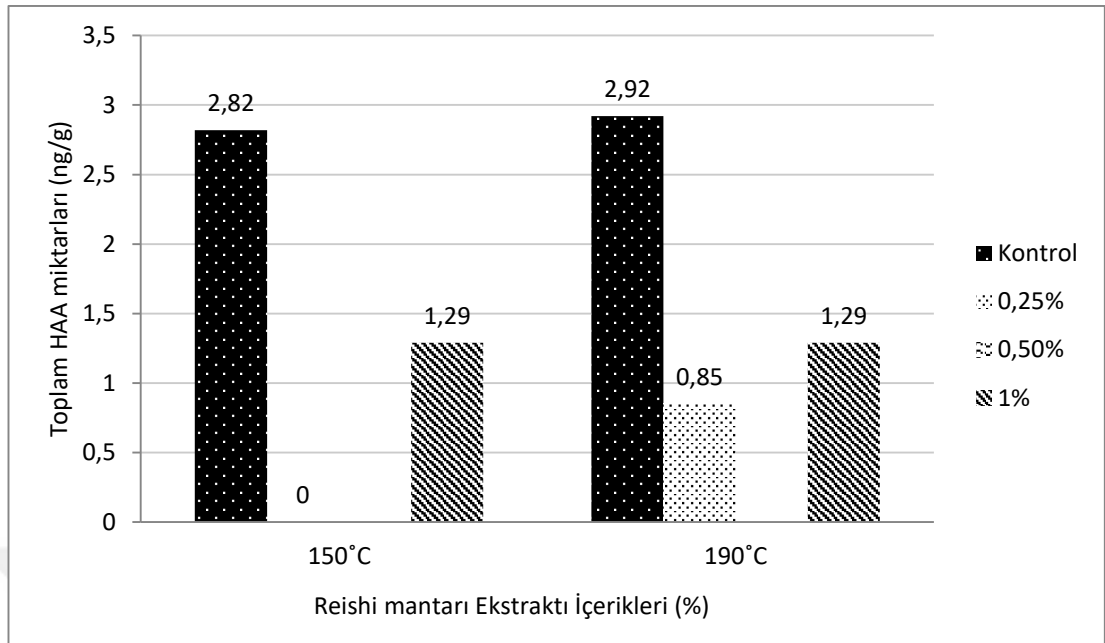


Tablo 4.5. Farklı ekstrakt ekleme yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda reishi mantarı ekstarktı eklenmiş köfte örneklerinin farklı sıcaklıklarda pişirilmesi sonucu oluşan heterosiklik aromatik amin miktarları

Pişirme Sıcaklığı	Ekstrakt ekleme yöntemi	Ekstrakt yüzdesi	IQx	IQ	MeIQ	Trp-P-2	PhIP	Norharman	Toplam HAA	Önlenmesi (%)	
											Yüzeğine serpme
150 °C	Yüzeğine serpme	Kontrol	0,59	0,13	nd	2,10	nd	nd	2,82		
		0,25	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(-)100,00	
		0,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(-)100,00
	İçine karıştırma	1	nd	nd	nd	nd	1,29	nd	1,29	1,29	(-)54,26
		Kontrol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
		0,25	nd	nd	nd	nd	0,67	nd	0,67	0,67	Hesaplanamadi
	Yüzeğine serpme	0,5	nd	nd	nd	nd	0,63 ± 0,40	nd	0,63	0,63	Hesaplanamadi
		1	nd	nd	nd	nd	1,86 ± 0,54	nd	1,86	1,86	Hesaplanamadi
		Kontrol	1,25±0,92	nd	0,72	nd	nd	0,95 ± 0,30	2,92	2,92	
190 °C	Yüzeğine serpme	0,25	nd	nd	nd	nd	0,85	nd	0,85	(-)70,89	
		0,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(-)100,00	
		1	nd	nd	nd	nd	1,29	nd	1,29	(-)55,82	
	İçine karıştırma	Kontrol	0,72 ± 0,25	nd	nd	nd	nd	nd	0,72	0,72	
		0,25	0,41	nd	0,45	nd	0,67	nd	1,53	1,53	(+)112,50
		0,5	1,47	nd	nd	nd	0,86 ± 0,01	nd	2,33	2,33	(+)161,00
	Yüzeğine serpme	1	0,53	nd	nd	nd	1,25 ± 0,11	nd	1,78	1,78	(+)106,00
		Kontrol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
		0,25	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	

Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Bazı gruplarda iki örnekten sadece birinde saptandığı için saptanan miktar verilmiştir.

nd: Tespit edilemedi.



Şekil 4.1. Yüzeğine serpme yöntemiyle ekstrakt eklenmiş köfte örneklerinin reishi mantarı ekstraktının farklı konsantrasyonlarına göre toplam HAA içerikleri

Yüzeğine serpme yöntemiyle ekstrakt eklenmiş köfte örneklerinin reishi mantarı ekstraktının farklı konsantrasyonlarına göre toplam HAA içerikleri şekil 4.1'de gösterilmiştir. Reishi mantarı ekstraktının %0,25, %0,5 ve %1 konsantrasyonlarında kullanılmasıyla 150°C'de pişen örneklerde toplam HAA miktarları kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %100, %100 ve %54,26, 190°C'de pişen örneklerde ise sırasıyla %70,89, %100, %55, %55,82 azalmıştır. Şekilde de görüldüğü gibi en fazla düşüş %0,5 konsantrasyonda reishi mantarı ekstraktı eklenen örnekte görülmüştür.

4.6. Pişmiş Köfte Örneklerinde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunu Etkileyen Parametreler

Yapılan araştırmada bazı parametrelerin HAA oluşumuna etkisi incelenmiştir. Bu parametreler protein (%), yağ (%), kül (%), nem (%), pişirme sıcaklığı, ekstrakt yüzdesi, iç sıcaklık, ağırlık kaybı (%), TBARS (mg MDA/kg) ve pH değerleridir. Bu parametreler ve HAA düzeyleri arasındaki ilişki Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Pişmiş köfte örneklerinin protein yüzdesi ($r=0,484$, $p<0,01$), yağ yüzdesi ($r=0,479$, $p<0,01$), kül yüzdesi ($r=0,363$, $p<0,05$), ağırlık kaybı ($r=0,463$, $p<0,01$), iç

sıcaklık ($r=0,546$, $p<0,01$), pişirme sıcaklığı ($r=0,498$, $p<0,01$) ve toplam HAA düzeyi arasında pozitif yönde önemli bir ilişki bulunmuştur. Nem yüzdesi ve toplam HAA düzeyi ($r=-0,465$, $p<0,01$) arasında ise negatif yönde önemli bir ilişki bulunmuştur. Ekstrakt yüzdesi, pH ve TBARS düzeyleri ve toplam HAA düzeyi arasında önemli bir ilişki bulunamamıştır.

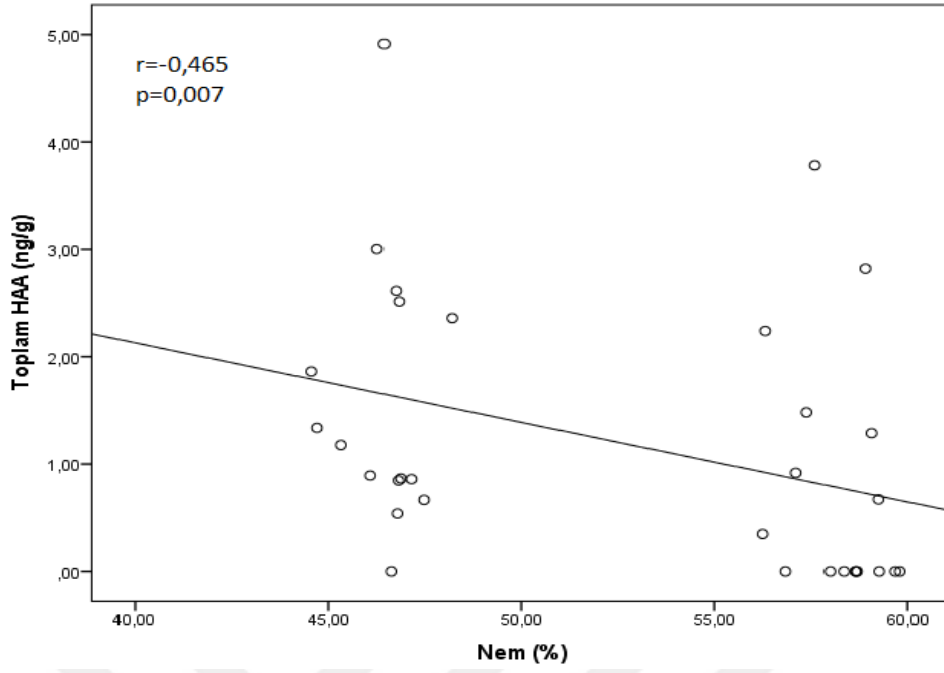
HAA'lar tek tek incelendiğinde IQx bileşiği düzeyi ile yağ yüzdesi ($r=0,462$, $p<0,01$), kül yüzdesi ($r=0,405$, $p<0,05$), ağırlık kaybı yüzdesi ($r=0,447$, $p<0,05$), iç sıcaklık ($r=0,394$, $p<0,05$) ve pişirme sıcaklığı ($r=0,432$, $p<0,05$) arasında önemli bir ilişki bulunmuştur. PhIP bileşiği düzeyi ile protein yüzdesi ($r=0,447$, $p<0,05$), iç sıcaklık ($r=0,367$, $p<0,05$) ve ekstrakt yüzdesi ($r=0,744$, $p<0,01$) arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır. PhIP bileşiği ile nem yüzdesi ($r=-0,403$, $p<0,05$) arasında ise negatif yönde bir ilişki bulunmuştur. Norharman bileşiği ve ağırlık kaybı ($r=0,387$, $p<0,05$) ve iç sıcaklık ($r=0,386$, $p<0,05$) arasında pozitif yönde, yağ yüzdesi ($r=0,393$, $p<0,05$) ile arasında negatif yönde önemli bir ilişki saptanmıştır.

Köfte örneklerinin toplam heterosiklik aromatik düzeyi ile istatistiksel olarak önemli bulunan parametrelerin saçılım grafikleri Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4. ve Şekil 4.5'te verilmiştir.

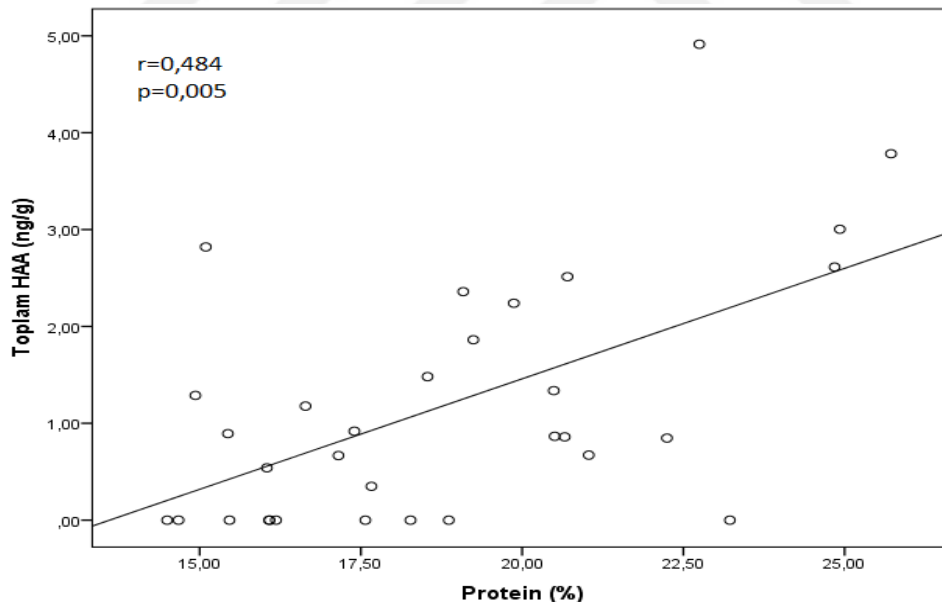
Tablo 4.6. Köfte örneklerinin heterosiklik aromatik amin düzeylerinin farklı parametrelerle ilişkisi

Değişkenler	HETEROSIKLIK AROMATİK AMİNLER							
	IQx	IQ	MeIQ	PHIP	Trp-P-2	Norharman	Toplam HAA	
Protein (%)	0,023	-0,243	0,325	0,447*	-0,243	0,298	0,484**	
Yağ (%)	0,462**	-0,126	0,284	0,200	-0,126	-0,393*	0,479**	
Nem (%)	-0,288	0,204	0,017	-0,403*	0,204	-0,131	-0,465**	
Kül (%)	0,405*	-0,243	0,277	0,238	-0,243	0,128	0,363*	
Ağırlık kaybı (%)	0,447*	-0,215	0,353*	0,194	-0,215	0,387*	0,463**	
İç sıcaklık	0,394*	-0,243	0,243	0,367*	-0,243	0,386*	0,546**	
pH	-0,105	0,166	-0,186	-0,121	0,166	-0,036	-0,107	
Pişirme sıcaklığı	0,432*	-0,180	0,258	0,289	-0,180	0,258	0,498**	
Ekstrakt yüzdesi	-0,406	-0,241	-0,234	0,744**	-0,241	-0,346	0,330	
TBARS	-0,031	0,243	-0,066	-0,264	0,243	-0,093	-0,162	

Korelasyon değerleri Spearman testi kullanılarak elde edilmiştir. *p<0,05, **p<0,01



Şekil 4.4. Nem yüzdesi ile toplam HAA düzeylerinin saçılım grafiği



Şekil 4.5. Protein yüzdesi ile toplam HAA düzeylerinin saçılım grafiği

5. TARTIŞMA

5.1. Köfte Örneklerinin Proksimet Analiz Sonuçları

Çiğ köfte örneğinin proksimet analiz sonuçları toplam protein %18,19, toplam yağ %7,81, nem %61,07 ve kül %1,05 olarak bulunmuştur. Literatürde farklı sonuçlar elde edilen çalışmalar mevcuttur. Zeng ve ark.(114) yaptıkları bir çalışmada çiğ sığır etinin toplam protein %22,10, toplam yağ %0,13, nem %75,15, kül ise %1,15 bulmuş olup benzer şekilde Gibis ve Weiss'in (87) farklı et türleriyle yaptıkları bir çalışmada sığır etinin protein miktarı % 24,4, yağ % 0,8, nem % 74,2 ve kül % 1,19 oranında belirlenmiştir. Yapılan başka bir benzer çalışmada da Puangsombat ve ark.(115) çiğ köfte örneğinde yağ miktarını %9,22, protein %19,66 ve nem miktarı %69,79 olduğunu saptamışlardır. Protein, yağ, nem ve kül miktarlarındaki farklılıklar hayvanın cinsi, yaşı, yetiştirildiği koşullar gibi etkenlere bağlı olarak değişebilmektedir.

Pişirme esnasındaki su kayıpları artan sıcaklık veya düşük basınç nedeniyle suyun buharlaşmasıyla meydana gelmektedir (116). Bu çalışmada çiğ köfte örneğinin nem miktarı %61,07 olarak tespit edilmiş olup, pişmiş köfte örneklerinde nem miktarı %47,16-58,25 değerleri arasında bulunmuştur. Lopez ve ark.(117) yaptıkları bir çalışmada çiğ köfte örneğinin nem miktarını %66,90 olarak, 10 dakika boyunca basınçlı hava fırınında pişirildikten sonra %56,95 olarak bulmuşlardır. Mevcut çalışmada 150°C'de 3 dakika kızartılan köfte örneklerinin nem miktarı %58,25, 190°C'de 3 dakika kızartılan köfte örneklerinin nem miktarı ise %47,16 olarak bulunmuştur. Literatürde yer alan benzer çalışmalardan Öz ve Çakmak (118) yaptıkları çalışmada çiğ köfte örneklerinin nem miktarını %62,16, 150, 200 ve 250°C'de ızgara yapılan köfte örneklerinin nem miktarını sırasıyla %48,89, %44,05 ve %41,85 olarak bulmuşlardır. Pişirme sıcaklığı arttıkça nem miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada ekstrakt ekleme yöntemi ve reishi mantarı ekstraktı konsantrasyonu ile nem miktarı arasında önemli bir ilişki saptanamamıştır. Bu durumun ekstrakt konsantrasyonu ve ekleme yönteminin köftelerin nem içeriğini değiştirmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada çiğ köfte örneğinin yağ miktarı % 7,81 iken 150 ve 190°C'lerde derin yağda kızartma işlemi uygulanmış köfte örneklerinin yağ içeriği % 7,97 -12,30 değerleri arasındadır. Lu ve ark. (119) yaptıkları bir çalışmada çiğ et örneğinde %6,4, olan yağ miktarının 180°C'de 3 dakika derin yağda kızartma işlemi uygulandıktan sonra % 20,32'e yükseldiğini belirlemişlerdir. Bu durumun pişirme sırasındaki su kaybindan dolayı yağ oranının artmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Mevcut araştırmada ekstrakt ekleme metodu ve reishi mantarı ekstraktı konsantrasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Bu çalışmada çiğ köfte örneğinin protein miktarı % 18,19 iken 150 ve 190°C'lerde derin yağda kızartma işlemi uygulanmış köfte örneklerinde protein miktarları %17,01 -20,60 arasında değişiklik göstermektedir. Pişirme sıcaklığı arttıkça protein miktarının arttığı belirlenmiştir. Benzer bi şekilde Tengilimoğlu ve ark. (19) yaptıkları bir çalışmada çiğ sığır etinin protein miktarını %15,60 olarak tespit etmiş olsalar da 150, 200 ve 250°C'de tavada kızartma işlemi uygulandıktan sonra protein miktarının sırasıyla %31,52, %33,57 ve %35,15'e yükseldiğini belirlemişlerdir. Bu durumun yağ oranı artışındaki gibi su kaybindan kaynaklandığı düşünülmektedir. Mevcut araştırmada ekstrakt ekleme metodu ve reishi mantarı ekstraktı yüzdesi ile protein miktarı arasında önemli bir ilişki saptanamamıştır.

Çiğ köfte örneklerindeki kül miktarı %1,05, 150°C'de 3 dakika derin yağda kızartma işlemi uygulanmış köfte örneklerindeki kül miktarı %1,42, 190°C'de 3 dakika derin yağda kızartma işlemi uygulanmış köfte örneklerindeki kül miktarı ise %1,63'tür. Tengilimoğlu ve Kızıl'ın (21) yapmış olduğu benzer bir çalışmada çiğ köfte örneğindeki kül miktarı %1,01 iken, 150, 200 ve 250°C'de pişirilmiş köfte örneklerindeki kül miktarları sırasıyla % 1,36, %1,52 ve %1,55 olarak tespit edilmiştir. Bu durumun yağ ve protein miktarında olduğu gibi pişirme işlemi ie oluşan su kaybindan kaynaklandığı düşünülmektedir. Mevcut araştırmada ekstrakt ekleme yöntemi ve reishi mantarı ekstraktı konsantrasyonu ile kül miktarı arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır.

5.2. Köfte Örneklerinin İç Sıcaklık, Ağırlık Kaybı ve pH Sonuçları

ABD Tarım Bakanlığı, Besin Güvenliği ve Denetim Servisi (1998) tarafından, hem tüketicilere hem de gıda endüstrisine yönelik için güvenli et ve balık hazırlama kılavuzları oluşturulmuştur. USDA-FSIS'e göre, biftek ve balığın iç sıcaklığı en az 63 ° C, domuz eti ve kıymanın 71 ° C ve tavuk etinin iç sıcaklığı en az 74 ° C olması gerektiği önemle vurgulanmıştır (115). Bu çalışmada oluşturulan kılavuzlara uygun şekilde pişmiş köfte örneklerinin iç sıcaklık değerleri 71,99 - 84,93 arasında saptanmıştır. Puangsombat ve ark. (115) yaptıkları çalışmada her bir yüzü 6 dakika kızartılmış sığır etinin iç sıcaklığını 77°C olarak belirlerken, Öz ve Zikirov (120) yaptıkları çalışmada ise 10 dakika tavada kızartma işlemi uygulanan sığır pirzolasının iç sıcaklığını 75°C, 12 dakika kızartılan pirzolanın iç sıcaklığını 85°C, 13 dakika kızartılan pirzolanın iç sıcaklığını 95°C olarak belirlemişlerdir. Mevcut çalışmada 150°C'de pişirilen köftelerin iç sıcaklığı 71,99°C, 190°C 'de pişirilen köftelerin iç sıcaklığı ise 84,93°C olarak belirlenmiş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

Mevcut araştırmada pişirme sırasındaki su kaybı nedeniyle nem miktarında da azalma olduğu tespit edilmiş; pişirme sıcaklığının yükselmesine bağlı olarak nem kaybının da arttığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada pişmiş köfte örneklerindeki ağırlık kayıpları %8,63 - 28,13 arasında bulunmuştur. Pişirme sıcaklığı arttıkça ağırlık kaybının arttığı saptanmıştır. Benzer şekilde Khan ve ark. (121) yapmış olduğu çalışmada 175°C ve 225°C'de derin yağda kızartma işlemi uygulanan köftelerin ağırlık kayıpları sırasıyla %56,02 ve %60,79 olarak bulunmuş olup, Öz ve ark.(90) yaptıkları çalışmada ise 150, 200 ve 250°C'de ısıtıcı plaka kullanılarak pişirilen örneklerdeki ağırlık kayıpları %13,25, %15,11 ve %18,89 olarak tespit edilmiştir.

Bu araştırmada çiğ köfte örneğinin pH'sı 5,38, 150°C'de kızartılan köftelerin pH'sı 6,31, 190°C'de kızartılanların ise 6,24'tür olarak bulunmuştur. Pişirme ile pH değerinin arttığı görülmüştür. Ayrıca yüksek sıcaklıkta pişirilen örneklerin pH değerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Literatürde benzer olarak Tengilimoğlu ve Kızıl'ın (21) yapmış olduğu çalışmada çiğ köfte örneğinin pH değeri

5.41, 150,200 ve 250°C'de pişen köftelerin pH değerleri ise sırasıyla 5.98, 6.00 ve 5.95 olarak tespit edilmiştir.

Bu araştırmada ekstrakt ekleme metodu ve reishi mantarı ekstraktı konsantrasyonunun pH, iç sıcaklık ve ağırlık kaybı ile arasında önemli bir ilişki tespit edilmemiştir.

5.3. Köfte Örneklerinin TBARS değerleri

Oksidasyon ette istenmeyen en önemli reaksiyonlardan biridir. Sıcaklık, oksijen, ışık, çeşitli katalizörler vb. gibi çeşitli faktörler oksidasyonu etkilese de, ana faktörün ısıl işlem olduğu bilinmektedir. Et ve et ürünlerindeki lipit oksidasyonu çoğunlukla TBARS analizi ile belirlenmektedir (90). Bu çalışmada çiğ köfte örneğinin TBARS değeri 1,60 mg MDA/kg, pişmiş köfte örneklerinin ise 1,64 - 1,92 mg MDA/kg olarak bulunmuştur. TBARS değerlerinin pişirme işlemiyle birlikte arttığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Öz (122) yapmış olduğu çalışmada çiğ köfte örneğinde TBARS değerini 6,54 mg MDA/kg, 175°C'de tavada yağsız kızartılan köfte örneklerinde ise 8,24 olarak saptamıştır. Pişirme sıcaklığı arttıkça lipit oksidasyon seviyesinin artması beklenmektedir. Ancak bu çalışmada 150°C'de kızartılan örneklerin TBARS değeri 1,84 mg MDA/kg, 190°C'de pişen örneklerin ise 1,75°C olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Roldan ve ark. (123) yapmış oldukları bir çalışmada sous vide yöntemiyle pişirilen kuzu incik örneklerinde 60°C ve 70°C'de pişirilen örneklerin TBARS değerleri 2,3 ve 2.45 mg MDA/kg, 80°C'de pişirilenlerin ise 1.14 mg MDA/kg olarak tespit etmişlerdir. Bu durumun TBARS testi ile analiz edilen bileşiklerin etin protein ve aminoasitleri ile reaksiyona girip başka bileşikler oluşturmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (90).

Bu çalışmada ekstrakt ekleme metodu ile TBARS değerleri arasında önemli bir ilişki saptanmıştır. İçine karıştırma yöntemi ile ekstrakt eklenen örneklerin TBARS değerleri yüzeyine serpmeye yöntemine göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum içine karıştırma yöntemiyle eklenen ekstraktın etkisinin tüm köfteleye etki etmesi, yüzeyine serpmeye yönteminde ise sadece yüzeyine etki etmesiyle açıklanabilmektedir.

Literatürde antioksidan özelliği olan bileşiklerin konsantrasyonunun artması ile TBARS değerlerinin azaldığına dair çalışmalar mevcuttur (124, 125). Ancak mevcut çalışmada reishi mantarı ekstraktı konsantrasyonu ile TBARS değerleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

5.4. Köfte Örneklerinin Heterosiklik Aromatik Amin İçerikleri

5.4.1. Köfte örneklerinin IQx içerikleri

Bu çalışmada köfte örneklerinin IQx içerikleri tespit edilebilir sınırın altında ile 1,47 ng/g arasında saptanmıştır. Zeng ve ark. (20) ise yapmış oldukları çalışmada tavada kızartılmış köfte örneklerinde IQx içeriğini 0,22 ng/g olarak tespit etmişlerdir. Benzer bir şekilde Öz ve Zikirov (120) yaptıkları olduğu çalışmada tavada yağsız kızartılmış köfte örneklerinde IQx içeriğini 0.156 ng/g olarak belirlemiş olup, Jinap ve ark. (126) derin yağda kızartılmış kuzu etinde yaptıkları bir çalışma da IQx içeriğini 1 ng/g olarak tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarındaki farklılıkların pişirme sıcaklıkları, pişirme yöntemleri ve etin özelliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürde IQx düzeyleri saptanmış olsa da mevcut çalışmada herhangi bir saptama söz konusu olmamıştır.

Bu çalışmada yüzeyine serpmeye yöntemiyle ekstrakt eklenmiş ve 150°C'de kızartılmış köfte örneklerinin kontrol grubunda 0,59 ng/g IQx bileşiği tespit edilmiş, ancak farklı konsantrasyonlarda ekstrakt eklenen örneklerde tespit edilememiştir. Reishi mantarı ekstraktı IQx oluşumunu %100 önlediği söylenebilir. Diğer yandan 190°C'de kızartılan kontrol grubunda ise 1,25 ng/g oranında tespit edilmiştir. Pişirme sıcaklığı arttıkça IQx miktarlarının arttığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Zeng ve ark.(114) yaptıkları bir çalışmada sanshoamide ekstraktı ile yapılan bir çalışmada %0,005, %0,010 ve %0,015 sanshoamide ekstrakt eklenen köftelerde IQx miktarının sırasıyla %45, %100 ve %100 azaldığı tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada içine karıştırma yöntemiyle ekstrakt eklenmiş ve 190°C'de kızartılan örneklerde %0,25 ve %1 konsantrasyonlarında IQx miktarlarında azalma gözlenirken, %0,5 konsantrasyonunda IQx miktarında kontrol grubuna göre %104 artış gözlenmiştir. Benzer şekilde enginar ekstarktı ile yapılan bir çalışmada 250°C'de %0,5

konsanrasyonunda ekstrakt eklenmiş ve tavada yağsız kızartılmış köfte örneklerinde de kontrol grubuna göre %129 artış gözlenmiştir (21).

5.4.2. Köfte Örneklerinin IQ İçerikleri

Bu çalışmada IQ bileşiği sadece 150°C'de kızartılan kontrol grubunda 0,13 ng/g seviyesinde tespit edilmiştir. Öz ve Yüzer (127) yaptıkları çalışmada tel ızgaralı barbeküde 0,05-0,93 ng/g oranlarında IQ tespit ederken, taş barbeküde pişirdikleri örneklerin hiç birinde tespit edememişlerdir. Guo ve ark. (128) yaptıkları bir çalışmada, rosto yöntemiyle pişirilen köftelerde 0,92-4,39 ng/g, tavada kızartma 0,53-0,65 ng/g ve baharatlarla kısık ateşte pişirme 0,48-0,49 ng/g düzeyinde belirlenmiş, 200°C'de derin yağda kızartma yapılmış kuzu etinden yapılmış köfte örneklerinde ise IQ bileşiği tespit edilememiştir.

Mevcut araştırmada resihi mantarı ekstraktı eklemek IQ seviyesini %100 azaldığı saptanmıştır (Tabloda belirtilmemiştir). Literatürde benzer şekilde yapılan çalışmalardan alıç ekstraktı ile yapılan bir çalışmada 200 ve 250°C'de tavada yağsız kızartılan dana etine %0,5 ve %1 oranlarında alıç ekstraktı eklemenin IQ seviyesini %9-54 arasında azalttığı belirtilmiştir (19). Öz ve Kaya'nın (22) yaptıkları olduğu bir çalışmada ise köftelere %1 oranında karabiber eklemenin IQ seviyesini %11-33 azalttığını belirlemişlerdir.

5.4.3. Köfte Örneklerinin MeIQ İçerikleri

Bu çalışmada MeIQ bileşiği 150°C'de kızartılan köfte örneklerinde tespit edilememiş olup, 190°C'de kızartılan köfte örneklerinde kontrol grubunda 0,72 ng/g, içine karıştırma yöntemiyle %0,5 konsantrasyonunda ekstrakt eklenen köfte örneğinde 0,45 ng/g olarak tespit edilmiştir. Khan ve ark. (121) yaptıkları çalışmada 175°C ve 225°C'de derin yağda kızartma işlemi uygulanmış köfte örneklerinde MeIQ bileşiği tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Öz ve Kaya'nın (22) yapmış olduğu diğer bir çalışmada ısıtıcı plaka kullanılarak 175°C'de pişirilen köfte örneklerinden kontrol grubunda MeIQ bileşiği hiç tespit edilememiş ancak 200°C ve 225°C'de pişirilen köfte örneklerinde sırasıyla 0,24 ve 2,66 ng/g MeIQ tespit edilmiştir. %1 konsantrasyonunda karabiber eklenen ve 200°C'de pişirilen köfte örneğinde 0,18

ng/g MeIQ bulunmuştur. Chen ve ark. (129) yapmış olduğu bir çalışmada da ısıtıcı plakada 150, 175, 200 ve 225°C'de pişirilen köfte örneklerinde MeIQ bileşiği hiç tespit edilemezken, 250°C'de pişirilen köfte örneklerinde 0,36 ng/g düzeyinde tespit edildiği rapor edilmiştir.

Bu çalışmada reishi mantarı ekstraktı kullanımının MeIQ oluşumunu %100 inhibe ettiği gösterilmiştir (Tabloda belirtilmemiştir). Benzer şekilde enginar ekstraktı ile yapılan bir çalışmada 150°C'de fırında pişirilen köfte örneklerinde %0,5 ve %1 konsantrasyonunda eklenen enginar ekstraktının HAA oluşumunu %57 ve %36, 200°C'de %20 ve %28, 250°C'de ise %18 ve %49 oranlarında azalttığı belirtilmiştir (21).

5.4.4. Köfte Örneklerinin MeIQx İçerikleri

MeIQx, pişmiş et ürünlerinde diğer HAA'lara oranla daha fazla oluşmaktadır (120). Ancak mevcut çalışmada hiçbir örnekte MeIQx tespit edilememiştir. Literatürde benzer bir şekilde Khan ve ark. (121) yaptıkları bir çalışmada 175 ve 225°C'de tavada yağsız kızartılan köfte örneklerinde MeIQx bileşiği tespit edilememiştir. Derin yağda kızartılmış olan örneklerde ise 175°C'de tespit edilememiş olup 225°C'de 18,23 ng/g seviyesinde tespit edilmiştir. Bu çalışmada MeIQx bileşiğinin tespit edilememesinin pişirme sıcaklıklarının düşük derecede ve pişirme süresinin kısa olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

5.4.5. Köfte Örneklerinin Trp-P-2 İçerikleri

Trp-P-2 bileşiği, HAA'ların içinde en az saptanan bileşiklerden biridir. Bu çalışmada Trp-P-2 bileşiği sadece 150°C'de kızartılan köfte örneklerinin kontrol grubunda 2,10 ng/g seviyesinde tespit edilmiştir. Benzer bir şekilde Tengilimoğlu ve Kızıl (21) yaptıkları çalışmada yağsız tavada 150, 200 ve 250°C'de pişirilen köfte örneklerinde Trp-P-2 bileşiği sadece 150°C'de pişirilen kontrol grubunda 0,12 ng/g seviyesinde tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmada reishi mantarı ekstraktı eklemenin Trp-P-2 bileşiği seviyesini %100 oranında azalttığı belirlenmiştir (Tabloda belirtilmemiştir). Benzer bir şekilde Jamali ve ark. (89) yapmış olduğu bir çalışmada *Rosa rugosa* çay ekstraktının eklendiği köfte örneklerinde HAA oluşumunu %75 oranında azalttığı

bildirilmiştir. Domasius ve ark. (130) yapmış olduğu bir çalışmada ise fesleğen ve kekik kullanımının dana etinde Trp-P-2 seviyesini %39 ve %13 oranında azalttığı belirtilmiştir.

5.4.6. Köfte Örneklerinin PhIP İçerikleri

PhIP, literatürde en çok çalışılan HAA'lerden biridir. Bu çalışmada PhIP 0,63-1,86 ng/g düzeyinde tespit edilmiştir (Bkz. Tablo 4.5). Lu ve ark. (119) yaptıkları bir çalışmada dana etinden yapılmış köfte örneklerinde PhIP düzeyini 2,79-13,85 ng/g, tavuk köftelerinde ise 1,28-11,07 ng/g olarak belirlemiş olup, benzer şekilde Khan ve ark. (121) yaptıkları bir çalışmada ise 175°C'de derin yağda kızartılmış köfte örneklerinde 1,10 ng/g, 225°C'de kızartılmış köfte örneklerinde 2,03 ng/g olarak tespit etmişlerdir.

Literatürde antioksidan içerikli ekstrakt eklenen dana eti örneklerinde PhIP seviyesinin azaldığına dair pek çok çalışma mevcuttur (16, 23, 114). Ancak mevcut çalışmada kontrol gruplarında PhIP tespit edilemezken içine karıştırma yöntemiyle ekstrakt eklenmiş ve 150°C ve 190°C'de kızartılmış köfte örneklerinde reishi mantarı ekstraktının konsantrasyonu arttıkça PhIP seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (Bknz. Tablo 4.5). Literatürde benzer olarak Tengilimoğlu ve Kızıl'ın (131) yapmış olduğu bir çalışmada %0,5 ve %1 konsantrasyonunda ekstrakt eklenen ve 250°C'de tavada yağsız olarak kızartılan dana eti örneklerinde PhIP düzeylerinin %12 ve %138, tavuk örneklerinde ise %6 ve %44 arttığı tespit edilmiştir. PhIP seviyesindeki bu artışın antioksidanların prooksidan etki göstermesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

5.4.7. Köfte Örneklerinin Norharman İçerikleri

Norharman düşük sıcaklıklarda az miktarda oluşmaktadır. Ancak 190°C ve üzerindeki sıcaklıklarda oluşumu önemli dercede artmaktadır (89). Mevcut çalışmada Norharman bileşiği sadece 190°C'de kızartılan köfte örneklerinin kontrol grubunda 0,95 ng/g seviyesinde tespit edilmiştir. Zeng ve ark. (114) yaptıkları çalışmada 204°C'de ızgara yapılmış köftelerde kontrol grubunda Norharman seviyesi 2,89 ng/g, Gibis ve Weiss (87) yaptıkları çalışmada 230°C'de ızgara yapılan dana etinde 1,88 ng/g, hindi etinde 0,54 ng/g, tavuk etinde 0,74 ng/g ve kuzu etinde 1,03

ng/g olarak belirlemişlerdir. Szterk (132) yaptığı çalışmada ise 180°C'de ızgara yapılan dana etinde Norharman seviyesi 3,34 ng/g , 280°C'de ızgara yapılan dana etinde 5,07 ng/g olarak tespit etmiştir.

Mevcut çalışmada reishi mantarı ekstraktı eklemenin Norharman oluşumunu %100 oranında inhibe ettiği gösterilmiştir. Literatürde benzer çalışmalardan Khan ve ark. (121) yaptıkları bir çalışmada *Chrysanthemum morifolium* çiçeği ekstraktı eklenmiş, 175 ve 225°C'lerde derin yağda kızartılmış köfte örneklerinde Norharman oluşumunun %60 ve %59 azaldığını saptamış olup, Tengilimoğlu ve Kızıl (131) yaptıkları çalışmada enginar ekstraktı eklemenin dana etinde Norharman oluşumunu %4-9 azalttığını belirlemişlerdir.

5.4.8. Köfte Örneklerinin 4,8-DiMeIQx İçerikleri

Pişmiş et ürünlerinde en yaygın olarak bulunan HAA'lardan biri 4,8-DiMeIQx bileşimidir. Ancak mevcut çalışmada hiçbir örnekte 4,8-DiMeIQx bileşiği saptanamamıştır. Benzer şekilde Öz ve ark. (90) ısıtıcı plaka kullanarak 150,200 ve 250°C'de pişirdikleri köfte örneklerinde de 4,8-DiMeIQx bileşimini tespit edememişlerdir. Chen ve ark. (129) yapmış olduğu bir çalışmada da 150,175 ve 200°C'de rosto yapılan köfte örneklerinde 4,8-DiMeIQx hiç tespit edilemezken 225 ve 250°C'de pişirilen örneklerde 0,36 ve 0,90 ng/g seviyesinde tespit edilmiştir. Bu araştırmada 4,8-DiMeIQx bileşiğinin tespit edilememesinin düşük pişirme sıcaklığı ve pişirme işleminin kısa olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

5.4.9. Köfte Örneklerinin 7,8-DiMeIQx İçerikleri

Pişmiş et ürünlerinde yaygın olarak bulunmayan HAA'lardan biri 7,8-DiMeIQx'tir. Bu araştırmada da hiçbir örnekte tespit edilememiştir. Benzer şekilde Gibis ve Weiss (17) yaptıkları çalışmada 230°C'de kızarttıkları köfte örneklerinde ve Chen ve ark. (129) 150, 175, 200, 225 ve 250°C'de rosto yapılan köfte örneklerinde 7,8-DiMeIQx bileşimini tespit edememişlerdir.

5.4.10. Köfte Örneklerinin AαC İçerikleri

Literatürde pişmiş et ürünlerinde en az tespit edilen HAA'lardan biri AαC'dir. Mevcut çalışmada hiçbir örnekte AαC tespit edilememiştir. Literatürde benzer şekilde Gibis ve Weiss (17) 230°C'de kızartılan dana eti örneklerinde, Viegas ve ark. (133) tavada yağsız olarak 180°C'de kızartılan dana eti örneklerinde AαC bileşimini saptayamamışlardır. Bu çalışmada AαC bileşiminin tespit edilememesinin AαC'nin çok yüksek sıcaklıklarda (>300) oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

5.4.11. Köfte Örneklerinin MeAαC İçerikleri

MeAαC, AαC gibi pişmiş et ürünlerinde en az tespit edilen HAA'lardan biridir. Mevcut çalışmada da hiçbir örnekte tespit edilememiştir. Benzer bir şekilde Khan ve ark. (121) yaptıkları çalışmada 175 ve 225°C'de farklı yöntemlerle (tavada yağsız kızartma, derin yağda kızartma, fırında pişirme, kömürlü ızgara) pişirilen köfte örneklerinde, Haskaraca ve ark. (134) ise fast food restoranlarından alınan tavuk baget ve tavuk kanadı örneklerinin hiçbirinde MeAαC bileşimini saptayamamışlardır. AαC bileşiminde olduğu gibi MeAαC bileşiminin tespit edilememesinin de yüksek sıcaklıklarda (>300) oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

5.4.12. Köfte Örneklerinin Toplam HAA İçerikleri

Farklı ekstrakt ekleme yöntemiyle, farklı konsantrasyonlarda reishi mantarı ekstraktı eklenmiş köfte örneklerinin farklı sıcaklıklarda pişirilmesi sonucu elde edilen toplam HAA miktarları 0,63-2,92 ng/g değerleri arasındadır (Bknz. Tablo 4.5). Benzer şekilde Öz ve Çakmak (118) yaptıkları çalışmada ısıtıcı plaka kullanarak pişirdikleri köfte örneklerinde toplam HAA miktarını 0,03-1,49 ng/g değerleri arasında bulmuşlardır. Lu ve ark. (135) ise fırında pişirdikleri domuz etinden yapılmış köfte örneklerinin toplam HAA içeriğini tespit edilebilir sınırın altında ile 140,57 ng/g değerleri arasında bulmuşlardır. Çalışmalardaki HAA miktarları arasındaki farklılıkların etin cinsi, pişirme yöntemi, pişirme sıcaklığı ve süresi gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Mevcut çalışmada yüzeyine serpme yöntemiyle ekstrakt eklemenin içine karıştırma yöntemine göre daha etkili olduğu gösterilmiştir. Yüzeyine serpme yöntemiyle ekstrakt eklenen örneklerde toplam HAA miktarı her iki pişirme sıcaklığı için de azalırken, içine karıştırma yönteminde her iki sıcaklık derecesi için de artmıştır (Bknz. Tablo 4.5). Literatürde benzer şekilde Sabally ve ark. (16) yaptıkları bir çalışmada elma kabuğu polifenol ekstraktı eklenen köfte örneklerinde yüzeyine sürme yöntemiyle %0,1, %0,15 ve %0,3 oranında ekstrakt eklenen örneklerde toplam HAA miktarını sırasıyla %52,5, %52,45 ve %71,31 azaldığını, içine karıştırma yöntemiyle ekstrakt eklenen örneklerde %32,41, %47,18 ve %45,3 azaldığını tespit etmişlerdir. Bu durumun HAA'ların daha çok etin yüzey kısmında oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (72).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre reishi mantarı ekstraktının toplam HAA seviyesini azaltmada % 54,26 ile %100 arasında değişen inhibitör etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (Bknz. Tablo 4.5). Yapılan birçok çalışma doğal ve sentetik antioksidanların mutajenik aktiviteyi azalttığı veya HAA oluşumunu inhibe ettiğini göstermiştir (17, 91, 121, 136). Bu çalışmada kullanılan reishi mantarı ekstarktının toplam antioksidan kapasitesi ve toplam fenol içeriği sırasıyla 1269,53 mmol TE/kg ve 495857 mg GAE/kg olarak bulunmuştur. Reishi mantarının mevcut araştırmada HAA inhibisyon etkisini yüksek fenolik içeriği ve yüksek antioksidan kapasitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

5.5. Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunu Etkileyen Parametreler

HAA'ların öncü maddeleri kreatin, kreatinin, serbest aminositler ve şekerlerdir. Pirolitik HAA'lar proteinlerin ve aminositlerin yüksek sıcaklıklarda pirolizinden meydana gelmektedir (3). Bu çalışmada derin yağda kızartma işlemi uygulanmış köftelerde protein yüzdesi ile PhIP ($r=0,447$, $p<0,05$) ve toplam HAA ($r=0,484$, $p<0,01$) düzeyi arasında önemli bir ilişki saptanmıştır.

Yağ içeriğinin HAA'ları hem artırıcı hem de inhibe edici etkisi bulunmaktadır. HAA oluşumu üzerindeki artırıcı etkisinin ise lipitlerin ısıyı besinlere daha verimli aktarmasından kaynaklı olabileceği, inhibe edici etkisinin ise etteki öncü maddeleri seyreltmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (79-82). Bu çalışmada yağ yüzdesi

ile IQx ($r=0,462$, $p<0,01$) ve toplam HAA ($r=0,479$, $p<0,01$) arasında pozitif, Norharman ($r=-0,393$, $p<0,05$) ile negatif yönlü önemli bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

Birçok çalışma ağırlık kaybının HAA oluşumuna neden olabileceğini göstermiştir. Bu durum, su kaybı ile birlikte suda çözünebilir öncüllerin, reaksiyonların meydana geldiği yüzeye taşınmasıyla açıklanmıştır (97, 137). Bu çalışmada ağırlık kaybı ile IQx ($r=0,447$, $p<0,05$), MeIQ ($r=0,353$, $p<0,05$), Norharman ($r=0,387$, $p<0,05$) ve toplam HAA ($r=0,463$, $p<0,01$) arasında önemli bir ilişki saptanmıştır. Nem yüzdesi ile PhIP ($r=-0,403$, $p<0,05$) ve toplam HAA ($r=-0,465$, $p<0,01$) arasında önemli bir ilişki saptanmıştır. Köftelerdeki su kaybı arttıkça HAA miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Pişirme sıcaklığı, HAA oluşumu üzerinde en büyük etkiye sahip faktördür (138). Yapılan çalışmalar pişirme sıcaklığı arttıkça HAA miktarının arttığını göstermiştir (68, 71, 139). Bu çalışmada pişirme sıcaklığı, IQx ($r=0,432$, $p<0,05$) ve toplam HAA ($r=0,498$, $p<0,01$) ile pozitif yönde ilişkili bulunmuştur. İç sıcaklık genellikle pişmiş et ürünlerinin güvenliğini değerlendirmek için kullanılır (115). Yapılan çalışmalar pişirme sıcaklığı arttıkça iç sıcaklığın da arttığını göstermektedir (115, 120). Bu çalışmada iç sıcaklık ile IQx ($r=0,394$, $p<0,05$), PhIP ($r=0,367$, $p<0,05$), Norharman ($r=0,386$, $p<0,05$) ve toplam HAA ($r=0,546$, $p<0,01$) arasında pozitif yönde önemli bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir.

Yapılan birçok çalışmada antioksidanların HAA'ların oluşumunu azaltmada önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (17, 91, 133, 134). Mevcut çalışmada reishi mantarı ekstraktı kullanımının toplam HAA düzeylerinin %54-%100 oranlarında azalttığı gösterilmiştir (Bknz. Tablo 4.5). Ancak ekstrakt yüzdesi ile PhIP arasında pozitif yönlü anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir ($r=0,744$, $p<0,01$). Bu durumun antioksidanların konsantrasyonlarına bağlı olarak prooksidan etki göstermelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (140).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Reishi mantarı ekstraktının köftede HAA oluşumu üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir;

1. Farklı konsantasyonlarda ve farklı yöntemlerle eklenen reishi mantarı ekstraktının köftelerde HAA oluşumunu farklı oranlarda inhibe edici veya artırıcı özellik gösterdiği belirlenmiştir.
2. Materyal olarak kullanılan dana etinin içeriği %18,19 protein, %7,81 yağ, %61,07 nem ve %1,05 kül olarak belirlenmiştir.
3. Pişirme işlemi ile birlikte köfte örneklerinde protein, yağ ve kül oranlarında artış olduğu belirlenmiştir.
4. Köfte örneklerinin nem içeriklerinin %47,16-58,25 arasında değiştiği ve pişirme sıcaklığının artması ile nem içeriklerinin düştüğü belirlenmiştir.
5. Köfte örneklerinde pişirme işlemi oluşan ağırlık kaybının %8,63-28,13 arasında değiştiği ve pişirme sıcaklığı arttıkça ağırlık kaybının arttığı belirlenmiştir.
6. Köftelerden çiğ örnekte pH 5,38 iken, pişmiş örneklerde 6,22-6,30 olduğu ve pişirme işlemi ile birlikte pH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.
7. Köftelerden çiğ örnekte TBARS değeri 1,60 mg MDA/kg iken, pişmiş örneklerde 1,64-1,92 mg MDA/kg olarak bulunmuştur. Pişirme işlemi ile birlikte TBARS değerlerinin arttığı belirlenmiştir.
8. Araştırmada kullanılan köfte örneklerinin hiçbirinde MeIQx, 4,8-DiMeIQx, 7,8-DiMeIQx, AαC, MeAαC tespit edilememiştir. En yaygın olarak da IQx ve PhIP tespit edilmiştir.
9. Araştırmada kullanılan köfte örneklerinde değişen miktarlarda IQx (1,47 ng/g'a kadar), IQ (0,13 ng/g'a kadar), MeIQ (0,72 ng/g'a kadar), Trp-P-2 (2,10 ng/g'a kadar), PhIP (1,86 ng/g'a kadar) ve Norharman (0,95 ng/g'a kadar) tespit edilmiştir.

10. Araştırmada kullanılan köfte örneklerinde bulunan toplam HAA miktarı tespit edilebilir sınırın altında ile 2,92 ng/g arasında olduğu belirlenmiştir.
11. Pişirme sıcaklığı arttıkça toplam HAA miktarının arttığı tespit edilmiştir.
12. Yüzeyine serpmeye yöntemiyle eklenen reishi mantarı ekstraktının içine karıştırma yöntemine göre inhibe edici etkisinin daha fazla olduğu belirlenmiştir.
13. Yüzeyine serpmeye yöntemiyle eklenen reishi mantarı ekstraktı pişirme sıcaklığı 150°C olan köfte örneklerinde HAA oluşumunu %54,26-100 oranında inhibe etmiştir.
14. Yüzeyine sürme yöntemiyle eklenen reishi mantarı ekstraktı pişirme sıcaklığı 190°C olan köfte örneklerinde HAA oluşumunu %55,82-100 oranında inhibe etmiştir.
15. Heterosiklik aromatik aminlerin günlük kabul edilebilir alım miktarının üst sınırının 15 µg olduğu belirtilmiştir. Bu araştırmada en yüksek HAA oranına sahip köfte örneklerinden 100 g tüketilmesi durumunda üst sınırın aşılmadığı belirlenmiştir.

6.2. Öneriler

Karsinogenik etkisi olduğu belirlenen heterosiklik aromatik aminlerin oluşumunun azaltılabilmesi için ızgara, kızartma yerine fırında pişirme, haşlama gibi pişirme yöntemleri kullanılmalıdır. Eğer kızartma yöntemiyle pişirme yapılmak isteniyorsa az yağda yerine derin yağda kızartma işlemi tercih edilebilir veya mikrodalga fırın ile ön işlem uygulanabilir.

Etlerin pişirme süresi ve sıcaklığı etin türüne göre değişebilmektedir. Ancak uzun süre yüksek sıcaklıklarda pişirilmesi HAA oluşumunu artıracaktır. Köfteler düşük sıcaklıklarda ve kısa sürede pişirilmelidir. Mikrobiyal risk taşımaması için köftelerin iç sıcaklığının en az 71°C olması gerekmektedir. 150°C'de 3 dakika kızartma işlemi yapıldığında bile iç sıcaklık değeri 71°C'ye ulaşabilmektedir. Özellikle fırında pişirme yönteminde sıcaklık kontrolü sağlanabildiği için hem hijyenik açıdan hem de HAA oluşumunun azaltılması açısından önemlidir.

Özellikle toplu beslenme sistemlerinde kızartma yerine fırında pişirme yöntemi tercih edilmelidir.

Reishi mantarı ekstraktı yüksek fenolik içeriği sayesinde heterosiklik aromatik aminlerin oluşumunu azaltabilmektedir. Köfte yapımında reishi mantarı ekstraktı kullanılarak heterosiklik aromatik amin oluşumu inhibe edilebilir. Baharatlar da antioksidan etkilerinden dolayı heterosiklik aromatik amin oluşumunu önleyebilir. Reishi mantarı ekstraktı yerine baharatlar da tercih edilebilir. Baharatların özellikle köftelerin yüzeyine uygulanması HAA oluşumunun daha etkin bir şekilde azalmasını sağlayacaktır. Ayrıca et tüketiminin azaltılması heterosiklik aromatik amin maruziyetinin azaltılmasını sağlayabilir.

Toplu beslenme sistemlerinde heterosiklik aromatik aminler gibi karsinojenlerin oluşumu önemli bir sorundur. Reishi mantarı ekstraktının gıda endüstrisinde kullanımı heterosiklik aromatik aminler gibi karsinojenlerin oluşumunun önlenmesinde etkili bir çözüm yolu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca reishi mantarının köfte harcı karışımlarına eklenmesi de hem geleneksel açıdan hem de lezzet açısından kullanımının yaygınlaşmasını sağlayabilir. Bu çalışmanın reishi mantarı ekstraktının kullanımına yönelik yapılacak diğer çalışmalara yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Turesky RJ. Heterocyclic aromatic amines: potential human carcinogens. *Advances in Molecular Toxicology Elsevier*; 2010;(4):37-83.
2. Nagao M, Honda M, Seino Y, Yahagi T, Sugimura T. Mutagenicities of smoke condensates and the charred surface of fish and meat. *Cancer Letters*. 1977;2(4-5):221-6.
3. Oz F, Kaya M. Heterocyclic aromatic amines in meat. *Journal of food processing and preservation*. 2011;35(6):739-53.
4. Puangsombat K, Gadgil P, Houser TA, Hunt MC, Smith JS. Heterocyclic amine content in commercial ready to eat meat products. *Meat science*. 2011;88(2):227-33.
5. Sugimura T. Multistep carcinogenesis: a 1992 perspective. *Science*. 1992;258(5082):603-7.
6. Turesky RJ, Le Marchand L. Metabolism and biomarkers of heterocyclic aromatic amines in molecular epidemiology studies: lessons learned from aromatic amines. *Chemical research in toxicology*. 2011;24(8):1169-214.
7. Busquets R, Puignou L, Galceran MT, Skog K. Effect of red wine marinades on the formation of heterocyclic amines in fried chicken breast. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006;54(21):8376-84.
8. Koutros S, Cross AJ, Sandler DP, Hoppin JA, Ma X, Zheng T, et al. Meat and meat mutagens and risk of prostate cancer in the Agricultural Health Study. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2008;17(1):80-7.
9. De Stefani E, Ronco A, Mendilaharsu M, Guidobono M, Deneo-Pellegrini H. Meat intake, heterocyclic amines, and risk of breast cancer: a case-control study in Uruguay. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 1997;6(8):573-81.
10. Delfino RJ, Sinha R, Smith C, West J, White E, Lin HJ, et al. Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. *Carcinogenesis*. 2000;21(4):607-15.
11. Li D, Day RS, Bondy ML, Sinha R, Nguyen NT, Evans DB, et al. Dietary Mutagen Exposure and Risk of Pancreatic Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2007;16(4):655-61.
12. Le NT, Michels FAS, Song M, Zhang X, Bernstein AM, Giovannucci EL, et al. A prospective analysis of meat mutagens and colorectal cancer in the Nurses' Health Study and Health Professionals Follow-up Study. *Environmental health perspectives*. 2016;124(10):1529-36.
13. Cancer IAfRo. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Supplement: The Agency; 1993.
14. Puangsombat K, Gadgil P, Houser TA, Hunt MC, Smith JS. Occurrence of heterocyclic amines in cooked meat products. *Meat Sci*. 2012;90(3):739-46.
15. Vitaglione P, Fogliano V. Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food. *Journal of Chromatography B*. 2004;802(1):189-99.

16. Sabally K, Sleno L, Jauffrit J-A, Iskandar MM, Kubow S. Inhibitory effects of apple peel polyphenol extract on the formation of heterocyclic amines in pan fried beef patties. *Meat science*. 2016;117:57-62.
17. Gibis M, Weiss J. Antioxidant capacity and inhibitory effect of grape seed and rosemary extract in marinades on the formation of heterocyclic amines in fried beef patties. *Food chemistry*. 2012;134(2):766-74.
18. Quelhas I, Petisca C, Viegas O, Melo A, Pinho O, Ferreira I. Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. *Food chemistry*. 2010;122(1):98-104.
19. Tengilimoglu-Metin MM, Hamzalioglu A, Gokmen V, Kizil M. Inhibitory effect of hawthorn extract on heterocyclic aromatic amine formation in beef and chicken breast meat. *Food Research International*. 2017;99:586-95.
20. Zeng M, Zhang M, He Z, Qin F, Tao G, Zhang S, et al. Inhibitory profiles of chilli pepper and capsaicin on heterocyclic amine formation in roast beef patties. *Food chemistry*. 2017;221:404-11.
21. Metin MMT, Kızıl M. Köftelerde Enginar Ekstraktının Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkisi. *Journal of Nutrition and Dietetics*. 2017;45(3):250-7.
22. Oz F, Kaya M. The inhibitory effect of black pepper on formation of heterocyclic aromatic amines in high-fat meatball. *Food Control*. 2011;22(3-4):596-600.
23. Keşkekoğlu H, Üren A. Inhibitory effects of pomegranate seed extract on the formation of heterocyclic aromatic amines in beef and chicken meatballs after cooking by four different methods. *Meat science*. 2014;96(4):1446-51.
24. Zhang J, Meng G, Zhai G, Yang Y, Zhao H, Jia L. Extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides of spent mushroom compost of *Ganoderma lucidum*. *International journal of biological macromolecules*. 2016;82:432-9.
25. Leskosek-Cukalovic I, Despotovic S, Lakic N, Niksic M, Nedovic V, Tesevic V. *Ganoderma lucidum*—medical mushroom as a raw material for beer with enhanced functional properties. *Food Research International*. 2010;43(9):2262-9.
26. Deepalakshmi K, Mirunalini S. Therapeutic properties and current medical usage of medicinal mushroom: *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2011;2(8):1922-9.
27. Deepalakshmi K, Mirunalini S, Krishnaveni M, Arulmozhi V. In vitro and in vivo antioxidant potentials of an ethanolic extract of *Ganoderma lucidum* in rat mammary carcinogenesis. *Chinese journal of natural medicines*. 2013;11(6):621-7.
28. Öz F, Kaya M. Et ve et ürünlerinde heterosiklik aromatik amin oluşumunun engellenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2007;38(1):121-6.
29. Rahman Uu, Sahar A, Khan MI, Nadeem M. Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review. *LWT - Food Science and Technology*. 2014;59(1):229-33.
30. Meurillon M, Engel E. Mitigation strategies to reduce the impact of heterocyclic aromatic amines in proteinaceous foods. *Trends in Food Science & Technology*. 2016;50:70-84.

31. Sugimura T, Wakabayashi K, Nakagama H, Nagao M. Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Science*. 2004;95(4):290-9.
32. Knize MG, Felton JS. Formation and human risk of carcinogenic heterocyclic amines formed from natural precursors in meat. *Nutrition reviews*. 2005;63(5):158-65.
33. Messner C, Murkovic M. Evaluation of a new model system for studying the formation of heterocyclic amines. *Journal of Chromatography B*. 2004;802(1):19-26.
34. Cheng KW, Chen F, Wang M. Heterocyclic amines: chemistry and health. *Molecular nutrition & food research*. 2006;50(12):1150-70.
35. Jägerstad M, Skog K, Grivas S, Olsson K. Formation of heterocyclic amines using model systems. *Mutation Research/Genetic Toxicology*. 1991;259(3-4):219-33.
36. Milić BiL, Djilas SM, Čanadanović-Brunet JM. Synthesis of some heterocyclic aminoimidazoazarenes. *Food Chemistry*. 1993;46(3):273-6.
37. Murkovic M. Formation of heterocyclic aromatic amines in model systems. *Journal of Chromatography B*. 2004;802(1):3-10.
38. Skog K, Johansson M, Jägerstad M. Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: a review on formation, occurrence and intake. *Food and Chemical Toxicology*. 1998;36(9-10):879-96.
39. Skog K, Solyakov A, Jägerstad M. Effects of heating conditions and additives on the formation of heterocyclic amines with reference to amino-carbolines in a meat juice model system. *Food Chemistry*. 2000;68(3):299-308.
40. Gooderham NJ, Murray S, Lynch AM, Yadollahi-Farsani M, Zhao K, Boobis AR, et al. Food-derived heterocyclic amine mutagens: variable metabolism and significance to humans. *Drug Metabolism and Disposition*. 2001;29(4):529-34.
41. Alaejos MS, Pino V, Afonso AM. 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*. 2008;41(4):327-40.
42. Turesky RJ, Vouros P. Formation and analysis of heterocyclic aromatic amine–DNA adducts in vitro and in vivo. *Journal of Chromatography B*. 2004;802(1):155-66.
43. Snyderwine E, Roller PP, Adamson RH, Sato S, Thorgeirsson SS. Reaction of N-hydroxylamine and N-acetoxy derivatives of 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline with DNA. Synthesis and identification of N-(deoxyguanosin-8-yl)-IQ. *Carcinogenesis*. 1988;9(6):1061-5.
44. Turesky RJ. Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. *Toxicology letters*. 2007;168(3):219-27.
45. Felton JS, Knize MG, Wu RW, Colvin ME, Hatch FT, Malfatti MA. Mutagenic potency of food-derived heterocyclic amines. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2007;616(1):90-4.
46. Weisburger JH. Comments on the history and importance of aromatic and heterocyclic amines in public health. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2002;506:9-20.

47. Adamson RH, Takayama S, Sugimura T, Thorgeirsson UP. Induction of hepatocellular carcinoma in nonhuman primates by the food mutagen 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline. *Environmental health perspectives*. 1994;102(2):190-3.
48. Schut HA, Snyderwine EG. DNA adducts of heterocyclic amine food mutagens: implications for mutagenesis and carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 1999;20(3):353-68.
49. Sinha R, Rothman N. Exposure assessment of heterocyclic amines (HCAs) in epidemiologic studies. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1997;376(1):195-202.
50. Zheng W, Lee S-A. Well-done meat intake, heterocyclic amine exposure, and cancer risk. *Nutrition and cancer*. 2009;61(4):437-46.
51. Anderson KE, Sinha R, Kulldorff M, Gross M, Lang NP, Barber C, et al. Meat intake and cooking techniques: associations with pancreatic cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2002;506–507:225-31.
52. Cross AJ, Sinha R. Meat-related mutagens/carcinogens in the etiology of colorectal cancer. *Environmental and molecular mutagenesis*. 2004;44(1):44-55.
53. Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Annals of Oncology*. 2005;16(3):481-8.
54. Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, et al. Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. *PLoS one*. 2011;6(6):20456.
55. Ollberding NJ, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN, Le Marchand L. Meat consumption, heterocyclic amines and colorectal cancer risk: the Multiethnic Cohort Study. *International journal of cancer*. 2012;131(7):1125-33.
56. Le NT, Michels FAS, Song M, Zhang X, Bernstein AM, Giovannucci EL, et al. A prospective analysis of meat mutagens and colorectal cancer in the Nurses' Health Study and Health Professionals Follow-up Study. 2016;124(10):1529-36.
57. Bylsma LC, Alexander DD. A review and meta-analysis of prospective studies of red and processed meat, meat cooking methods, heme iron, heterocyclic amines and prostate cancer. *Nutrition journal*. 2015;14(1):125.
58. Cross AJ, Peters U, Kirsh VA, Andriole GL, Reding D, Hayes RB, et al. A prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. *Cancer research*. 2005;65(24):11779-84.
59. Kawamori T, Uchiya N, Watanabe K, Ohta T, Sugimura T, Wakabayashi K. Effects of heterocyclic amines with mammary gland carcinogenic potential on estrogenic response of uterus in ovariectomized rats. *Cancer letters*. 2001;162(1):31-7.
60. Immonen E, Serpi R, Vähäkangas K, Myllynen P. Responses of PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b] pyridine) in MCF-7 cells are culture condition dependent. *Chemico-biological interactions*. 2009;182(1):73-83.
61. Yoshimoto M, Tsutsumi M, Iki K, Sasaki Y, Tsujiuchi T, Sugimura T, et al. Carcinogenicity of heterocyclic amines for the pancreatic duct epithelium in hamsters. *Cancer Letters*. 1999;143(2):235-9.

62. Skog K, Steineck G, Augustsson K, Jägerstad M. Effect of cooking temperature on the formation of heterocyclic amines in fried meat products and pan residues. *Carcinogenesis*. 1995;16(4):861-7.
63. Liao G, Wang G, Xu X, Zhou G. Effect of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and duck breast. *Meat science*. 2010;85(1):149-54.
64. Liao G, Xu X, Zhou G. Effects of cooked temperatures and addition of antioxidants on formation of heterocyclic aromatic amines in pork floss. *Journal of food processing and preservation*. 2009;33(2):159-75.
65. Skog K, Eneroth Å, Svanberg M. Effects of different cooking methods on the formation of food mutagens in meat. *International journal of food science & technology*. 2003;38(3):313-23.
66. Oz F, Kaban G, Kaya M. Effects of cooking methods and levels on formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish with Oasis extraction method. *LWT-Food Science and Technology*. 2010;43(9):1345-50.
67. Sinha R, Rothman N, Salmon C, Knize M, Brown E, Swanson C, et al. Heterocyclic amine content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings. *Food and Chemical Toxicology*. 1998;36(4):279-87.
68. Gibis M, Kruwinnus M, Weiss J. Impact of different pan-frying conditions on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality in fried bacon. *Food chemistry*. 2015;168:383-9.
69. Knize M, Dolbeare F, Carroll K, Moore II D, Felton J. Effect of cooking time and temperature on the heterocyclic amine content of fried beef patties. *Food and Chemical Toxicology*. 1994;32(7):595-603.
70. Robbana-Barnat S, Rabache M, Rialland E, Fradin J. Heterocyclic amines: occurrence and prevention in cooked food. *Environmental Health Perspectives*. 1996;104(3):280.
71. Bordas M, Moyano E, Puignou L, Galceran M. Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system: Effect of temperature, time and precursors. *Journal of Chromatography B*. 2004;802(1):11-7.
72. Alaejos MS, Afonso AM. Factors that affect the content of heterocyclic aromatic amines in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2011;10(2):52-108.
73. Tai C-Y, Lee K, Chen B. Effects of various additives on the formation of heterocyclic amines in fried fish fibre. *Food chemistry*. 2001;75(3):309-16.
74. Hasnol N, Jinap S, Sanny M. Effect of different types of sugars in a marinating formulation on the formation of heterocyclic amines in grilled chicken. *Food chemistry*. 2014;145:514-21.
75. Borgen E, Solyakov A, Skog K. Effects of precursor composition and water on the formation of heterocyclic amines in meat model systems. *Food Chemistry*. 2001;74(1):11-9.
76. Pais P, Salmon CP, Knize MG, Felton JS. Formation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in dry-heated model systems, meats, and meat drippings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999;47(3):1098-108.

77. Persson E, Oroszvári BK, Tornberg E, Sjöholm I, Skog K. Heterocyclic amine formation during frying of frozen beefburgers. *International journal of food science & technology*. 2008;43(1):62-8.
78. Sinha R, Cross A, Curtin J, Zimmerman T, McNutt S, Risch A, et al. Development of a food frequency questionnaire module and databases for compounds in cooked and processed meats. *Molecular nutrition & food research*. 2005;49(7):648-55.
79. Hwang DK, Ngadi M. Formation of heterocyclic amines in meat emulsion extended with soy protein. *Journal of food processing and preservation*. 2003;27(5):373-86.
80. Johansson MA, Jägerstad M. Occurrence of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in meat and fish products, including pan residues, prepared under domestic conditions. *Carcinogenesis*. 1994;15(8):1511-8.
81. Hwang DK, Ngadi M. Kinetics of heterocyclic amines formation in meat emulsion at different fat contents. *LWT-Food Science and Technology*. 2002;35(7):600-6.
82. Abdulkarim BG, Smith JS. Heterocyclic amines in fresh and processed meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998;46(11):4680-7.
83. Barnes WS, Maher JC, Weisburger JH. High-pressure liquid chromatographic method for the analysis of 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline, a mutagen formed during the cooking of food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1983;31(4):883-6.
84. Holtz E, Skjöldebrand C, Jägerstad M, Reuterswärd AL, Isberg PE. Effect of recipes on crust formation and mutagenicity in meat products during baking. *International Journal of Food Science & Technology*. 1985;20(1):57-66.
85. Polak T, Došler D, Žlender B, Gašperlin L. Heterocyclic amines in aged and thermally treated pork longissimus dorsi muscle of normal and PSE quality. *LWT-Food Science and Technology*. 2009;42(2):504-13.
86. Polak T, Andrenšek S, Žlender B, Gašperlin L. Effects of ageing and low internal temperature of grilling on the formation of heterocyclic amines in beef Longissimus dorsi muscle. *LWT-Food Science and Technology*. 2009;42(1):256-64.
87. Gibis M, Weiss J. Impact of precursors creatine, creatinine, and glucose on the formation of heterocyclic aromatic amines in grilled patties of various animal species. *Journal of food science*. 2015;80(11):2430-9.
88. Persson E, Sjöholm I, Nyman M, Skog K. Addition of various carbohydrates to beef burgers affects the formation of heterocyclic amines during frying. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52(25):7561-6.
89. Jamali MA, Zhang Y, Teng H, Li S, Wang F, Peng Z. Inhibitory effect of *Rosa rugosa* tea extract on the formation of heterocyclic amines in meat patties at different temperatures. *Molecules*. 2016;21(2):173.
90. Oz F, Zaman A, Kaya M. Effect of chitosan on the formation of heterocyclic aromatic amines and some quality properties of meatball. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2017;41(4):13065.
91. Cheng K-W, Wu Q, Zheng ZP, Peng X, Simon JE, Chen F, et al. Inhibitory effect of fruit extracts on the formation of heterocyclic amines. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007;55(25):10359-65.

92. Puangsombat K, Jirapakkul W, Smith JS. Inhibitory activity of Asian spices on heterocyclic amines formation in cooked beef patties. *Journal of food science*. 2011;76(8):174-80.
93. Alvarado C, McKee S. Marination to improve functional properties and safety of poultry meat. *Journal of Applied Poultry Research*. 2007;16(1):113-20.
94. Yusop SM, O'Sullivan MG, Kerry JF, Kerry JP. Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. *Meat science*. 2010;85(4):657-63.
95. Gibis M. Effect of oil marinades with garlic, onion, and lemon juice on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried beef patties. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007;55(25):10240-7.
96. Felton J, Fultz E, Dolbeare F, Knize M. Effect of microwave pretreatment on heterocyclic aromatic amine mutagens/carcinogens in fried beef patties. *Food and Chemical Toxicology*. 1994;32(10):897-903.
97. Persson E, Sjöholm I, Skog K. Effect of high water-holding capacity on the formation of heterocyclic amines in fried beefburgers. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003;51(15):4472-7.
98. Unlu A, Nayir E, Kirca O, Ozdogan M. *Ganoderma Lucidum* (Reishi Mushroom) and cancer. *J BUON*. 2016;21:792-8.
99. Nie S, Zhang H, Li W, Xie M. Current development of polysaccharides from *Ganoderma*: Isolation, structure and bioactivities. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 2013;1(1):10-20.
100. Bishop KS, Kao CH, Xu Y, Glucina MP, Paterson RRM, Ferguson LR. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*. 2015;114:56-65.
101. Taofiq O, Heleno SA, Calhelha RC, Alves MJ, Barros L, González-Paramás AM, et al. The potential of *Ganoderma lucidum* extracts as bioactive ingredients in topical formulations, beyond its nutritional benefits. *Food and Chemical Toxicology*. 2017;108:139-47.
102. Roy S, Jahan MAA, Das KK, Munshi SK, Noor R. Artificial cultivation of *Ganoderma lucidum* (Reishi medicinal mushroom) using different sawdusts as substrates. *Am J Biosci*. 2015;3:178-82.
103. Wihastuti TA, Sargowo D, Heriansyah T, Aziza YE, Puspitarini D, Iwana AN, et al. The reduction of aorta histopathological images through inhibition of reactive oxygen species formation in hypercholesterolemia *rattus norvegicus* treated with polysaccharide peptide of *Ganoderma lucidum*. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2015;18(5):514.
104. Qu L, Li S, Zhuo Y, Chen J, Qin X, Guo G. Anticancer effect of triterpenes from *Ganoderma lucidum* in human prostate cancer cells. *Oncology letters*. 2017;14(6):7467-72.
105. Oka S, Tanaka S, Yoshida S, Hiyama T, Ueno Y, Ito M. *Ganoderma lucidum* Mycelia Suppresses the Development of Colorectal Adenomas. *Hiroshima J Med Sci*. 2010;59(1):1-6.

106. Ma H-T, Hsieh J-F, Chen S-T. Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. 2015;114:109-13.
107. Wachtel-Galor S, Yuen J, Buswell JA, Benzie IF. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi). 2011.
108. Qu L, Li S, Zhuo Y, Chen J, Qin X, Guo G. Anticancer effect of triterpenes from *Ganoderma lucidum* in human prostate cancer cells. *Oncol Lett*. 2017;14(6):7467-72.
109. Cör D, Knez Ž, Knez Hrnčič M. Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. *Molecules*. 2018;23(3):649.
110. Sargowo D, Ovianti N, Susilowati E, Ubaidillah N, Nugraha AW, Proboretno KS, et al. The role of polysaccharide peptide of *Ganoderma lucidum* as a potent antioxidant against atherosclerosis in high risk and stable angina patients. *Indian Heart Journal*. 2017;70(5):608-14.
111. Ma HT, Hsieh JF, Chen ST. Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. 2015;114:109-13.
112. Xiao C, Wu QP, Cai W, Tan JB, Yang XB, Zhang JM. Hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in type 2 diabetic mice. *Arch Pharm Res*. 2012;35(10):1793-801.
113. Kerth C, Rowe C. Improved sensitivity for determining thiobarbituric acid reactive substances in ground beef. *Meat science*. 2016;117:85-8.
114. Zeng M, Wang J, Zhang M, Chen J, He Z, Qin F, et al. Inhibitory effects of Sichuan pepper (*Zanthoxylum bungeanum*) and sanshoamide extract on heterocyclic amine formation in grilled ground beef patties. *Food chemistry*. 2018;239:111-8.
115. Puangsombat K, Gadgil P, Houser TA, Hunt MC, Smith JS. Occurrence of heterocyclic amines in cooked meat products. *Meat science*. 2012;90(3):739-46.
116. del Pulgar JS, Gázquez A, Ruiz-Carrascal J. Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. *Meat science*. 2012;90(3):828-35.
117. López-López I, Cofrades S, Cañeque V, Díaz MT, López O, Jiménez-Colmenero F. Effect of cooking on the chemical composition of low-salt, low-fat Wakame/olive oil added beef patties with special reference to fatty acid content. *Meat science*. 2011;89(1):27-34.
118. Oz F, Cakmak IH. The effects of conjugated linoleic acid usage in meatball production on the formation of heterocyclic aromatic amines. *LWT-Food Science and Technology*. 2016;65:1031-7.
119. Lu F, Kuhnle GK, Cheng Q. The effect of common spices and meat type on the formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in deep-fried meatballs. *Food Control*. 2018;92:399-411.
120. Oz F, Zikirov E. The effects of sous-vide cooking method on the formation of heterocyclic aromatic amines in beef chops. *LWT-Food Science and Technology*. 2015;64(1):120-5.
121. Khan IA, Liu D, Yao M, Memon A, Huang J, Huang M. Inhibitory effect of *Chrysanthemum morifolium* flower extract on the formation of heterocyclic amines in

- goat meat patties cooked by various cooking methods and temperatures. *Meat science*. 2019;147:70-81.
- 122.** Oz F. Effects of Water Extract of *Urtica dioica* L. on the Quality of Meatballs. *Journal of food processing and preservation*. 2014;38(3):1356-63.
- 123.** Roldan M, Antequera T, Armenteros M, Ruiz J. Effect of different temperature–time combinations on lipid and protein oxidation of sous-vide cooked lamb loins. *Food Chemistry*. 2014;149:129-36.
- 124.** Bastida S, Sánchez-Muniz FJ, Olivero R, Pérez-Olleros L, Ruiz-Roso B, Jiménez-Colmenero F. Antioxidant activity of Carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage. *Food Chemistry*. 2009;116(3):748-54.
- 125.** Fan X-J, Liu S-Z, Li H-H, He J, Feng J-T, Zhang X, et al. Effects of *Portulaca oleracea* L. extract on lipid oxidation and color of pork meat during refrigerated storage. *Meat science*. 2019;147:82-90.
- 126.** Jinap S, Iqbal SZ, Talib NH, Hasnol N. Heterocyclic aromatic amines in deep fried lamb meat: The influence of spices marination and sensory quality. *Journal of food science and technology*. 2016;53(3):1411-7.
- 127.** Oz F, Yuzer MO. The effects of cooking on wire and stone barbecue at different cooking levels on the formation of heterocyclic aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in beef steak. *Food chemistry*. 2016;203:59-66.
- 128.** Guo H, Wang Z, Pan H, Li X, Chen L, Rao W, et al. Effects of traditional chinese cooking methods on formation of heterocyclic aromatic amines in lamb patties. *Food Science and Biotechnology*. 2014;23(3):747-53.
- 129.** Chen J, He Z, Qin F, Chen J, Zeng M. Formation of free and protein-bound heterocyclic amines in roast beef patties assessed by UPLC-MS/MS. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2017;65(22):4493-9.
- 130.** Damašius J, Venskutonis P, Ferracane R, Fogliano V. Assessment of the influence of some spice extracts on the formation of heterocyclic amines in meat. *Food Chemistry*. 2011;126(1):149-56.
- 131.** Tengilimoglu-Metin MM, Kizil M. Reducing effect of artichoke extract on heterocyclic aromatic amine formation in beef and chicken breast meat. *Meat science*. 2017;134:68-75.
- 132.** Sztark A. Heterocyclic aromatic amines in grilled beef: the influence of free amino acids, nitrogenous bases, nucleosides, protein and glucose on HAAs content. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015;40:39-46.
- 133.** Viegas O, Amaro LF, Ferreira IM, Pinho O. Inhibitory effect of antioxidant-rich marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines in pan-fried beef. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(24):6235-40.
- 134.** Haskaraca G, Demirok E, Kolsarıcı N, Öz F, Özşaraç N. Effect of green tea extract and microwave pre-cooking on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried chicken meat products. *Food research international*. 2014;63:373-81.
- 135.** Lu F, Kuhnle GK, Cheng Q. Vegetable oil as fat replacer inhibits formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in reduced fat pork patties. *Food control*. 2017;81:113-25.

136. Kizil M, Oz F, Besler H. A review on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic aromatic amines. *J Food Process Technol.* 2011;2(5):1-5.
137. Jägerstad M, Skog K, Arvidsson P, Solyakov A. Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic amines identified in model systems and cooked foods. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A.* 1998;207(6):419-27.
138. Gibis M. Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: causes, formation, occurrence, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2016;15(2):269-302.
139. Balogh Z, Gray J, Gomaa E, Booren A. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food and Chemical Toxicology.* 2000;38(5):395-401.
140. Johansson M, Jägerstad M. Influence of pro-and antioxidants on the formation of mutagenic-carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Food Chemistry.* 1996;56(1):69-75.



8. EKLER

EK-1: Tez Çalışması Orjinallik Raporu

REİSHİ MANTARI EKSTRAKTININ KÖFTEDE HETEROSİKLİK AROMATİK AMİNLERİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ

ORIJINALLIK RAPORU

% 11	% 10	% 8	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	KIZIL, Mevlüde and BESLER, Tanju. "Köfte Örneklerinin Pişirme Süreci, Kimyasal Bileşimi ve İçeriğinin Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumu Üzerine Etkisi", Türkiye Diyetisyenler Derneği, 2013. Yayın	% 2
2	acikerisim.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
3	Mercan Merve Tengilimoğlu-Metin, Aytul Hamzalıoğlu, Vural Gökmen, Mevlude Kızıl.- "Inhibitory effect of hawthorn extract on heterocyclic aromatic amine formation in beef and chicken breast meat", Food Research International, 2017 Yayın	% 1
4	pt.scribd.com İnternet Kaynağı	% 1
5	w3.sdu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1

EK-2: Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Bengü Güzel
Ödev başlığı: Bengü tez
Gönderi Başlığı: REİSHİ MANTARI EKSTRAKTININ K..
Dosya adı: beng_g_zel_07.01..2019.docx
Dosya boyutu: 278.67K
Sayfa sayısı: 67
Kelime sayısı: 15,634
Karakter sayısı: 104,481
Gönderim Tarihi: 07-Oca-2019 04:47PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1061928145

9. ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

- Adı-Soyadı: Bengü GÜZEL
- Doğum yeri ve Tarihi: ADANA-20.07.1990
- Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti
- İletişim Adresi/Telefon: benguguzel@hacettepe.edu.tr
+90 (544) 254 9867

II. Eğitim Bilgileri

- Yüksek Lisans (2016-halen): Hacettepe Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Toplu Beslenme Sistemleri
- Lisans (2010-2014): Hacettepe Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Fakültesi/ Beslenme ve Diyetetik Bölümü
- Lise (2004-2008): Seyhan Rotary Anadolu Lisesi

III. Mesleki Deneyimi

- Araştırma Görevlisi (Haziran 2016-halen): Hacettepe Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Fakültesi/ Beslenme ve Diyetetik Bölümü
- Araştırma Görevlisi (Şubat 2015- Haziran 2016): Batman Üniversitesi/ Sağlık Yüksekokulu/ Beslenme ve Diyetetik Bölümü

IV. Bilimsel Faaliyetleri

- Güzel, B., Tüyben, E. E., Kızıl, M. THE STINGING NETTLE: USAGE AREAS AND HEALTH EFFECTS. The 4th International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" 19-21 April 2018 Kyrenia / Northern Cyprus. (Oral Presentations)
- Tüyben, E. E., Güzel, B., Macit, A., Kızıl, M. DIFFERENT AND SATISFYING DESSERT WITH UNIQUE CREAM FOAM: KEREKIC. The 4th International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" 19-21 April 2018 Kyrenia / Northern Cyprus. (Oral Presentations)
- Macit, A., Güzel, B., Tüyben, E. E., Kızıl, M. ÇİRİŞ HERB (ASPHODELUS AESTIVUS): HEALTH EFFECTS AND USAGE AREAS. The 4th International

Symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus” 19-21 April 2018 Kyrenia / Northern Cyprus. (Poster Presentations)

- Tüyben, E. E., Güzel, B., Macit, A., Kızıl, M. THE DOCTOR OF ANDIRIN: TIRSIK (SNAKE BEET) SOUP. The 4th International Symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus” 19-21 April 2018 Kyrenia / Northern Cyprus. (Poster Presentations)
- Tüyben, E. E., Kızıl, M., Güzel, B. MOST DELICIOUS FORM OF BULGUR: FELLAH PATTY. The 4th International Symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus” 19-21 April 2018 Kyrenia / Northern Cyprus. (Poster Presentations)

