

Köftelerde Enginar Ekstraktının Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkisi

The Effect of Artichoke Extract on Heterocyclic Aromatic Amine Formation in Meatballs

M. Merve Tengilimoğlu-Metin¹, Mevlüde Kızıl¹

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

ÖZET

Amaç: Farklı düzeylerde eklenen enginar ekstraktının (%0, 0.5 ve 1.0) tavada veya fırında pişirilen köftelerde heterosiklik aromatik aminlerin (HAA) oluşumunu azaltıcı etkisinin incelenmesidir. **Gereç ve Yöntem:** Köfteler, üç farklı sıcaklıkta (150, 200 ve 250°C) pişirilmiş ve 12 HAA (IQ, IQx, MeIQ, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, 7,8 DiMeIQx, PhIP, harman, norharman, AaC, MeAaC ve Trp-P-2) açısından değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Köftelerin toplam HAA içerikleri 0.2 ile 2.48 ng/g aralığında saptanmıştır. Enginar ekstraktının toplam HAA düzeyleri üzerine azaltıcı etkisi %2-83 olarak saptanmıştır. **Sonuç:** Bu çalışma enginar ekstraktının HAA oluşumunu azaltabileceğini ve inhibitör etkisinin konsantrasyona bağlı olarak değiştiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, enginar ekstraktı, pişirme yöntemi, pişirme sıcaklıkları, heterosiklik aromatik amin

ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of different levels of artichoke extract (0, 0.5, and 1.0%) on the formation of heterocyclic aromatic amines (HAAs) in meatballs cooked by either pan-frying or oven-roasting. **Material and Methods:** All meat samples were cooked at three different temperatures (150, 200, and 250 °C) and the levels of 12 HAAs (IQ, IQx, MeIQ, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, 7,8-DiMeIQx, PhIP, harman, norharman, AaC, MeAaC, and Trp-P-2) were assessed. **Results:** The total HAA content ranged from 0.2 to 2.48 ng/g. The inhibitory effects of artichoke extracts on total HAAs levels were found to be between 2-83%. **Conclusion:** The present study showed that artichoke extracts could mitigate HAA formation and inhibitory effects of artichoke extract are concentration-dependent.

Keywords: Antioxidant, artichoke extract, cooking method, cooking temperature, heterocyclic aromatic amine

GİRİŞ

Kanser gelişiminde diyetin önemli rol oynadığı ve insan kanserlerinin 1/3'ünün diyetle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (1). Heterosiklik aromatik aminler (HAA), sığır, domuz, balık ve kümes hayvanları gibi proteinli besinlerin pişirilmesi sırasında doğal olarak oluşan bileşiklerdir (2). HAA'ların vücutta birçok bölgede kansere neden olduğu belirtilmektedir (3). HAA'lar etlerin yüksek sıcaklıkta pişirilmesi ile kreatin/kreatinin, aminoasit ve şekerin birbiri ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Besinin cinsi, pişirme süre ve sıcaklığı, pişirme aracı, pişirme yöntemi, besinin pH'sı ve su aktivitesi gibi fiziksel etmenlerin yanı sıra karbonhidrat, serbest aminoasit ve kreatin varlığı gibi kimyasal etmenler HAA oluşumunu

etkilemektedir. Aynı zamanda ısı ve kütle transferi, lipid oksidasyonu ve antioksidanlar, HAA düzeyini etkileyen diğer etmenler arasında yer almaktadır (4). Ayrıca serbest radikallerin HAA'ların oluşumuna katkı sağladığı bildirilmiştir. Antioksidanların Maillard reaksiyonu sırasında oluşan bu serbest radikalleri tutarak HAA oluşumunu azalttıkları gösterilmiştir (5,6). Et üzerinde ve model sistemde yapılan çalışmalarda, E vitamini (7), kiraz dokusu (8), çaydaki fenolik bileşikler (9-11) sarımsaktaki sülfür bileşikleri (12) ve oligosakkaritler, inulin (13) gibi bileşenlerin besinlerde HAA düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (14,15). Literatürde antioksidanların HAA oluşumunu önleyici veya azaltıcı etkisi

İletişim/Correspondence:

Dr. Dyt. M. Tengilimoğlu-Metin

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

E-posta: tengilimoğlu@hacettepe.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 16.08.2017

Kabul tarihi/Accepted: 19.12.2017

konusunda çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Yeşil çay ekstraktının kaplama içerisinde tavuk bagete %1.5 konsantrasyonunda eklendiğinde HAA oluşumunu azaltıcı etkisi bulunamazken (16), nar çekirdeği ekstraktının dana ve tavuk köftelerine %0.5 konsantrasyonunda eklendiğinde toplam HAA düzeylerinin %39-49 azaldığı bulunmuştur (17). Enginar, Akdeniz diyetinin önemli bir bileşeni olmakla beraber polifenoller ve flavonlar gibi antioksidan bileşiklerin zengin bir kaynağıdır (18,19). Enginarın içerdiği flavonoidler ve polifenoller gibi antioksidan bileşiklerin kardiyovasküler hastalık riskini azaltıcı etkisinin olduğu bir çalışmada gösterilmiştir (20). Ancak fazla et tüketimi ile ilişkilendirilen kanser riskinin azaltılması açısından etlere enginar ekstraktı eklenmesinin HAA oluşumunu önleyici veya azaltıcı etkisi daha önce çalışılmamıştır.

Et ve et ürünlerinin daha sağlıklı hale getirilmesi çalışmaları oldukça ilgi çekmektedir ve literatürde bu konuda henüz yeterli çalışma yoktur. 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 azaltılması önemlidir. Bu çalışmada, yağsız tavada pişirme ve fırında pişirme yöntemleri kullanılarak farklı sıcaklık derecelerinde pişirilen dana etinden yapılmış köftelere eklenen enginar ekstraktının karsinojenik/mutajenik HAA'ların oluşumu üzerine önleyici etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Materyal

Araştırmada kullanılan köfte yapımı için gerekli olan M. Longissimus dorsi kasından elde edilen dana eti kıyması yerel bir kasaptan sağlanmıştır. Enginar ekstraktı (*Cynara scolymus* L.), ise özel bir firmadan alınmıştır. Dana eti kıymasının yağ içeriği %20 olacak şekilde laboratuvar ortamında dışarıdan dana eti yağı eklenerek ayarlanmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Köfte karışımı için, dana eti kıyması ve tuzsuz galeta unu (%20) kullanılmıştır. Enginar ekstraktı,

dana etinden yapılmış köftelere %0 (kontrol), %0.5 ve %1 (w/w) konsantrasyonlarında eklenmiştir. Köfte kalıbı kullanarak yaklaşık 100 g ağırlığında, 1 cm kalınlığında, 8 cm çapında hazırlanan köftelere, enginar ekstraktı dışında tuz veya herhangi bir baharat eklenmemiştir. Farklı konsantrasyonlara eklenen enginar ekstraktının köfte içerisinde homojen dağılımını sağlamak için yoğurma işlemi gerçekleştirilmiş ve hazırlanan örnekler 4°C'de 24 saat bekletilmiştir.

Piştirme Süreci

Piştirme yöntemlerinden yağsız tavada piştirme ve fırında piştirme yöntemleri tercih edilmiştir. Tavada piştirme işlemi için yağ kullanılmamıştır. Her bir piştirme yöntemi, üç farklı sıcaklık (150, 200 ve 250°C) derecesinde gerçekleştirilmiştir. Piştirme süreleri, besinin iç sıcaklığının en az 75°C olması sağlanarak yapılan ön denemeler sonucu, etin her iki yüzü için eşit süre olacak şekilde yağsız tavada piştirme süresi toplam 10 dk, fırında piştirme süresi ise toplam 20 dk olarak belirlenmiştir. Piştirme sıcaklıklarının ayarlanması için tavanın yüzey sıcaklığı termometre ile ölçülmüştür. Tüm örneklerin pişirilmesinde aynı teflon tava kullanılmış ve her kullanımdan sonra tavadaki kalıntılar uzaklaştırılmış, yıkanmış ve kurulanmıştır. Tüm piştirme işlemleri tamamlandıktan sonra, pişirilmiş örneklerin oda sıcaklığında yaklaşık 30 dk soğuması beklenmiştir. Piştirme öncesi ve sonrası ağırlık ölçümü yapılarak piştirme ile ağırlık kaybı belirlenmiştir. Daha sonra, pişirilmiş örnekler homojen bir yapı oluşturmak için bir mutfak karıştırıcısı kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler, her bir analiz için gerekli olacak miktarlarda tartılmış ve alüminyum folyoya sarılıp -20°C'de saklanmıştır. Analizlerden bir gün önce örnekler +4°C'de çözündürülmüştür.

Analizler

Çiğ örneklerde proksimet (nem, kül, toplam lipid ve toplam protein) ve pH tayini, TBARS ve öncü madde (kreatin, kreatinin, glukoz, fruktoz) analizleri yapılmıştır. Piştirme sonrası örneklerin proksimet (nem, kül, toplam protein, toplam lipid) ve pH tayini, TBARS, öncü madde (kreatin,

kreatinin, glukoz, fruktoz) ve HAA analizleri yapılmıştır. Tüm analizler dublike olarak gerçekleştirilmiştir. Böylece toplam örnek sayısı 38'dir.

Protein, lipit, kül, nem içeriği de dahil olmak üzere et örneklerinin proksimet analizi, AOAC (Horwitz, 2000) yöntemlerine göre gerçekleştirilmiştir. Lipit içeriği, Soxhlet yöntemi ile, protein içeriği Kjeldahl yöntemi ile analiz edilmiştir. Örneklerin asiditesi (pH), oda sıcaklığında pH'sı 4.0 ve 7.0 olan standart çözeltilerle kalibre edilen dijital bir pH metre kullanılarak ölçülmüştür. Pişirme öncesi tartılan köfte örnekleri pişirme sonrası soğuması beklendikten sonra tekrar ölçülmüştür. Aradaki ağırlık farkı, yüzde (%) olarak hesaplanarak pişirme ile ağırlık kayıpları olarak belirlenmiştir.

Köfte örneklerinin kreatin ve kreatinin içeriği, Polak ve arkadaşları (21) tarafından belirtilen yöntem kullanılarak, indirgen şeker içerikleri ise Serpen ve Gökmen'e (22) göre belirlenmiştir.

Enginar ekstraktı eklenmesinin lipit oksidasyonu üzerine etkisini belirlemek için örneklerde TBARS analizi, Gaebler ve arkadaşları (23) ve Kerth ve Rowe (24)'un mikropilaka okuyucuya göre modifiye ettikleri yöntemle gerçekleştirilmiştir.

HAA ekstraksiyonu, Messner ve Murkovic (25) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. Örneklerin HAA miktarları, HPLC ile belirlenmiştir. HAA'ların geri kazanım miktarlarını belirlemek için standart ek yöntemi kullanılmıştır. HAA'ların geri kazanım oranları, IQx için %78, IQ için %65, MeIQx için %76, MeIQ için %79, 7,8-DiMeIQx için %73, 4,8-DiMeIQx için %78, Norharman için %60, Harman için %65, Tpr-P-2 için %64, PhIP için %98, AαC için %62, MeAαC için %68 olarak bulunmuştur.

Verilerin İstatistiksel Değerlendirmesi

Bu çalışma, şansa bağlı tam bloklar deneme planına göre kurulup dublike olarak yürütülmüştür. Veriler, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. İstatistiksel farklılık, Duncan çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir. Elde edilen veriler, SPSS 23 programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Proksimet İçerikleri ve pH Değerleri

Çiğ ve pişmiş dana etinden yapılmış köfte örneklerinin nem (%), kül (%), toplam lipit (%) ve toplam protein (%) içerikleri, pH değerleri ve pişirme kayıpları enginar ekstraktı düzeyleri, pişirme yöntemleri ve pişirme sıcaklıkları açısından Tablo 1'de olarak verilmiştir. Buna göre, çiğ köfte örneklerinin nem içeriği %45.71, toplam lipit içeriği %20.09, toplam protein içeriği %15.10, pH değeri 5.41 olarak bulunmuştur.

Köfte örneklerinde pişirme kayıplarının %10-36 arasında değiştiği gözlenmiştir. Pişirme yöntemlerine göre pişirme kayıpları incelendiğinde, fırında pişirme yöntemi ile pişirme kaybının yağsız tavada pişirme yöntemine göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Her iki pişirme yöntemi için hem kontrol grubunda hem de farklı düzeylerde enginar ekstraktı eklenen gruplarda pişirme sıcaklığı arttıkça pişirme kaybının arttığı gözlenmiştir ($p<0.01$). Ekstrakt eklemenin pişirme ile ağırlık kaybı üzerine anlamlı etkisi bulunamamıştır ($p>0.05$).

Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin %45.71 olan nem içeriğinin pişirme işlemi ile %21.50-47.73 arasında değiştiği görülmektedir. Bu azalmada eklenen ekstraktların kontrol grubuna göre bir etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Pişirme yöntemlerine göre nem kayıpları kıyaslandığında fırında pişirme yönteminde (%36.93) yağsız tavada pişirme yöntemine göre (%39.21) daha fazla nem kaybı olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır. Pişirme sıcaklıklarındaki artış ile nem içeriğindeki kaybın daha da arttığı saptanmıştır ($p<0.01$). Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin %1.01 olan kül içeriğinin pişirme işlemi ile arttığı görülmektedir ($p<0.01$). Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin %20.09 olan lipit içeriğinin, fırında pişirme yönteminde (%14.56) azalmaya ($p<0.01$) neden olurken yağsız tavada pişirme yönteminde (%15.62) ise artışa ($p<0.01$) neden olduğu ve pişirme sıcaklığı arttıkça bu azalmanın arttığı ($p<0.01$) saptanmıştır. Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin %15.10 olan protein içeriğinin,

Tablo 1. Enginar ekstraktı eklenen dana etinden yapılmış köfte örneklerinin pişirme ile ağırlık kaybı, proksimet içerikleri, pH değerleri, öncü madde düzeyleri ve TBARS değerleri

Çiğ köfte hammaddede	Örnek sayısı	Nem (%)	Kül (%)	Toplam protein (%)	Toplam lipit (%)	pH	Pişirme kaybı (%)	Kreatin (mg/g)	Kreatinin (mg/g)	Glukoz (mg/kg)	Fruktoz (mg/kg)	TBARS (mg MDA/kg)
Enginar ekstrakt konsantrasyonu (%) (EEK)												
Kontrol	12	39,66±7,21	1,43±0,11 ^a	20,00±1,84	14,34±1,38	6,00±0,44	22,41±9,64	0,52±0,16	0,85±0,53	0,28±0,06 ^a	0,30±0,04 ^a	2,54±0,39 ^a
0.5	12	35,11±7,90	1,45±0,11 ^{ab}	20,55±4,11	14,85±1,68	5,95±0,46	22,50±8,95	0,55±0,76	0,87±0,42	0,33±0,09 ^{ab}	0,29±0,06 ^a	0,69±0,16 ^b
1.0	12	33,84±8,16	1,55±0,10 ^b	21,15±1,63	14,79±1,72	5,97±0,61	23,00±7,95	0,51±0,70	0,93±0,33	0,41±0,10 ^b	0,54±0,13 ^b	0,61±0,18 ^b
Anlamlılık***		ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	**	**
Piştirme yöntemleri (PY)												
Tavada piştirme	18	37,86±6,88	1,45±0,86	20,89±3,41	15,17±1,36	5,99±0,04	21,27±8,10	0,48±0,13 ^a	0,87±0,48	0,33±0,07	0,39±0,12	1,22±0,95
Fırında piştirme	18	34,54±8,78	1,50±0,14	20,25±1,86	14,15±1,64	5,96±0,05	24,00±9,13	0,57±0,07 ^b	0,90±0,37	0,35±0,12	0,37±0,16	1,34±0,94
Anlamlılık***		ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
Piştirme sıcaklığı (°C) (PS)												
150	12	44,08±3,28 ^a	1,36±0,07 ^b	17,94±2,32 ^a	16,22±0,78 ^a	5,98±0,41 ^{ab}	13,08±3,47 ^a	0,55±0,07	0,50±0,32 ^a	0,44±0,09 ^a	0,44±0,18	1,05±0,75
200	12	37,01±3,92 ^b	1,52±0,10 ^b	20,81±1,01 ^b	14,50±0,97 ^b	6,00±0,05 ^a	22,66±3,82 ^b	0,54±0,09	0,85±0,22 ^b	0,33±0,04 ^b	0,35±0,09	1,32±0,99
250	12	27,52±4,99 ^c	1,55±0,08 ^b	22,94±1,88 ^c	13,27±1,24 ^c	5,95±0,05 ^b	32,16±3,37 ^c	0,49±0,14	1,31±0,26 ^c	0,25±0,05 ^c	0,35±0,12	1,48±1,06
Anlamlılık***		**	**	**	**	*	**	ns	**	**	ns	ns

ns: anlamlı değil.

Tablo 2. Farklı konsantrasyonlarda enginar ekstraktı eklenen dana etinden yapılmış köfte örneklerinin heterosiklik aromatik amin içerikleri (ng/g)

Piştirme yöntemleri	Piştirme sıcaklıkları	Uygulama	IQ	IQ	MeIQ	MeIQx	DiMeIQx	DiMeIQx	Norharman	Harman	Trp-P-2	PhIP	AαC	MeAαC	Toplam HAA	Artma/azalma (%)
Yağsız tavada piştirme	150°C	Kontrol	0,62	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,20	0,12	0,42	0,85	nd	2,21	+12,22
		%0,5	0,92	nd	0,02	0,04	0,02	0,01	nd	0,28	nd	0,39	0,81	nd	2,48	-82,81
		%1	0,13	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,24	nd	0,38	
200°C	Kontrol	0,89	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,89		
	%0,5	0,87	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,87	-2,25	
	%1	0,20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,20	-77,53	
250°C	Kontrol	0,34	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,36	+116,67	
	%0,5	0,78	nd	nd	0,06	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,78	-16,67	
	%1	0,24	nd	nd	0,14	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,30		
Fırında piştirme	150°C	Kontrol	0,56	nd	nd	0,14	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,70	+35,71
		%0,5	0,86	nd	0,03	0,06	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,95	+8,57
		%1	0,71	nd	nd	0,05	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,76	
200°C	Kontrol	0,85	nd	nd	0,25	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,10	-22,72	
	%0,5	0,65	nd	nd	0,20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,85	-30,91	
	%1	0,52	nd	0,06	0,18	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,76		
250°C	Kontrol	1,20	nd	nd	0,45	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,65	-20,0	
	%0,5	0,95	nd	nd	0,37	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,32	-42,42	
	%1	0,62	nd	0,10	0,23	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,95		

nd: saptanamamıştır. +: artma. -: azalma

pişirme işlemi ile arttığı ve bu artışın pişirme sıcaklık derecesi arttıkça saptanmıştır ($p<0.01$). Ancak, protein içeriğinin pişirme yöntemlerine göre farklılık göstermediği saptanmıştır ($p>0.05$). Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin pH değeri 5.41 olarak belirlenmiş ve pişirme işlemi sonrasında pH değerinde artış olduğu saptanmıştır. Enginar ekstraktı eklemenin pH değerleri üzerine bir etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Öncü Madde Düzeyleri ve TBARS değerleri

Köfte örneklerinin kreatin, kreatinin, glukoz ve fruktoz içerikleri ve TBARS değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Pişirme ile çiğ et örneklerinin kreatin içeriğinde azalma, kreatinin içeriğinde ise artış olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Ayrıca pişirme sıcaklığı arttıkça kreatin miktarı azalırken kreatinin miktarının arttığı saptanmıştır ($p<0.01$). Pişirme ile çiğ et örneklerinin glukoz ve fruktoz içeriklerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0.05$). Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin TBARS değerleri 0.45 olarak bulunmuş ve pişirme işlemi ile TBARS değerlerinde artış olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Pişirme sıcaklığındaki artışın TBARS değerlerini daha fazla artırdığı gözlenmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında enginar ekstraktı eklemesinin TBARS değerlerinde anlamlı bir azalma ($p<0.01$) sağladığı ve eklenen ekstrakt konsantrasyonlarının yoğunluğu ile daha çok azaldığı ($p<0.01$) gözlenmiştir.

Enginar Ekstraktının Dana Etinden Yapılmış Köftelerde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumuna Etkisi

Enginar ekstraktı içeren ve içermeyen (kontrol) farklı sıcaklıklarda yağsız tavada ve fırında pişirilen köftelerin HAA miktarları Tablo 2'de verilmiştir.

Toplam HAA miktarı, yağsız tavada 150, 200 ve 250°C'de pişirilen kontrol köfte örneklerinde sırasıyla 2.21, 0.89, 0.36 ng/g olarak saptanmıştır. Fırında 150, 200 ve 250°C'de pişirilen kontrol grubu köfte örneklerinde ise sırasıyla toplam 0.7, 1.1, 1.65 ng/g HAA saptanmıştır.

Yağsız tavada 150°C'de pişirilen kontrol grubu

köftelerde sırasıyla 0.85 ng/g AαC, 0.62 ng/g IQx, 0.42 ng/g PhIP, 0.20 ng/g Harman, 0.12 ng/g Trp-P-2 saptanmıştır. Enginar ekstraktı %1 konsantrasyonunda eklendiğinde toplam HAA düzeylerinde %82.81 azalma olduğu gözlenmiştir. Yağsız tavada 200°C'de pişirilen kontrol grubu köftelerdesadece0.89ng/gIQxsaptanmışveenginar ekstraktı (%0.5 ve %1 konsantrasyonlarında) eklenmesi ile IQx düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır. Yağsız tavada 250°C'de pişirilen kontrol grubu köftelerde 0.34 g/g IQx ve 0.02 ng/g MeIQx bulunmuştur. Enginar ekstraktı (%0.5 ve %1 konsantrasyonlarında) eklenmesi ile MeIQx düzeylerinde azalma olduğu gözlenmiştir.

Fırında 150°C'de pişirilen kontrol grubu köftelerde 0.56 ng/g IQx ve 0.14 ng/g MeIQ saptanmıştır. Enginar ekstraktı (%0.5 ve %1 konsantrasyonlarında) eklenmesi ile IQx düzeylerinde artış, MeIQ düzeylerinde ise azalma olduğu gözlenmiştir. Fırında 200°C'de pişirilen kontrol grubu köftelerde sadece IQx (0.20-0.89 ng/g) belirlenmiş ve enginar ekstraktı eklendiğinde bu bileşiğin düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır. Fırında 250°C'de pişirilen kontrol grubu köftelerde ise sadece IQx ve MeIQ saptanmış ve enginar ekstraktı eklendiğinde bu HAA'ların düzeylerinde azalma olduğu gözlenmiştir.

Her iki pişirme yönteminde de kontrol grubu örneklerin hiçbirinde IQ, 4.8-DiMeIQx, Norharman, MeAαC saptanamamıştır.

TARTIŞMA

Köfte Örneklerinin Proksimet İçerikleri, pH Değerleri ve Pişirme Kayıpları

Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin nem yüzdesi 45.71 ± 1.59 , toplam protein yüzdesi 15.10 ± 0.01 , lipit yüzdesi 20.09 ± 0.6 , kül yüzdesi 1.01 ± 0.07 , pH değerleri 5.41 ± 0.02 olarak bulunmuştur. Pişirme işleminin çiğ et örneklerinin nem içeriklerinde azalmaya neden olduğu, pişirme sıcaklıklarındaki artışın bu kaybı daha da artırdığı gösterilmiştir. Pişmiş etlerde protein ve kül içeriklerindeki artış nem içeriklerindeki azalmaya bağlı olarak daha konsantre olmaları ve çiğ etlere göre protein ve kül miktarlarının artışı

ile açıklanmaktadır (26). Bu çalışmada, pişirme işlemi ile etlerin pH değerlerinde artış olduğu ve pişirme yöntemleri ve pişirme sıcaklıklarının pH değerleri üzerine anlamlı etkisinin olduğu gösterilmiştir. Pişirme işlemi ile imidazol, sülfidril ve hidroksil gruplarını içeren bağların kopmasının pH değerlerindeki artışa katkıda bulunduğu düşünülmektedir (27). Ayrıca ekstrakt eklenmesinin etlerin proksimet bileşimi ve pH değerleri üzerine anlamlı etkisinin olmadığı bu çalışmada gösterilmiştir ($p>0.05$). Farklı çeşit ekstraktların benzer etkileri çalışmalarda bildirilmiştir (27,28).

Etlerin pişirilmesi, lezzet ve besin güvenliğinin sağlanması açısından çok önemlidir. Pişirme kaybı, pişirme sırasında etlerde oluşan fiziksel değişikliklerin belirlenmesinde en önemli parametredir ve genellikle proteinlerin su ve lipitleri bağlama yeteneği ile ilgilidir (29). Bu çalışmada, dana etinden yapılan köftelerde pişirme kayıpları %10-36 olarak bulunmuştur. Ayrıca ekstrakt eklenmesinin pişirme ile ağırlık kaybı üzerine anlamlı etkisi bulunamamıştır. Etlere eklenen çeşitli ekstraktların pişirme kaybı üzerine anlamlı etkisinin olmadığına dair literatürde benzer bulgular mevcuttur (17,30). Rodriguez-Estrada ve arkadaşları (31), etlerin pişirme sırasındaki su kaybına bağlı olarak etlerde ağırlık kaybına neden olduğunu bildirmiştir. Ancak, Sanchez del Pulgar ve arkadaşları (32) pişirme işlemi sırasında kaybolan tek bileşiğin su olmadığını ileri sürmüştür. Gerber ve arkadaşları (33), miyofibriller ve sarkoplazmik proteinler, kolajen, lipitler, tuz, polifosfatlar ve lezzet verici bileşikler gibi çeşitli bileşenlerin de su ile birlikte kaybolduğunu göstermiştir.

Köfte Örneklerinin Öncü Madde Düzeyleri ve TBARS Değerleri

Çiğ dana etinden yapılmış köfte örneklerinin kreatin içerikleri 0.86 mg/g olarak, kreatinin içerikleri 0.07 mg/g olarak bulunmuştur. Çalışmalarda ısıl işlem ile kreatin miktarı artarken kreatinin miktarının azaldığı gösterilmiştir (21,34,35). Bu çalışmada, pişirme ile kreatin düzeylerindeki benzer düşüş ve kreatinin düzeylerindeki benzer artış gösterilmiştir. Kreatin/kreatinin düzeylerindeki bu

değişiklik, kreatin içeriğinin kreatinine dönüşümü ile açıklanmaktadır. Bu çalışmada, HAA oluşumu için öncü bileşiklerden olan indirgen şekerlerin (glukoz, fruktoz) pişirme ile anlamlı bir değişiklik göstermediği gözlenmiştir. Pişirme ile glukoz düzeylerinde azalma olduğunu gösteren çalışmalar da literatürde mevcuttur. Gibis ve Weiss (34) ve Liao ve arkadaşları (36) yaptıkları çalışmada, çiğ etlerde glukoz düzeylerinin kızartma ile azaldığını göstermiştir. Glukoz düzeylerindeki bu azalma, glukozun HAA oluşumu için öncü olduğunu kanıtlamaktadır. Bu çalışmada, ekstrakt eklenmesinin öncü bileşiklerin düzeyleri (kreatin, kreatinin, glukoz, fruktoz) üzerine bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalarda araştırmacılar tarafından benzer sonuçlar elde edilmiştir (16). Diğer yandan, Ahn ve Grün (35)'ün yaptıkları çalışmada, ekstrakt eklenmesinin glukoz ve kreatin düzeylerinde azalma sağladığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada, pişirme ile artan oksidasyona bağlı olarak TBARS değerlerinde artış olduğu gözlenmiş ve çiğ et örneklerinde TBARS değeri 0.45 ± 0.01 mg/kg olarak bulunurken pişmiş örneklerde 0.52-2.98 mg/kg arasında bulunmuştur. Bizim sonuçlarımıza benzer olarak, TBARS değerlerinin pişirme işlemi ile arttığı ve pişirme yöntemlerine göre TBARS değerlerinin farklılık gösterdiği çalışmalarda bildirilmiştir (37-39). Ayrıca bu çalışmada, kontrol grubuna göre enginar ekstraktı eklenen gruplarda TBARS değerlerinin azaldığı gösterilmiştir. Lipit oksidasyonunun azaltılmasında et ve et ürünlerine antioksidan bileşiklerin eklenmesi etkili bir yöntemdir. Pişirme öncesi eklenen farklı çeşit antioksidan içerikli ekstraktlar ile yapılan ve aynı etkiyi gösteren çalışmalar mevcuttur (40-42).

Köfte Örneklerinin Heterosiklik Aromatik Amin İçerikleri

Norharman ve MeAαC hiçbir köfte örneğinde saptanmazken, köftelerde 1.20 ng/g ile IQx en fazla bulunan HAA olarak belirlenmiştir. Toplam HAA miktarı, 0.2-2.48 ng/g arasında saptanmıştır. Toplam HAA miktarının fırında pişirme yönteminde yüksek pişirme sıcaklıklarında daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmayı destekler

nitelikte, daha yüksek bir pişirme sıcaklıklarında HAA oluşumunun daha fazla olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (7,43,44). Yine bu çalışmaya benzer olarak, MeAaC bileşiğinin saptanamadığı birçok çalışma literatürde mevcuttur (45,46). Bu çalışmada, enginar ekstraktı HAA oluşumunu azaltıcı etkisinin yanı sıra bazı HAA türlerinin düzeylerinde arttırıcı etki de göstermiştir. Benzer olarak, Zeng ve arkadaşları (47), köftelerde çili biberi ilavesinin toplam HAA ve PhIP düzeylerini düşürdüğünü, IQx, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, harman ve norharman gibi diğer HAA düzeylerini ise arttırdığını bildirmiştir. Tsen ve arkadaşları (43) tarafından yapılan bir araştırmada, kızartılmış köftelerde farklı konsantrasyonlarda biberiye ekstraktının norharman ve harman düzeyleri üzerine etkisi bulunamazken MeIQx ve PhIP oluşumu baskıladığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, antioksidanların HAA oluşumu üzerine azaltıcı etkisinin yerine HAA oluşumunu arttırıcı etki gösterebileceğini ve bu durumun antioksidanların prooksidatif etki göstermesinden kaynaklanabileceği görüşünü desteklemektedir (48). Enginar ekstraktı, %1.0 konsantrasyonunda eklendiğinde HAA oluşumunu azaltmada daha etkili olduğu ve toplam HAA düzeylerinde en fazla azalmanın (%83) 150°C'de tavada pişirilen dana etinde olduğu saptanmıştır. Bu sonuç, antioksidanların HAA oluşumu üzerindeki baskılayıcı etkilerinin konsantrasyona bağlı olduğunu gösteren diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Sabally ve arkadaşları (49), kızartma öncesi köftelere %0.15 ve %0.3 konsantrasyonlarında eklenen elma çekirdeği polifenol ekstraktının PhIP, MeIQx, 4,8-DiMeIQx ve toplam HAA düzeyleri üzerine %0.1 konsantrasyonuna göre daha fazla etki gösterdiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada, enginar ekstraktının toplam HAA düzeyleri üzerine azaltıcı etkisi %2-83 olarak saptanmıştır. Bu bileşiklere olan maruziyeti azaltabilmek için besinlerdeki HAA düzeylerini en aza indirmek önemlidir. Et hazırlama yöntemleri, HAA oluşumunda önemli bir role sahip olabilir. Enginar ekstraktı polifenolik bileşiklerden zengindir ve pişirme öncesi enginar ekstraktı eklenmesi HAA oluşumunun azaltılmasında etkili bir yol olabilir.

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

Teşekkür/Acknowledgement: Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TUBİTAK) tarafından desteklenmiştir (Proje No: 214S646).

KAYNAKLAR

1. Sugimura T. Food and cancer. *Toxicol* 2002;181:17-21.
2. 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 Sci Technol* 2010;43(9):1345-1350.
3. Skog K. Problems associated with the determination of heterocyclic amines in cooked foods and human exposure. *Food Chem Toxicol* 2002;40(8):1197-1203.
4. Kizil M, Oz F, Besler HT. A review on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic aromatic amines. *J Food Process Technol* 2011;2(120):2.
5. Kikugawa K. Involvement of free radicals in the formation of heterocyclic amines and prevention by antioxidants. *Cancer Lett* 1999;143(2):123-126.
6. Milić BiL, Djilas SM, Canadanović-Brunet JM. Synthesis of some heterocyclic aminoimidazoazarenes. *Food Chem* 1993;46(3):273-276.
7. Balogh Z, Gray J, Gomaa E, Booren A. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food Chem Toxicol* 2000;38(5):395-401.
8. 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(12):4891-4897.
9. Oguri A, Suda M, Totsuka Y, Sugimura T, Wakabayashi K. Inhibitory effects of antioxidants on formation of heterocyclic amines. *Mutat Res* 1998;402(1):237-245.
10. Weisburger JH, Nagao M, Wakabayashi K, Oguri A. Prevention of heterocyclic amine formation by tea and tea polyphenols. *Cancer Lett* 1994;83(1-2):143-147.
11. Xu M, Bailey A, Hernaez J, Taoka C, Schut H, Dashwood R. Protection by green tea, black tea, and indole-3-carbinol against 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline-induced DNA adducts and colonic aberrant crypts in the F344 rat. *Carcinogenesis* 1996;17(7):1429-1434.
12. Shin H-S, 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.
13. Shin H-S, 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(23):6726-6730.
14. Friedman M. Food browning and its prevention: an overview. *J Agric Food Chem* 1996;44(3):631-653.
15. Trompeta V, O'Brien J. Inhibition of mutagen formation by organosulfur compounds. *J Agric Food Chem* 1998;46(10):4318-4323.
16. Haskaraca G, Demirok E, Kolsarıcı N, Öz F, Öz Saraç N. Effect of green tea extract and microwave pre-cooking on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried chicken meat products. *Food Res Int* 2014;63:373-381.

17. 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 Sci* 2014;96(4):1446-1451.
18. Pereira C, Calhella RC, Barros L, Ferreira IC. Antioxidant properties, anti-hepatocellular carcinoma activity and hepatotoxicity of artichoke, milk thistle and borututu. *Ind Crops Prod* 2013;49:61-65.
19. Garbetta A, Capotorto I, Cardinali A, D'Antuono I, Linsalata V, Pizzi F, et al. Antioxidant activity induced by main polyphenols present in edible artichoke heads: influence of in vitro gastro-intestinal digestion. *J Funct Foods* 2014;10:456-464.
20. Wider B, Pittler MH, Thompson-Coon J, Ernst E. Artichoke leaf extract for treating hypercholesterolaemia. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;3.
21. 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 Sci Technol* 2009;42(2):504-513.
22. Serpen A, Gökmen V. Evaluation of the Maillard reaction in potato crisps by acrylamide, antioxidant capacity and color. *J Food Compos Anal* 2009;22(6):589-595.
23. Gaebler D, Jones S, Mandigo R. Adaptation of microplate reader for measuring oxidative rancidity in meat products. *Meat Sci* 2002;62(2):193-198.
24. Kerth C, Rowe C. Improved sensitivity for determining thiobarbituric acid reactive substances in ground beef. *Meat Sci* 2016;117:85-88.
25. Messner C, Murkovic M. Evaluation of a new model system for studying the formation of heterocyclic amines. *J Chromatogr B* 2004;802(1):19-26.
26. Jones M, Hoffman LC, Muller M. Effect of rooibos extract (*Aspalathus linearis*) on lipid oxidation over time and the sensory analysis of blesbok (*Damaliscus pygargus phillipsi*) and springbok (*Antidorcas marsupialis*) droëwors. *Meat Sci* 2015;103:54-60.
27. Oz F, Celik T. Proximate composition, color and nutritional profile of raw and cooked goose meat with different methods. *J Food Process Preserv* 2015;39(6):2442-2454.
28. Modi V, Yashoda K, Naveen S. Effect of carrageenan and oat flour on quality characteristics of meat kofta. *Int J Food Prop* 2009;12(1):228-242.
29. Sayas-Barberá E, Quesada J, Sánchez-Zapata E, Viuda-Martos M, Fernández-López F, Pérez-Alvarez J, et al. Effect of the molecular weight and concentration of chitosan in pork model burgers. *Meat Sci* 2011;88(4):740-749.
30. 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 Chem* 2012;134(2):766-774.
31. Rodriguez-Estrada M, Penazzi G, Caboni M, Bertacco G, Lercker G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburgers. *Meat Sci* 1997;45(3):365-375.
32. 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 Sci* 2012;90(3):828-835.
33. Gerber N, Scheeder M, Wenk C. The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Sci* 2009;81(1):148-154.
34. Gibis M, Weiss J. Inhibitory effect of marinades with hibiscus extract on formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of fried beef patties. *Meat Sci* 2010;85(4):735-742.
35. Ahn J, Grün IU. Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. *J Food Sci* 2005;70(4):C263-C268.
36. Liao G, Xu X, Zhou G. Effects of cooked temperatures and addition of antioxidants on formation of heterocyclic aromatic amines in pork floss. *J Food Process Preserv* 2009;33(2):159-175.
37. Rao VK, Kowale B, Babu N, Bisht G. Effect of cooking and storage on lipid oxidation and development of cholesterol oxidation products in water buffalo meat. *Meat Sci* 1996;43(2):179-185.
38. Hernández P, Navarro J, Toldrá F. Lipids of pork meat as affected by various cooking techniques. *Food Sci Tech Int* 1999;5(6):501-508.
39. 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 Chem* 2014;149:129-136.
40. Jongberg S, Skov SH, Tørngren MA, Skibsted LH, Lund MN. Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in chill stored beef patties. *Food Chem* 2011;128(2):276-283.
41. 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 Chem* 2009;116(3):748-754.
42. Selani M, Contreras-Castillo C, Shirahigue L, Gallo C, Plata-Oviedo M, Montes-Villanueva N. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. *Meat Sci* 2011;88(3):397-403.
43. Tsen SY, Ameri F, Smith J. Effects of rosemary extracts on the reduction of heterocyclic amines in beef patties. *J Food Sci* 2006;71(8):C469-C473.
44. 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.
45. Pais P, Salmon CP, Knize MG, Felton JS. Formation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in dry-heated model systems, meats, and meat drippings. *J Agric Food Chem* 1999;47(3):1098-1108.
46. Fay LB, Ali S, Gross GA. Determination of heterocyclic aromatic amines in food products: automation of the sample preparation method prior to HPLC and HPLC-MS quantification. *Mut Res* 1997;376(1):29-35.
47. 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 Chem* 2017;221:404-411.
48. Johansson M, Jägerstad M. Influence of pro- and antioxidants on the formation of mutagenic-carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Food Chem* 1996;56(1):69-75.
49. 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 Sci* 2016;117:57-62.