

Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunun Önlenmesi veya Azaltılması

Inhibition or Reduction of Heterocyclic Aromatic Amines Formation

Mevlûde Kızıl¹, H. Tanju Besler¹

¹ Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye

ÖZET

Heterosiklik aromatik aminler (HAA) pişmiş besinlerde ng/g düzeyinde bulunan ve insan kanserlerinin etiyojisinde önemli rol oynayan mutajenik bileşiklerdir. Mutajenik ve/veya karsinojenik HAA'lar pişmiş besinlerde ilk kez 1977 yılında Japon bilim insanları tarafından keşfedilmiştir ve 150°C üzerindeki sıcaklıklarda pişirilen et ve balıkta bulunmuştur. Bugüne kadar ise 25'den fazla mutajenik/karsinojenik HAA pişmiş besinlerden izole edilmiştir. HAA'lar aminoimidazoazorenler (AIA) ve aminokarboniller olmak üzere başlıca 2 ana grupta sınıflandırılmaktadır. AIA'lar serbest aminoasit, kreatin, kreatinin ve heksoz reaksiyonunu içeren Maillard reaksiyonu olarak bilinen enzimatik olmayan kahverengileşme reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Aminokarboniller veya pirolitik aminler ise yüksek sıcaklıkta (300°C üzerindeki sıcaklıklarda) aminoasitlerin ve proteinlerin pirolitik reaksiyonu ile oluşmaktadır. Uzun dönem hayvan çalışmaları, in vivo ve in vitro genotoksisite testlerinin ardından Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC) pişmiş besinlerde bulunan bazı HAA'ların 2A sınıfı (2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ),) ve 2B sınıfı (2-amino-3,4-dimethyl-imidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ), 2-amino-3,8-dimethyl-imidazo [4,5-f]quinoxaline (MeIQx) and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP),) muhtemel insan karsinojeni olduğu sonucuna varmıştır. Henüz bu toksik bileşiklerin insanda gerçekten kansere neden olduğu konusunda yeterli bilimsel kanıt mevcut değildir ve pişmiş besinde varlığına yönelik bir limit belirlenmemiştir. Ancak besinlerde oluşumunun en aza indirilmesi ve bu bileşiklerin maruziyetinin azaltılması önerilmektedir. Bu derlemede HAA oluşumunun önlenmesi veya azaltılması yönünde yapılmış çalışmalar değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Heterosiklik aromatik aminler, et, pişirme, antioksidanlar

ABSTRACT

Heterocyclic aromatic amines (HCAs) are potent mutagens/carcinogens at ppb (part per billion) levels in cooked foods and play an important role in the etiology of human cancer. Mutagenic and/or carcinogenic HCAs have been found in meat and fish cooked at temperatures over 150°C and first discovered by Japanese scientist Sugimura in 1977. Up to date more than 25 HCAs have been isolated and identified in cooked meat and meat products. HCAs can be classified into two main groups called IQ-type HCAs or aminoimidazoazarenes and non IQ-type HCAs or amino-carbolines. IQ-type HCAs are formed by heat induced non enzymatic browning known as Maillard reaction which involves creati(ni)ne, amino acid and sugars whereas amino-carbolines are mainly formed by pyrolysis of amino acids and proteins at higher temperatures above 300°C. After evaluations based on high dose, long term animal studies and in vitro and in vivo genotoxicity tests The International Agency for Research on Cancer (IARC) regards one as a probable human carcinogens class 2A (2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ),) and some of the HCAs as possible human carcinogens class 2B (2-amino-3,4-dimethyl-imidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ), 2-amino-3,8-dimethyl-imidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP),). But there is insufficient scientific evidence that these toxicants really cause human cancer. There is no general agreement on the role of HCAs regarding human health. However the authorities of Western countries recommend minimizing their formation in our diet. In literature there are several studies investigated inhibitions or reductions of HCAs formation. Hence, this review evaluates inhibition and reduction papers on HCA formation in literature.

Keywords: Heterocyclic aromatic amines, meat, cooking, antioxidants

GİRİŞ

Epidemiyolojik çalışmalar ve hayvan çalışmaları kanser gelişiminde diyetin önemli rol oynadığını göstermektedir ve insan kanserlerinin 1/3'ünün diyetle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (1,2). He-

terosiklik aromatik aminler (HAA) pişmiş ette, özellikle iyi pişmiş etlerde bulunan bir grup mutajenik bileşiklerdir ve bugüne kadar 25'den fazla mutajenik/karsinojenik HAA'lar pişmiş besinlerden izole edilmiştir (3).

İletişim/Correspondence:

Öğr. Gör. Dr. Mevlûde Kızıl

Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, D Blokları, 06100 Sıhıncapazarı, Ankara, Türkiye

E-posta: mkizil@hacettepe.edu.tr

Geliş tarihi/received: 24.07.2012

Kabul tarihi/accepted: 24.08.2012

Bu bileşikler etlerin yüksek sıcaklıkta pişirilmesi ile kreatin/kreatinin, aminoasit ve şekerin birbiri ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (4). Bu oluşum sıcaklık bağımlıdır ve 100-300°C arasında oluşan HAA'lar "Termik HAA'lar", IQ-tip veya aminoimidoazozarenler (AIA) olarak bilinirken, 300°C üzerindeki sıcaklıklarda oluşan HAA'lar "Piroolitik HAA'lar", IQ-tip olmayan HAA'lar veya aminokarboniller olarak bilinmektedir. Termik HAA'lar serbest aminoasit, kreatin(in) ve heksozların reaksiyonu sonucunda oluşmaktadır. Aminokarboniller veya pirolitik aminler ise yüksek sıcaklıkta aminoasitlerin ve proteinlerin pirolitik reaksiyonu ile oluşmaktadır. HAA oluşumunu etkileyen etmenler arasında, besinin cinsi, pişirme süresi ve sıcaklığı, pişirme aracı ve yöntemi, besinin pH'ı ve su aktivitesi gibi fiziksel etmenlerin yanı sıra karbonhidrat, serbest aminoasit ve kreatin varlığı gibi kimyasal etmenler yer almaktadır. Aynı zamanda ısı ve kütle transferi, yağ, yağ oksidasyonu ve antioksidanlar HAA düzeyini etkileyen diğer etmenler arasında yer almaktadır (5).

Uzun dönem hayvan çalışmaları, in vivo ve in vitro genotoksisite testlerinin ardından IARC (International Agency for Research on Cancer-Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu) (6) pişmiş besinlerde bulunan bazı HAA'ların 2A ve 2B sınıfı muhtemel insan karsinojeni olduğu sonucuna varmıştır. Pişmiş besinde HAA varlığına yönelik bir limit belirlenmemiştir. Fakat batı ülkelerindeki bu konuda uzman otoriteler besinlerde oluşumunu en aza indirmeyi önermektedir (7). HAA'ların oluşumu öncü maddelerin varlığı ve miktarı, pişirme yöntemi, antioksidanlar ve su tutucu bileşikler gibi birçok etmenlerle azaltılabilmektedir (7).

HAA Oluşumunu Önleyici Etmenler

Öncü madde düzeyi: Birçok çalışmada HAA'ların major öncü maddelerinin kreatin ve/veya kreatinin, aminoasit ve indirgen şeker olduğu rapor edilmiştir (8). Çiğ ette bulunan kreatin, serbest aminoasitler ve heksozun IQ bileşiklerinin öncü maddesi olduğu ileri sürülmektedir. Kreatinin siklizasyon ve su eliminasyonu ile AIA'ların 2-amin-3-metilimidazo (2-amin-imidazo) parçasını oluşturduğu kabul edilmiştir ve bu reaksiyon 100°C üzerinde kendiliğinden gerçekleşmektedir. Mo-

lekülün bu parçası tüm IQ tip bileşiklerde ortak yapıdır ve bu parça mutajeniteden sorumludur (9).

Kreatin, şeker, serbest aminoasit ve dipeptidler gibi HAA oluşumu için gerekli öncü maddelerin düzeyleri etin ve hayvanın cinsine göre çeşitlilik göstermektedir. Bu doğal varyasyonlar pişirme boyunca HAA oluşumunu etkileyebilmektedir. Örneğin, kümes hayvan etlerinde 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b] piridin (PhIP) oluşumu sığır ve domuz etine göre farklıdır ve pişmiş tavuk etinde son derece yüksek miktarda, 100 ng/g'ın üzerinde saptanmıştır (10).

Kızartma sonrasında kreatin veya kreatininin orijinal miktarlarının %90'ı kabukta bulunmaktadır. Yani kreatin(in) limitleyici bir etmen değildir. Fakat glikoz ve laktos miktarının artması kreatinin kreatinine dönüşümünü azaltmaktadır. Ayrıca, indirgen şeker miktarının artması ile Maillard reaksiyonunun, diğer Maillard reaksiyon ürünlerinin üretimine neden olduğunu ve bunların da mutajen HAA oluşumunu azaltacağı bildirilmiştir (11).

Aminoasitlerin HAA oluşumundaki etkisi incelendiğinde mutajenik aktivitenin farklı aminoasitler için farklı düzeylerde olduğu ve en yüksek mutajenik aktivitenin sırasıyla treonin, glisin ve lizinde olduğu tespit edilmiştir (12). Treonin, glisin, lizin, alanin ve serin aminoasitleri genellikle eş zamanlı olarak 2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin (MeIQx) ve 2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5-f]kinokzalin (DiMeIQx) oluşumuna yol açmaktadır. Model sistemlerde en yüksek mutajenik aktivite gösteren aminoasitler arasında treonin, glisin, lizin ve serin aminoasitlerinin bulunduğu belirtilmiştir (13).

Model sistemlerde şeker konsantrasyonunun artması ile mutajenlerin oluşumunun azaldığı veya hemen hemen engellendiği gösterilmiştir. Engelleme etkisi mekanizmasının bilinmemesine karşın glikoz miktarının artması ile kreatin ve kreatininin geri kazanımının azaldığı bildirilmektedir (14). Ayrıca Skog ve arkadaşları (11) kızartma öncesi köftelere nişasta ilavesinin mutajenik aktivitede azalmaya neden olduğunu belirtmiştir.

Pişirme yöntemi: Pişirme yöntemi HAA oluşumunu etkileyen bir diğer etmen olarak vurgulan-

maktadır. Çeşitli pişirme yöntemleri incelendiğinde tavada kızartma ve ızgara/barbekü pişirme yöntemleri uygulandığında HAA oluşumunun fırında rostolama, derin yağda kızartma veya mikrodalga pişirme yöntemlerine göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (15). Yüksek düzeyde HAA oluşumunun tavada kızartma uygulandığında ve özellikle 225°C üzerinde gerçekleştiği belirtilmiştir (8). Benzer olarak Oz ve arkadaşları (16) tavada kızarmış balık etinde toplam HAA miktarının en yüksek olduğunu ve mikrodalga fırında veya elektrikli ısıtıcıda pişirme yöntemleri uygulandığında HAA tespit edilmediğini rapor etmiştir. Mikrodalgada, fırında ve elektrikli ısıtıcıda değişik kahverengileşme derecelerinde pişirme işleminin, biftek örneklerinde HAA oluşumuna neden olmadığı buna karşın barbekü ve tavada kızartma pişirme yöntemlerinin HAA oluşumuna yol açtığı belirtilmiştir (17). Fırında pişirme ile düşük HAA oluşumu ısının hava akımı ile taşınmasıyla açıklanabilmektedir. Fırında pişirmede ısı taşınımını etkileyen ve ürünün yüzey sıcaklığını düşüren buhar varlığı ile daha az mutajenik aktivite oluşabilmektedir (39). Oz ve arkadaşları (18) diğer pişirme yöntemleri ile kıyaslandığında mikrodalga fırında pişirilmiş tavuk örneklerinin en düşük toplam HAA içeriğine sahip olduğunu göstermiştir. Benzer olarak Felton ve arkadaşları (19) ise mikrodalga ön uygulaması ile etteki kreatin miktarının azaldığını belirlemişler, ayrıca bu uygulamanın 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kinolin (IQ), MeIQx, DiMeIQx ve PhIP miktarlarında yaklaşık 3–9 kat azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. İki dakika süreli mikrodalga ön uygulaması ile kreatin, şeker ve aminoasit içeriklerinde %30, toplam HAA miktarında ise %90'a varan azalma tespit etmişlerdir.

Sıcaklık ve süre: Pişirme sıcaklığı ve süresinin HAA oluşumu üzerinde öncü maddelerin (kreatin, şeker, serbest aminoasitler) varlığı veya besinin su içeriği gibi etmenlere göre daha büyük etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (20). Ayrıca pişirme sıcaklığı HAA oluşumunda en önemli parametre olarak rapor edilmiş ve pişmiş etin dış yüzeyinde iç kısma göre mutajenik aktivitenin daha yüksek olduğunu bildirmiştir (21). AIA düzeyi genellikle pişirme sıcaklığı ile artış göstermektedir (22). Sıcaklık ve sürenin HAA oluşumu

üzerine etkisini incelemek amacıyla kreatin, glikoz ve aminoasit karışımından oluşan sulu model sistem 150-225°C de 0,5-120 dakika ısıtıldığına 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kinokzalin (IQx), MeIQx, 4,8DiMeIQx ve PhIP oluşumunun hızlı gerçekleştiği fakat IQ veya 2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-f]kinolin (MeIQ) oluşumunda aynı etkinin olmadığı gözlenmiştir (23). HAA'ların çeşidinin ve miktarının pişirme ısı arttıkça arttığı kanıtlanmış ve özellikle PhIP'in yüksek sıcaklıkta yüksek miktarda oluştuğu belirtilmektedir (24). HAA oluşumu pişirme sıcaklığı düşük ve sabit tutulursa en aza indirilebilmektedir. Pişirme süresi ve sıcaklığındaki artış HAA oluşumunda artışa yol açmaktadır ve PhIP düzeyi pişirme süresi uzadıkça ve pişirme sıcaklığı arttıkça artış göstermektedir (21).

Yağ: Etin yağ içeriğinin mutajenik aktivite oluşumunda diğer bir önemli etmen olduğu bildirilmektedir, fakat mutajenik aktivite oluşumunda yağların rolü açık değildir. Çalışmalarda maksimum HAA oluşumu için optimum yağ düzeyi kıyma halindeki ette %10-20 olarak belirlenmiştir (13).

Yağ varlığının HAA oluşumunu kimyasal ve fiziksel olarak etkilediği belirtilmektedir. Pişmiş ette HAA miktarı ve yağ içeriği arasındaki ilişkiyi gösteren çok az sayıda çalışma vardır. Bazı çalışmalarda IQ oluşumunun yüksek yağlı etlerde düşük yağlı etlere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür (25). Farklı oranda yağ içeren köfteler (%8, %15 ve %30) üzerine yürütülen bir çalışmada, en düşük mutajenik aktivite %8 yağ oranında tespit edilmiştir. Yüzde 15 yağ oranında mutajenik aktivitenin arttığı, %30 yağ düzeyinde %15'e göre önemli bir azalmanın olmadığı belirtilmiştir (26).

Antioksidanlar: HAA oluşum mekanizması ve Maillard reaksiyonunda serbest radikal oluşumu yer alması nedeniyle antioksidanlar bu serbest radikalleri tutarak HAA oluşumunu azaltabilmektedir (27). Biberiye, kekik, adaçayı, sarımsak gibi çeşitli baharat türlerinin sığır etinden yapılmış köftelerin yüzeyine eklenmesi ile HAA oluşumu arasındaki ilişki incelendiğinde kekiğin IQ, MeIQ, 4,8-DiMeIQx, MeIQx ve PhIP düzeyinde %61-100, sarımsağın %32-78, biberiye ve adaçayının

ise sırasıyla %38-75 ve %40-100 azalma sağladığı bildirilmiştir (28). Sığır etine %1 ve %10 oranında E vitamini eklenmesiyle PhIP oluşumunun sırasıyla %59 ve %72 azaldığı, MeIQx'deki azalmanın küçük ve oldukça değişken olduğu bildirilmiş, oleoresin biberiyenin ise PhIP oluşumunu %44 oranında azalttığı görülmüştür (29). Başka bir çalışmada da antioksidan öğelerden zengin baharat kullanılmasının 204°C de ızgara edilen sığır etinde HAA oluşumunu anlamlı derecede azalttığı bildirilmiştir (30).

Kiraz dokusu (31), çaydaki fenolik bileşikler (32), sarımsakdaki sülfür bileşikleri (33), kırmızıbiber (34), karabiber (35) ve oligosakkaritler, inulin (36) gibi bileşenlerin besinlerde HAA düzeylerini azalttığı tespit edilmiş ayrıca organosülfür bileşiklerin Maillard reaksiyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (37).

Başka bir çalışmada da pek çok bitkide doğal olarak oluşan flavonların, glisin, kreatin ve glikozdan oluşan sıvı bir model sistemde MeIQx ve 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo[4,5-f]kinoksalin (7,8-DiMeIQx) oluşumunu engellediği belirtilmiştir. Engelleyici etkisinin HAA'ların ara ürünleri olan Maillard reaksiyon ürünlerinde azalmaya yol açması sayesinde olduğu belirtilmektedir (38).

Su tutma kapasitesi: Pişirme süresince HAA oluşumu için gerekli olan suda çözünen öncü maddeler etin iç kısmından su ile yüzeye taşınmakta ve böylece yüzeyde HAA oluşumu için gerekli öncü maddelerinin miktarı artmaktadır. Yüksek pişirme kaybının HAA oluşumunun artmasıyla ilişkili olduğu bulunmuş ve öncü maddelerin su ile taşınımının su tutucu bileşiklerden etkilenebileceği bildirilmiştir (39). Sığır etinden yapılmış köftelere tuz (NaCl) ve sodium tripoli-fosfat eklenmesiyle pişirme kaybının azaldığı ve PhIP, MeIQx and 4,8-DiMeIQx oluşumunun azaldığı bulunmuştur. 225°C'de 10 dk kızartılan sığır eti köftelerine %1.5 oranında frukto-oligosakkarit, galakto-oligosakkarit, isomalto-oligosakkarit veya inulin eklenmesi ile PhIP, MeIQx, ve DiMeIQx oluşumunun %46-54 oranında azaldığı bildirilmiştir (36). Persson ve arkadaşları (39) köftelere kızartma öncesi ilave edilen %1.5 NaCl ve %0.3 tripoli-fosfatın ette HAA oluşumunu, pişirme

kaybını ve kreatinin kreatinine dönüşümünü azalttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar uygulamada yapılan değişiklikler sayesinde HAA oluşumunun en aza indirilebileceğini göstermektedir.

Kaplama: Kızartma işlemi öncesinde besini gale-ta unu ile kaplamanın HAA oluşumunu azaltabileceği bildirilmiştir (40). Kızartma öncesi ekme-kı-rıntılılarıyla kaplanmış besinler kaplamanın yalıtım etkisi nedeniyle HAA oluşumunu azaltabilmektedir. Fakat çok ince tabaka unla kaplı kızartılmış balık kabuğunda da HAA tespit edilmiştir (21).

Marinasyon: Izgara veya kızartma öncesinde marinasyon lezzet ve aromanın artırılması için yapılan yaygın bir işlemdir. Marinasyon ayrıca HAA düzeyini modifiye edebilmektedir. Bazı çalışmalarda ızgara öncesinde tavuk etlerinin marinasyonunun HAA düzeyini azalttığı gösterilmiştir (41). Gu ve arkadaşları (42) ızgara tavuğun soya sosu, susam yağı, şeker, sarımsak ve soğan tozu ile marinasyonunun iyi pişmiş olanların dışındaki ızgara tavuk etinde HAA oluşumunu azalttığını göstermiştir. Gibis (43) soğan, sarımsak ve limon suyu içeren marinad üzerinde yaptığı çalışmada %20 sarımsak içeren marinadın MeIQx düzeyinde %70 azalma sağladığını göstermiştir. Busquets ve arkadaşları (44) ise kırmızı şarapla marine edilmiş kızarmış tavuk göğüs etinde PhIP düzeyinin %88 azaldığını bildirmiştir. Her bir tarafı 4 dk 80-200°C'de tavada kızartılmış sığır etinde HAA oluşumuna yeşil çay marinasyonunun etkisi incelendiğinde PhIP ve 2-amino-9H-pirido[2,3-b]indol (AαC) düzeyinde marine edilmemiş sığır etlerine göre anlamlı azalma olduğu görülürken 4,8-DiMeIQx ve MeIQx düzeyinde herhangi bir azalma görülmemiştir (45).

SONUÇ VE ÖNERİLER

İnsanlar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalar ve hayvan çalışmaları diyetin insanda kanser epidemiyolojisinde rolünün olduğunu göstermiştir. Diyet bireysel yaşam tarzının bir parçasıdır ve kısmi olarak modifiye edilebilir. Bu nedenle insanda kanser riskini artıran veya azaltan uygulamalar veya alışkanlıkların araştırılması ve diyetle maruz kalma miktarının belirlenmesi önemli olmaktadır.

Çıkar çatışması/Conflict of interest: Yazarlar ya da yazı ile ilgili bildirilen herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

1. Kulp KS, Fortson SL, Knize MG, Felton JS. An in vitro model system to predict the bioaccessibility of heterocyclic amines from a cooked meat matrix. *Food Chem Toxicol* 2003;41(12):1701-1710.
2. Sugimura T. Food and cancer. *Toxicology* 2002;181(182):17-21.
3. Sanz-Alaejos M, Ayala JH, González V, Afonso AM. Analytical methods applied to the determination of heterocyclic aromatic amines in foods. *J Chromatogr B* 2008;862:15-42.
4. Zheng W, Lee SH. Well-done meat intake, heterocyclic amine exposure, and cancer risk. *Nutr Cancer* 2009;61(4):437-446.
5. Oz F, Kaban G, Kaya M. Effects of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines of two different species trout. *Food Chem* 2007;104:67-72.
6. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. In *Some Natural Occurring Substances: Food Items and Constituents. Heterocyclic Amines and Mycotoxins*, Vol 56 sf. 163–242, International Agency for Research on Cancer, Lyon; 1993.
7. Skog K, Alexander J. Acrylamide and other hazardous compounds in heat-treated foods. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2006.
8. Chiu CP, Yang DY, Chen BH. Formation of heterocyclic amines in cooked chicken legs. *J Food Prot* 1998;61(6):712-719.
9. Laser-Reuterswärd A, Skog K, Jägerstad M. Effects of creatine and creatinine content on the mutagenic activity of meat extracts, bouillons and gravies from different sources. *Food Chem Toxicol* 1987;25:747-754.
10. Solyakov A, Skog K. Screening for heterocyclic amines in chicken cooked in various ways. *Food Chem Toxicol* 2002;40(8):1205-1211.
11. Skog K, Jägerstad M, Laser Reuterswärd A. Inhibitory effect of carbohydrates on the formation of mutagens in fried beef patties. *Food Chem Toxicol* 1992;30(8):681-688.
12. Jägerstad M, Laser-Reuterswärd A, Olsson R, Griivas S, Nyhammar T, Olsson K, et al. Creatin(ine) and Maillard reaction products as precursors of mutagenic compounds: Effects of various amino acids. *Food Chem* 1983;12:255-264.
13. Robbana-Barnat S, Rabache M, Rialland E, Fradin J. Heterocyclic amines: Occurrence and prevention in cooked food. *Environ Health Perspect* 1996;104:280-288.
14. Skog K. Cooking procedures and food mutagens: A literature review. *Food Chem Toxicol* 1993;31(9):655-675.
15. Sinha R, Rothman N, Salmon CP, Knize MG, Brown ED, Swanson CA, et al. Heterocyclic amine content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings. *Food Chem Toxicol* 1998;36:279-287.
16. Oz F, Kaban G, Kaya M. Effects of cooking techniques and levels on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish. *J Anim Vet Adv* 2010;9(8):1259-1264.
17. Oz F, Kaban G, Kaya M. Heterocyclic aromatic amine contents of beef and lamb chops cooked by different methods to varying levels. *J Anim Vet Adv* 2010;9(10):1436-1440.
18. Oz F, Kaban G, Kaya M. Effects of cooking methods and levels on formation of heterocyclic amines in chicken and fish with Oasis extraction method. *LWT-Food Science and Technology* 2010;43:1345-1350.
19. Felton JS, Fultz E, Dolbear FA, Knize MG. Reduction of heterocyclic aromatic amine mutagens/carcinogens in fried beef patties by microwave pretreatment. *Food Chem Toxicol* 1994;32:897-903.
20. Skog KI, Johansson MAE, Jägerstad M. Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food Chem Toxicol* 1998;36:879-896.
21. Skog K, Augustsson K, Steineck G, Stenberg M, Jägerstad M. Polar and non-polar heterocyclic amines in cooked fish and meat products and their corresponding pan residues. *Food Chem Toxicol* 1997;35:555-565.
22. Jackson LS, Hargraves WA. Effects of time and temperature on the formation of MeIQx and DiMeIQx in a model system containing threonine, glucose, and creatine. *J Agric Food Chem* 1995;43:1678-1684.
23. Arvidsson P, Van Boekel MAJS, Skog K, Jägerstad M. Kinetics of formation of polar heterocyclic amines in a meat model system. *J Food Sci* 1997;62:911-916.
24. Skog K, Solyakov A. Heterocyclic amines in poultry products: a literature review. *Food Chem Toxicol* 2002;40(8):1213-1221.
25. 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):1511-1518.
26. Knize MG, Andresen BD, Healy SK, Shen NH, Lewis PR, Bjeldanes LF, et al. Effects of Temperature, patty thickness and fat content on the production of mutagens in fried ground beef. *Food Chem Toxicol* 1985;23:1035-1040.
27. Kikugawa K. Involvement of free radicals in the formation of heterocyclic amines and prevention by antioxidants. *Cancer Lett* 1999;143:123-126.
28. Murkovic M, Steinberger D, Pfannhauser W. Antioxidant spices reduce the formation of heterocyclic amines in fried meat. *Eur Food Res Technol* 1998;207(6):477-480.
29. Balogh Z, Gray JI, Gomaa EA, Booren AM. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food Chem Toxicol* 2000;38:395-401.
30. Smith JS, Ameri F, Gadgil P. Effect of marinades on the formation of heterocyclic amines in grilled beef steaks. *J Food Sci* 2008;73:100-105.
31. Britt C, Gomaa EA, Gray JI, Booren AM. Influence of cherry tissue on lipid oxidation and heterocyclic aromatic amine formation in ground beef patties. *J Agric Food Chem* 1998;46:4891-4897.
32. Weisburger JH, Nagao M, Wakabayashi K, Oguri A. Prevention of heterocyclic amine formation by tea and tea polyphenols. *Cancer Lett* 1994;83:143-147.
33. Shin HS, Strasburg GM, Gray JI. A model system study of the inhibition of heterocyclic aromatic amine formation by organosulfur compounds. *J Agric Food Chem* 2002;50(26):7684-7690.

34. Oz F, Kaya M. The inhibitory effect of red pepper on heterocyclic aromatic amines in fried beef Longissimus-dorsi muscle. *J Food Process Preserv* 2011;35(6):806-812.
35. Oz F, Kaya M. The inhibitory effect of black pepper on formation of heterocyclic aromatic amines in high-fat meatball. *Food Control* 2011;22:596-600.
36. Shin HS, Park H, Park D. Influence of different oligosaccharides and inulin on heterocyclic aromatic amine formation and overall mutagenicity in fried ground beef patties. *J Agric Food Chem* 2003;51:6726-6730.
37. Trompeta V, O'Brien J. Inhibition of mutagen formation by organosulfur compounds. *J Agric Food Chem* 1998;46:4318-4323.
38. Lee H, Jiaan CY, Tsai SJ. Flavone inhibits mutagen formation during heating in a glycine/creatine/glucose model system. *Food Chem* 1992;45:235-238.
39. Persson E, Sjöholm I, Skog K. Effect of high water-holding capacity on the formation of heterocyclic amines in fried beefburgers. *J Agric Food Chem* 2003;51(15):4472-4477.
40. Augustsson K, Skog K, Jägerstad M, Steineck G. Assessment of the human exposure to heterocyclic amines. *Carcinogenesis* 1997;18:1931-1935.
41. Tikkanen LM, Latva-Kala KJ, Heinioè RL. Effect of commercial marinades on the mutagenic activity, sensory quality and amount of heterocyclic amines in chicken grilled under different conditions. *Food Chem Toxicol* 1996;34:725-7301.
42. Gu YS, Kim IS, Park JH, Lee SH, Park DC, Yeum DM, et al. Effects of seasoning and heating device on mutagenicity and heterocyclic amines in cooked beef. *Biosci Biotechnol Biochem* 2011;65(10):2284-2287.
43. Gibis M. Effects of oil marinades with garlic, onion, and lemon juice on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried beef patties. *J Agric Food Chem* 2007;55(25):10240-10247.
44. Busquets R, Puignou L, Galceran MT, Skog K. Effect of red wine marinades on the formation of heterocyclic amines in fried chicken breast. *J Agric Food Chem* 2006;54(21):8376-8384.
45. Quelhas I, Petisca C, Viegas O, Melo A, Pinho O, Ferreira IMPLVO. Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. *Food Chem* 2010;122:98-104.