

## **Kesan madu kelulut ke atas pembentukan amina heterosiklik toksigenik dalam sate daging lembu** (Influence of stingless bee honey on the formation of toxigenic heterocyclic amines in grilled beef satay)

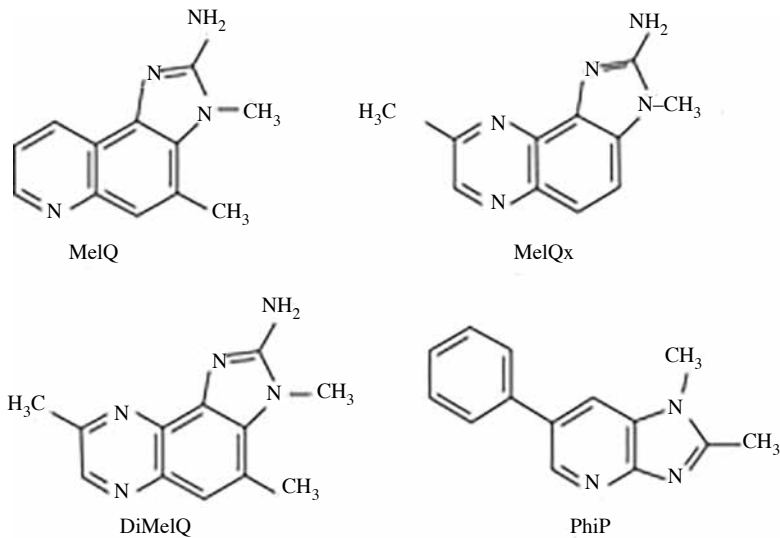
Sharina Shamsudin, Jinap Selamat, Maimunah Sanny, Nuzul Noorahya Jambari, Rashidah Sukor, Sarva Mangala Praveena dan Alfi khatib

### **Pengenalan**

Amina heterosiklik (HCAs) adalah sebatian kimia yang terbentuk dalam makanan berasaskan protein (daging, ikan dan ayam/itik) yang dimasak pada suhu tinggi melebihi 150 °C pada kadar ng/g. Pengambilan HCAs yang tinggi boleh meningkatkan risiko kanser pada manusia. Pada masa kini, terdapat 25 jenis HCAs telah dikenal pasti dan dikelaskan kepada dua kumpulan berdasarkan proses pembentukannya iaitu aminoimidazo-azaarena (AIAs) dan amino karbolina. AIAs terbentuk pada suhu kurang daripada 250 °C dan amino karbolina pada suhu melebihi 250 °C secara pirolisis protein atau asid amino. Tindak balas *Maillard* dilaporkan bertanggungjawab dalam pembentukan AIAs melalui tindak balas kimia kompleks antara amino asid, gula penurunan (fruktosa dan glukosa) dan kreatin/kreatinin dalam daging. Secara umumnya, memanggang dan menggoreng akan menghasilkan kepekatan HCAs yang tinggi.

Pembentukan HCAs dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis daging, kualiti daging, suhu memasak, tempoh masa memasak, bahan yang digunakan untuk memasak, pH daging, kandungan lemak, kandungan antioksidan dan kepekatan prekursor (komponen kimia yang bertanggungjawab dalam pembentukan HCAs). Walau bagaimanapun, jenis dan kepekatan HCAs sangat dipengaruhi oleh kaedah memasak dan jenis daging yang digunakan. Secara umumnya, aras HCAs dalam produk daging berbeza-beza daripada 0 – 500 ng/g, di mana 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), 2-Amino-3,4,8-trimethyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoxaline (4,8-DiMeIQx), 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ), norharman dan harman ialah HCAs yang biasa ditemui dalam daging yang dimasak. Manakala PhIP dan MeIQx merupakan HCAs yang paling banyak ditemui. 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (AαC) kebiasaannya dikesan dalam daging yang dimasak pada suhu tinggi seperti memanggang. Struktur kimia beberapa HCAs ditunjukkan seperti dalam *Rajah 1*.

Agensi Antarabangsa untuk Penyelidikan Kanser (IARC) telah mengkelaskan MeIQ, MeIQx, PhIP, AαC, MeAαC, Glu-P-1, Glu-p-2, Trp-p-1 dan Trp-p-2 sebagai kelas 2A kemungkinan karsinogenik atau (*possible carcinogen*) dan IQ sebagai kelas 2B kemungkinan karsinogenik atau (*probable carcinogen*) berdasarkan



Rajah 1. Struktur kimia beberapa amina heterosiklik (HCAs) yang ditemui dalam makanan berasaskan daging yang dimasak

kesan ketoksikannya kepada manusia. HCAs boleh membentuk sebatian dengan DNA dan seterusnya menyebabkan mutasi dan kanser. Di samping itu, banyak kajian telah menunjukkan pengambilan daging yang dimasak (*well done meat*) menyebabkan pendedahan yang tinggi kepada HCAs dan mungkin meningkatkan risiko kanser seperti kolorektal, payudara, prostat dan pankreatik pada manusia. Oleh yang demikian, pengambilan HCAs mesti dikurangkan seperti yang dicadangkan oleh IARC. Walau bagaimanapun, sehingga hari ini, tiada had yang ditetapkan bagi kandungan HCAs yang dibenarkan dalam makanan.

Pembentukan HCAs dalam daging yang dimasak tidak boleh dihalang sepenuhnya, tetapi boleh dikurangkan dengan menggunakan beberapa kaedah seperti merendahkan suhu memasak, mengurangkan tempoh masa memasak, meletakkan bahan yang mengandungi antioksidan dan kaedah prarawatan menggunakan ketuhar gelombang mikro sebelum memasak daging. Walau bagaimanapun, kaedah menggunakan bahan mengandungi antioksidan telah dilaporkan sebagai kaedah yang berkesan untuk mengurangkan pembentukan HCAs. Penyelidikan sebelum ini, telah mengkaji kesan bahan mengandungi antioksidan seperti rempah-ratus, madu, ekstrak buah, ekstrak rosmeri, minyak zaitun dan antioksidan sintetik ke atas pembentukan HCAs dalam daging. Sebanyak 3.33 – 90% jumlah HCAs berjaya diturunkan bergantung kepada jenis dan kepekatan bahan antioksidan yang digunakan.

Sate adalah makanan yang dibuat daripada ketulan daging yang dipotong kecil, diperap dengan campuran bahan perapan, dicucuk menggunakan lidi/buluh dan dipanggang menggunakan arang. Ia merupakan hidangan yang popular di Malaysia terutamanya pada musim perayaan. Pada masa kini, sate boleh

dinikmati sepanjang masa. Kajian terhadap 42 jenis makanan panggang di Malaysia mendapati sate kambing / daging / ayam mengandungi kandungan HCAs sebanyak 15.7 – 38.7 ng/g. Manakala kadar pengambilan HCAs rakyat Malaysia ialah 553.7 ng/kapita sehari. Kadar pengambilan ini mungkin boleh meningkatkan risiko kanser dalam kalangan rakyat Malaysia. Oleh yang demikian, sangat penting untuk mencari kaedah yang berkesan menurunkan pembentukan HCAs dalam sate.

Kajian terdahulu melaporkan bahawa penggunaan madu lebah sebagai salah satu bahan perapan dapat merencat pembentukan HCAs dalam daging yang dimasak sehingga 55%. Kajian tersebut turut melaporkan sebatian antioksidan dalam madu mungkin memainkan peranan yang penting dalam penurunan kandungan HCAs. Dalam kajian yang lain, sebatian antioksidan dilaporkan boleh bertindak sebagai perencat dengan memerangkap radikal bebas yang terbentuk semasa proses pembentukan HCAs dan seterusnya menghalang pembentukan HCAs. Madu adalah sebatian kompleks yang mengandungi pelbagai komponen yang mempunyai aktiviti antioksidan seperti asid fenolik, flavonoid, asid organik dan lain-lain. Madu kelulut (*Meliponini*) dilaporkan mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi berbanding dengan madu lebah (*Apis mellifera*). Oleh itu, dalam kajian ini madu kelulut digunakan sebagai salah satu bahan perapan dalam sate daging lembu dan kesan/efek bahan perapan mengandungi madu ke atas pembentukan HCAs dinilai.

### **Analisis pH, kandungan fenolik dan aktiviti antioksidan dalam madu**

#### ***Penentuan pH madu***

pH madu ditentukan mengikut prosedur berdasarkan Kaedah Rasmi AOAC 962.19 (2012). Sebanyak 10 g madu dilarutkan dalam 75 mL air suling dan dikacau menggunakan pengaduk magnet. Bacaan daripada pH meter direkodkan.

#### ***Kandungan fenolik***

Jumlah kandungan fenolik dianggarkan menggunakan kaedah Folin-Ciocalteu. Sebanyak 200  $\mu$ L larutan madu (1 mg/mL air) dicampurkan dengan 1,000  $\mu$ L reagen Folin-Ciocalteu (FC) (nisbah pencairan reagen FC; 1:10 v/v) dan campuran dibiarkan dalam gelap selama enam minit. Seterusnya, larutan 800  $\mu$ L (7.5% natrium karbonat) ditambah dan dibiarkan dalam gelap selama dua jam sebelum pengukuran penyerapan pada panjang gelombang 740 nm. Kandungan fenolik setiap sampel madu dinyatakan sebagai setara asid galik (GAE/100 g madu).

#### ***Aktiviti antioksidan***

Aktiviti antioksidan (IC<sub>50</sub>) dianggarkan menggunakan ujian DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate). Secara ringkas, satu siri larutan madu pada kepekatan yang berbeza disediakan dengan melarutkan 100 mg madu dalam pelarut metanol. Selanjutnya,

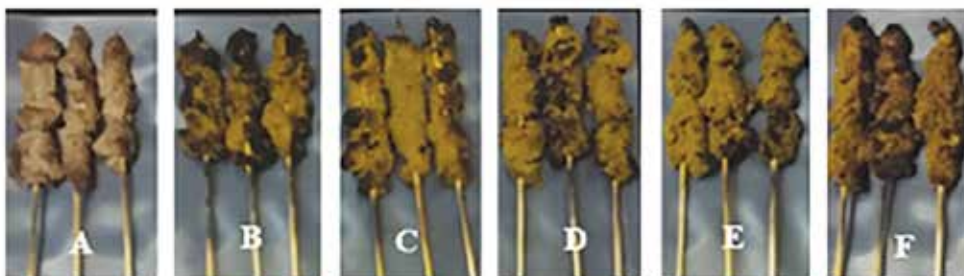
0.75 mL larutan madu dicampurkan dengan 1.5 mL (0.02 mg/mL) larutan metanol DPPH. Campuran disimpan dalam keadaan gelap selama 15 minit pada suhu bilik dan penyerapan setiap larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktiviti pemerangkapan radikal bebas (%) dikira menggunakan formula: Aktiviti antiradikal =  $[(ADPPH - As) / ADPPH] \times 100\%$ , di mana s ialah penyerapan larutan sampel dan ADPPH adalah penyerapan larutan DPPH. Aktiviti pemerangkapan radikal bebas dinyatakan sebagai IC<sub>50</sub> (kepekatan madu yang diperlukan untuk mengurangkan kepekatan DPPH sebanyak 50% daripada kepekatan awalnya).

### **Penyediaan sate daging lembu**

Daging lembu batang pinang tempatan beku (5 kg) dicairkan selama 24 jam di dalam peti sejuk pada suhu 4 °C. Lemak dibuang dan daging dipotong menjadi kiub kecil (kira-kira 0.5 cm tebal x 2 cm lebar) sebelum dicuci di bawah air yang mengalir dan ditapis untuk mengeluarkan air yang berlebihan. Ramuan bahan perapan yang digunakan terdiri daripada bawang merah (15%), serai segar (10%), lengkuas segar (10%), serbuk kunyit (5%), serbuk ketumbar (5%), serbuk jintan manis (5%) 10 g), gula pasir (10%), garam (1%) dan minyak sawit masak (1%). Madu digunakan bagi menggantikan penggunaan gula pasir dalam resipi perapan. Madu kelulut dari sumber gelam, akasia dan belimbing serta madu lebah ditambah secara berasingan ke dalam campuran perapan berdasarkan jumlah kandungan gula relatif. Semua herba (serai segar, lengkuas segar dan bawang merah) diadun dalam pemproses makanan selama lima minit sebelum dicampur dengan bahan-bahan lain (serbuk jintan manis, serbuk ketumbar, serbuk kunyit, gula atau madu, garam dan minyak masak). Daging (100 g) dimasukkan ke dalam beg plastik polietilena, dicampur dengan bahan perapan dengan tangan dan diperap selama 24 jam di dalam peti sejuk pada suhu 4 °C. Setelah diperap, daging dicucuk dengan lidi buluh dan dipanggang menggunakan pemanggang gas. Proses diulang sebanyak tiga kali. Untuk kawalan, sampel daging tanpa perapan digunakan.

### **Kaedah memanggang sate**

Sebelum daging dipanggang, besi pemanggang dipanaskan dan suhu diukur dengan menggunakan termometer prob yang dilekatkan pada besi pemanggang. Apabila suhu permukaan mencapai  $265 \pm 5$  °C, tiga cucuk daging dimasak selama 3.5 minit pada setiap sisi. Suhu dalaman setiap sampel sate daging lembu diukur selepas proses memanggang menggunakan termometer. Sampel daging yang tidak diperap juga dipanggang bawah keadaan pemanasan yang sama. Proses memanggang dilakukan sehingga semua sampel habis dan direplikasi tiga kali. Tiada garam atau minyak digunakan semasa atau selepas proses memanggang. *Gambar 1* menunjukkan gambar sate daging lembu untuk sampel kawalan dan sampel yang diperap.



Gambar 1. Sate daging lembu yang diperap dengan A = Tanpa perapan (kawalan); B = madu belimbing; C = madu gelam; D = madu akasia; E = madu lebah; F = gula pasir

### Pengambilan bahan perapan

Penambahan berat sampel daging selepas proses pemerapan diukur dengan menolak berat sampel sebelum dan selepas proses pemerapan.

### Kehilangan berat sate semasa memasak

Kehilangan berat sate semasa memasak setiap sampel dikira selepas proses memanggang. Sate daging lembu yang telah masak dibiarkan untuk mencapai suhu bilik selama kira-kira 30 minit dan kehilangan berat semasa memasak ditentukan berdasarkan formula: Kehilangan berat semasa memasak =  $(A - B) / A \times 100\%$ . Di mana A adalah berat daging sebelum dimasak dan B adalah berat daging selepas dimasak.

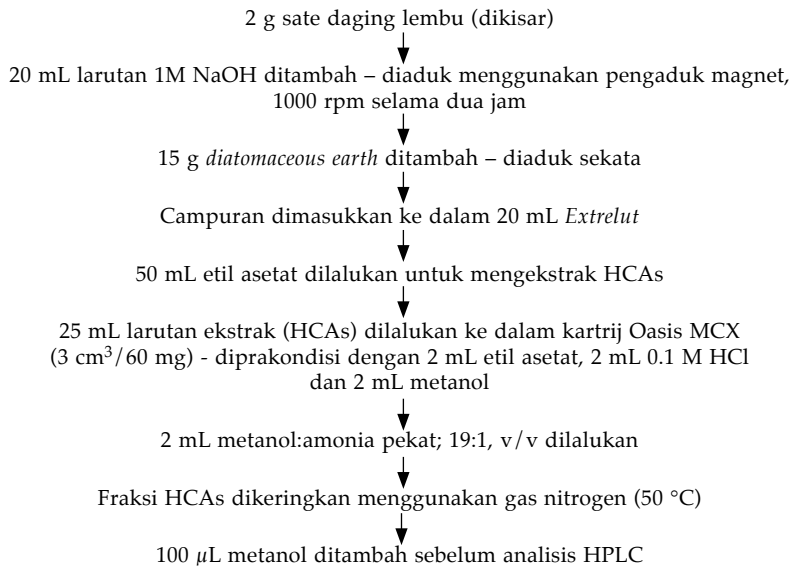
### Analisis kandungan HCAs dalam sate daging lembu

#### Pengekstrakan dan penulenan HCAs

Sampel sate daging lembu yang dikisar (2 g) dicampurkan dengan 20 mL 1 M NaOH dan diaduk selama dua jam menggunakan pengaduk magnet pada 1,000 rpm. Setelah itu, sampel dicampurkan dengan 15 g bahan *diatomaceous earth* sebagai fasa pegun dan diletakkan dalam 20 mL *Extrelut*. Etil asetat (50 mL) digunakan sebagai pelarut pengekstrakan dalam kajian ini. Sampel yang diekstrak (25 mL) disalurkan melalui kartrij Oasis MCX (3 cm<sup>3</sup>/60 mg) yang telah diprakondisi dengan 2 mL etil asetat. Seterusnya dilalukan 2 mL 0.1 M HCl dan diikuti oleh 2 mL metanol. Sebatian HCAs kemudian diekstrak dengan 2 mL metanol dalam amonia pekat (19:1, v/v). Fraksi HCAs dikeringkan di bawah aliran nitrogen pada 50 °C. Ekstrak HCAs dicampurkan dalam 100 µL metanol dan digunakan untuk analisis seterusnya. Proses pengekstrakan dan penulenan HCAs diringkaskan dalam Carta alir 1.

#### Analisis Kromatografi Cecair Prestasi Tinggi

Kandungan HCAs ditentukan menggunakan Kromatografi Cecair Prestasi Tinggi (HPLC) yang dilengkapi dengan pengesan *photodiode array* (PDA) dan *fluorescence*. Pengesan PDA digunakan untuk mengesan MeIQ<sub>x</sub>, 4,8-DiMeIQ<sub>x</sub>, TriMeIQ<sub>x</sub> (piawai



Carta alir 1. Proses pengekstrakan dan penulenan HCAs

dalaman), Norharman, dan Harman pada panjang gelombang 256 nm. Sebaliknya, pengesanan *fluorescence* digunakan untuk mengesan PhIP dan A $\alpha$ C pada panjang gelombang pengujaan/pelepasan 307/370 nm. Turus pemisah ODS 80-TM TSK-gel fasa berbalik (saiz zarah 0.5  $\mu$ m, 4.6 mm x 250 mm) digunakan untuk mengasingkan sebatian HCAs. Kira-kira 20  $\mu$ L sampel disuntik ke dalam sistem HPLC dan pemisahan menggunakan fasa gerak asetonitril (A), 0.01M trimetilamina, pH 3.2 (B) dan trimetilamina 0.01M, pH 3.6 (C) pada kadar aliran 1.0 mL/min dengan elusi gradian seperti dalam *Jadual 1*. Jumlah masa analisis ialah 55 minit. Pengenalpastian HCAs telah dilakukan dengan membandingkan masa puncak dalam kromatogram sampel dengan piawai rujukan. Pengiraan kepekatan HCAs dikira menggunakan lengkung kalibrasi piawai.

#### Nilai pH, kandungan fenolik dan aktiviti antioksidan madu

Kandungan pH, jumlah kandungan fenolik dan aktiviti antioksidan (IC<sub>50</sub>) daripada empat jenis madu diringkaskan seperti dalam *Jadual 2*. pH sampel madu yang digunakan ialah 3.0 – 3.56, di mana madu belimbing mempunyai pH terendah (3.00) manakala madu lebah mempunyai pH tertinggi (3.56). Aktiviti pemerangkapan radikal bebas dalam madu ditentukan menggunakan ujian DPPH untuk mengukur keupayaan madu menangkap radikal bebas dan hasilnya dinyatakan sebagai IC<sub>50</sub>. Madu dengan nilai IC<sub>50</sub> terendah mengandungi aktiviti antioksidan tertinggi. Semua sampel madu kelulut menunjukkan perbezaan yang signifikan dalam nilai IC<sub>50</sub>, dengan madu gelam dan madu lebah mempunyai nilai IC<sub>50</sub> terendah dan tertinggi.

Jadual 1. Elusi gradian sistem HPLC untuk pemisahan HCAs

Tempoh (minit)	Aliran pelarut (mL/min)	Pelarut A (Asetonitril, %)	Pelarut B (0.01 M trimetilamina, pH 3.2, %)	Pelarut C (trimetilamina 0.01 M, pH 3.6, %)
0 – 10	1	5	95	0
10.1 – 20	1	15	0	85
20.1 – 30	1	25	0	75
30.1 – 33	1	55	0	45
33.1 – 34	1	5	95	0
55	1	5	95	0

Jadual 2. pH, kandungan fenolik dan aktiviti antioksidan (IC<sub>50</sub>) madu kelulut daripada sumber bunga berbeza (akasia, belimbing dan gelam) dan madu lebah (akasia)

Parameter	Unit	Jenis madu			
		Akasia	Belimbing	Gelam	Madu lebah
pH	–	3.27 ± 0.03 <sup>b</sup>	3.00 ± 0.03 <sup>d</sup>	3.18 ± 0.03 <sup>c</sup>	3.56 ± 0.02 <sup>a</sup>
Kandungan fenolik	mg GAE/100 g madu	61.47 ± 3.34 <sup>c</sup>	84.10 ± 5.33 <sup>b</sup>	114.49 ± 7.31 <sup>a</sup>	29.05 ± 1.58 <sup>d</sup>
IC <sub>50</sub> (DPPH)	mg/mL	58.35 ± 2.45 <sup>c</sup>	90.63 ± 5.50 <sup>b</sup>	14.29 ± 0.53 <sup>d</sup>	202.15 ± 1.96 <sup>a</sup>

Nilai purata dengan abjad yang berbeza dalam baris yang sama menunjukkan perbezaan signifikan ( $p < 0.05$ ) antara madu dari sumber bunga berbeza

### Pengambilan bahan perapan, kehilangan berat sate semasa memasak dan suhu dalaman sate daging lembu

Data pengambilan bahan perapan, kehilangan berat sate semasa memasak dan suhu dalaman sate daging lembu juga direkodkan (Jadual 3) kerana ia mempunyai kaitan dengan pembentukan HCAs. Kajian mendapati sampel diperap dengan madu menunjukkan peratusan kehilangan berat semasa memasak yang rendah berbanding dengan sampel yang diperap dengan gula pasir. Ini mungkin disebabkan oleh pH madu yang rendah, di mana pH mampu mempengaruhi keupayaan daging untuk memegang air (*water holding capacity*) dan menyerap air (*water absorption*). Sampel yang mempunyai peratusan kehilangan berat semasa memasak yang rendah didapati mempunyai kandungan HCAs yang lebih rendah berbanding sampel dengan peratusan kehilangan berat semasa memasak yang tinggi. Dalam kajian ini juga, suhu dalaman (Jadual 3) sampel sate daging lembu direkodkan. Suhu dalaman ialah 72.58 – 84.17 °C, menunjukkan bahawa sampel yang dimasak selamat daripada pencemaran mikrob. Selain itu, suhu dalaman juga mempunyai kaitan dengan pembentukan HCAs.

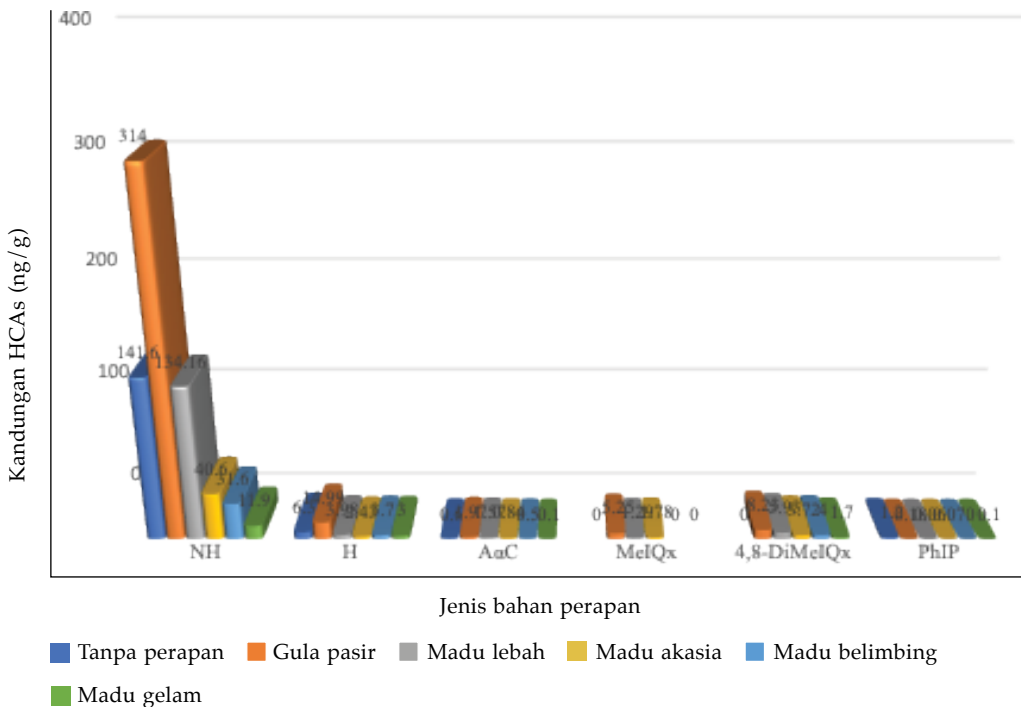
### Kandungan HCAs dalam sate daging lembu

Kepekatan HCAs dan profil konstituennya yang dikenal pasti dalam sate daging lembu ditunjukkan seperti dalam *Rajah 2*. Secara keseluruhan, kandungan setiap HCAs sangat berbeza

Jadual 3. Pengambilan perapan (%), kehilangan berat semasa memasak (%) dan suhu dalaman sate daging lembu (°C)

Rawatan	Pengambilan perapan (%)	Kehilangan semasa memasak (%)	Suhu dalaman (°C)
Daging tanpa perapan (kawalan)	–	35.38±0.34 <sup>a</sup>	84.17±0.15 <sup>a</sup>
Sampel diperap dengan:			
Gula pasir	26.21±0.18 <sup>c</sup>	34.10±0.25 <sup>b</sup>	82.47±0.47 <sup>b</sup>
Madu lebah	29.78±0.37 <sup>b</sup>	32.69±0.66 <sup>c</sup>	80.83±0.68 <sup>c</sup>
Madu akasia	33.32±0.43 <sup>a</sup>	28.88±0.42 <sup>d</sup>	75.40±0.78 <sup>d</sup>
Madu belimbing	32.28±0.57 <sup>a</sup>	28.10±0.29 <sup>d</sup>	74.03±0.57 <sup>de</sup>
Madu gelam	31.12±0.76 <sup>a</sup>	28.46±0.39 <sup>d</sup>	73.00±0.20 <sup>e</sup>

Nilai purata dengan abjad yang berbeza dalam kolom yang sama menunjukkan perbezaan signifikan ( $p < 0.05$ ) antara sampel sate yang diperap dengan madu berbeza



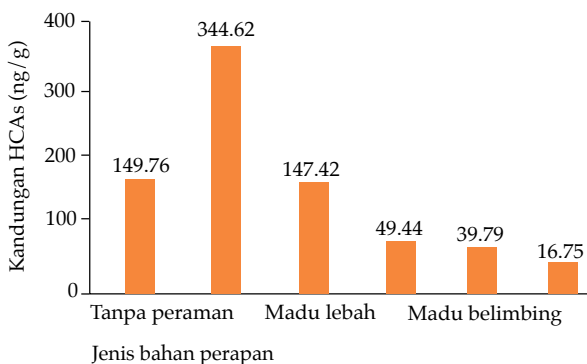
Rajah 2. Kesan perapan ke atas kandungan HCAs dalam sate daging lembu (ng/g)



antara sampel. Sebagai contoh, kepekatan HCAs dalam sate daging lembu adalah daripada tidak dikesan (TD) hingga 344.62 ng/g. Dalam semua sampel, Norharman mempunyai kepekatan tertinggi, daripada 11.93 – 314.00 ng/g, diikuti oleh harman (3.00 – 14.98 ng/g), MeIQx (tidak dapat dikesan hingga 5.25 ng/g), A $\alpha$ C 0.08 – 2.00 ng/g dan PhIP (0.06 – 1.22 ng/g).

Dalam kajian ini, daging yang diperap dengan gula pasir menghasilkan HCAs tertinggi (344.62 ng/g). Terdapat perbezaan yang signifikan dalam penghasilan HCAs antara sampel daging yang diperap dengan gula pasir dan sampel yang diperap dengan madu. Jumlah kandungan HCAs yang terdapat dalam daging yang diperap dengan madu lebah, madu akasia, madu belimbing, dan madu gelam ialah 147.42 ng/g, 49.44 ng/g, 39.79 ng/g dan 16.75 ng/g dan didapati lebih rendah daripada sampel daging yang diperap dengan gula pasir seperti dalam *Rajah 3*. Oleh itu, jelas bahawa pengurangan HCAs mungkin disebabkan oleh penambahan madu dalam ramuan perapan.

Ujian korelasi *Pearson* dilakukan untuk menentukan hubungan antara jumlah HCAs dan aktiviti antioksidan, pengambilan bahan perapan, kehilangan berat sate semasa memasak dan suhu dalaman (*Jadual 4*). Korelasi positif yang signifikan ( $r^2 = 0.972$ ) diperhatikan antara jumlah HCAs dan kehilangan berat sate semasa memasak. Di samping itu, suhu dalaman juga menunjukkan korelasi yang kuat dengan jumlah HCAs ( $r^2 = 0.996$ ) dan kehilangan berat sate semasa memasak ( $r^2 = 0.974$ ). Selain itu, korelasi positif yang



Rajah 3. Jumlah HCAs dalam sate daging lembu (ng/g)

Jadual 4. Kolerasi antara jumlah HCAs, kandungan fenolik, aktiviti antioksidan, pengambilan bahan perapan, kehilangan berat sate semasa memasak dan suhu dalaman sate daging lembu

Parameter	Jumlah HCAs	Pengambilan bahan perapan	Kehilangan berat sate semasa memasak	Suhu dalaman	Kandungan fenolik
Pengambilan perapan	-0.647				
Kehilangan semasa memasak	<b>0.972*</b>	-0.753			
Suhu dalaman	<b>0.996**</b>	-0.609	<b>0.974*</b>		
Kandungan fenolik	-0.926	0.320	-0.844	-0.943	
Aktiviti antioksidan (IC <sub>50</sub> )	<b>0.964*</b>	-0.605	0.888	0.936	-0.903

\*signifikan pada  $p < 0.05$ ; \*\*signifikan pada  $p < 0.01$

signifikan turut diperhatikan antara jumlah HCAs dan aktiviti antioksidan ( $IC_{50}$ ) ( $r^2 = 0.964$ ). Pemerhatian ini menunjukkan bahawa sebatian antioksidan yang terdapat di dalam madu boleh mempengaruhi pembentukan HCAs dalam sate daging lembu. Kajian-kajian lepas melaporkan bahawa sebatian antioksidan boleh memerangkap radikal bebas yang terbentuk semasa tindak balas *Maillard* yang bertanggungjawab dalam pembentukan HCAs.

### **Kesimpulan**

Sebagai kesimpulan, penambahan madu dalam campuran perapan berpotensi mengurangkan pembentukan HCAs dalam sate daging lembu semasa proses memasak. Seperti yang terbukti dalam kajian ini, bahan perapan yang mengandungi madu berkesan dalam mengurangkan kepekatan HCAs sehingga 95.14% berbanding dengan bahan perapan yang mengandungi gula pasir. Korelasi positif dan signifikan antara jumlah HCAs dengan aktiviti antioksidan menunjukkan bahawa kompaun antioksidan dalam madu menyumbang kepada penurunan HCAs. Penemuan menarik ini dapat membantu pengusaha dan pemberi perkhidmatan makanan sebagai kaedah mudah dan praktikal untuk mengurangkan kandungan HCAs dalam sate daging lembu.

### **Penghargaan**

Penyelidikan ini dibiayai oleh Kementerian Pelajaran Malaysia (MOE) bawah geran [UPM/700-2/1/FRGS/MRSA/5524985]. Pengarang juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Universiti Putra Malaysia (UPM) dan Fakulti Sains dan Teknologi Makanan, UPM untuk kemudahan yang diberikan.

### **Bibliografi**

- Alaejos M.S. dan Afonso, A.M. (2011). Factors that affect the content of heterocyclic aromatic amines in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 10(2): 52 – 108
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Method of Analysis, 19th ed.; AOAC: Washington DC, 2012
- International Agency for Research on Cancer (1993). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Some naturally occurring substances: Food items and constituents. Heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, Vol. 56, Lyon: International Agency for Research on Cancer
- Shin, H.S. dan Ustunol, Z. (2004). Influence of honey-containing marinades on heterocyclic aromatic amine formation and overall mutagenicity in fried beef steak and chicken breast. *Journal of food science* 69(3): FCT147-FCT153

### **Ringkasan**

Amina heterosiklik (HCAs) adalah sebatian kimia yang terbentuk dalam makanan berasaskan protein yang dimasak pada suhu tinggi dan ia diklasifikasikan oleh Agensi Antarabangsa untuk Penyelidikan Kanser (IARC) sebagai karsinogenik kepada manusia. Sebatian yang mengandungi antioksidan dilaporkan mampu mengurangkan pembentukan HCAs. Madu kelulut (*Meliponini*) dilaporkan mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi berbanding dengan madu biasa (*Apis mellifera*). Oleh itu, kajian penggunaan madu kelulut (akasia, gelam dan belimbing) dan madu biasa

dalam bahan perapan ke atas sate daging lembu telah dijalankan. Keputusan kajian menunjukkan sampel daging yang diperap dengan madu mempunyai kepekatan HCAs yang lebih rendah dan signifikan berbanding dengan sampel yang diperap dengan gula pasir. Madu gelam menunjukkan kadar perencatan HCAs yang paling tinggi dan signifikan daripada sampel-sampel lain dengan peratusan 95.14% diikuti oleh madu belimbing (88.45%), madu akasia (85.65%) dan madu biasa (57.22%). Keputusan kolerasi menunjukkan penurunan HCAs mempunyai hubungan positif dan kuat dengan aktiviti antioksidan (IC<sub>50</sub>) ( $r^2 = 0.964$ ) dalam madu. Sebagai kesimpulan, penggunaan madu dalam bahan perapan sebelum daging dipanggang merupakan kaedah yang berkesan untuk mengurangkan pembentukan HCAs.

### Summary

Heterocyclic amines (HCAs) are chemical compounds formed in protein-based foods that are cooked at high temperatures, and it was classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as probable/possible carcinogenic to humans. Antioxidant compounds have been reported to have ability to reduce the formation of HCAs. Stingless bee honey (*Meliponini*) is reported to have higher antioxidant content than regular honey (*Apis mellifera*). Therefore, this study was conducted on the use of stingless bee honey (acacia, *gelam* and starfruit) and regular honey in grilled beef satay. Samples marinated with honey had lower HCAs concentration and were significantly higher than those marinated with granulated sugar (control). *Gelam* honey showed the highest and significant inhibition rate of HCAs from other samples with a 95.14%, followed by starfruit honey (88.45%), acacia honey (85.65%) and regular honey (57.22%). The results showed that decreases in HCAs were positive and strongly correlated with the antioxidant activity (IC<sub>50</sub>) ( $r^2 = 0.964$ ) in honey samples. In conclusion, the application of honey in pre-grilled meat is an effective way to reduce the formation of HCAs.

### Pengarang

Sharina Shamsudin

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan

Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM

43400 Serdang, Selangor, Malaysia

E-mel: sharina@mardi.gov.my

Prof Dr. Jinap Selamat, Prof Madya Dr. Maimunah Sanny, Dr. Nuzul Noorahya Jambari dan Dr. Rashidah Sukor

Fakulti Sains dan Teknologi Makanan

Universiti Putra Malaysia (UPM)

43400 Serdang, Selangor, Malaysia

Dr. Sarva Mangala Praveena

Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan, Universiti Putra Malaysia (UPM)

43400 Serdang, Selangor, Malaysia

Prof Madya Dr. Alfi Khatib

Kumpulan Penyelidikan Farmakoknosi

Fakulti Farmasi

Universiti Islam Antarabangsa Malaysia

Kuantan 25200, Pahang, Malaysia