

Et ve Et Ürünlerinde Heterosiklik Aromatik Aminlerin Belirlenmesi

Fatih ÖZ

Mükerrem KAYA

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum (fatihoz@atauni.edu.tr)

Geliş Tarihi : 22.09.2006

ÖZET: Yüksek sıcaklıklarda et pişirmenin, mutajenik ve karsinojenik oldukları tespit edilen heterosiklik aromatik aminleri (HAA) oluşturduğu bilinmektedir. Son yıllarda gıdalarda HAA oluşumu, HAA'ların kimyası, mutajenik ve karsinojenik aktiviteleri ile ilgili literatürde pek çok çalışma yer almaktadır. Ayrıca, farklı gıdalarda HAA'ların güvenilir bir şekilde belirlenmesi için analitik metotlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. HAA'ların analizi oldukça zordur, çünkü gıdalarda oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Bu derlemede HAA'ların belirleme metotları verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Et, Et Ürünleri, Heterosiklik Aromatik Aminler

Detection of Heterocyclic Aromatic Amines in Meat and Meat Products

ABSTRACT: The high temperature cooking of meats is known to produce heterocyclic aromatic amines (HAAs) compounds that have been determined to be mutagenic and carcinogenic. In recent years a growing number of studies have been reported in the literature related with the occurrence of heterocyclic aromatic amines (HAAs) in food, their chemistry and their mutagenic and carcinogenic activity. Moreover, efforts have been dedicated to improve analytical methods for the reliable determination of HAAs in a variety of food samples. The analysis of HAAs is very difficult because their concentration levels in food samples are very low. The detection methods of HAAs are presented in this review.

Keywords: Meat, Meat Products, Heterocyclic Aromatic Amines.

GİRİŞ

HAA'lar özellikle balık ve kırmızı et gibi protein bakımından zengin gıdaların, 150°C üzerindeki sıcaklıklarda pişirilmesi esnasında oluşan bileşiklerdir (Chen ve Meng 1999). Yapılan araştırmalar HAA'ların mutajenik ve/veya karsinojenik olduğunu belirtmektedir (Öz ve Kaya 2006a). HAA'ların iki ana kimyasal sınıfı vardır. Bunlardan birincisi aminoimidazoazobenzenler (AIA) ve ikincisi ise aminokarbolinlerdir (Çizelge 1) (Skog ve Solyakov 2002). Isıl işlem görmüş gıdalarda en önemli grubu oluşturan AIA'lar, IQ tipi bileşikler veya termik HAA'lar olarak da adlandırılır ve gıdaların, normal ev tipi pişirme sıcaklıklarında (150–300°C) pişirilmesi süresince serbest aminoasitler, kreatin/kreatinin ve heksozlar arasındaki reaksiyonlarla oluşmaktadır. Bu sınıfa ait bileşiklerin sayısı halen artış göstermektedir. Aminokarbolinler ise 300°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda oluşmaktadır (Toribio vd. 2002). IQ tipinde olmayan bileşikler veya pirolitik HAA'lar olarak da adlandırılan aminokarbolinler ise çok yüksek sıcaklıklarda proteinler ve aminoasitlerin pirolizi sonucu oluşmaktadır (Sugimura ve Adamson 2000). HAA'lar kimyasal davranışlarına göre bazen polar (AIA'lar, Glu-P-1 ve Glu-P-2) ve apolar (diğerlerinin tümü) olarak da sınıflandırılmaktadır (Cárdenes vd. 2004; Öz ve Kaya 2006b).

HAA'ların Türlerini ve Oluşumlarını Etkileyen Faktörler

HAA'ların konsantrasyonları; ısıl işlem gören et tipi, pişirme boyunca kullanılan sıcaklık, pişirme süresi, pişirme ekipman ve metodunu içine alan pişirme şartları, pH ve su aktivitesi gibi fiziksel faktörler ile karbonhidratlar, serbest aminoasitler ve kreatin gibi kimyasal faktörlere bağlıdır (Felton vd. 1997; Öz vd. 2007). Ayrıca ısı ve kütle transferi, yağlar, yağ oksidasyonu ve antioksidanların; HAA'ların gıdalardaki konsantrasyonlarına etkili olduğu belirtilmiştir (Jägerstad vd. 1998).

HAA'ların Analizi

Gıdalarda HAA analizinin yapılması gıda örneklerinin kompleks olması, HAA'ların çok düşük seviyelerde (ng/g) bulunması ve analiz için gelişmiş analitik metotlara ihtiyaç duyulmasından dolayı oldukça zordur (Santos vd. 2004). Analiz işlemi sırasında belki de en önemli uygulama, çok düşük seviyelerde bulunan HAA'ların etkili ve tam olarak ekstraksiyonu işlemidir. Günümüze kadar HAA'ların analizi için sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve katı-faz ekstraksiyonunun birleşimini içeren tandem ekstraksiyon prosedürleri (Gross ve Grüter 1992; Turesky vd. 2005), tek kullanımlık kolonlar ile katı-faz ekstraksiyonu (Richling vd. 1997), farklı adsorbentler kullanarak hazır sıvı kromatografisi (Turesky vd. 1988) veya sıvı-sıvı ekstraksiyon (Tikkanen vd. 1996) metoduna dayalı clean-up prosedürleri kullanılmıştır. Ancak bu bileşiklerin

Çizelge 1. Pişirilmiş gıdalarda ve/veya model sistemlerde belirlenmiş heterosiklik aromatik aminlerin kimyasal isimleri, kısaltmaları, moleküler formülleri ve molekül ağırlıkları (Jägerstad vd. 1998)

Kimyasal İsmi ve Sınıfı	Kısaltması	Moleküler Formülü	Molekül Ağırlığı
Aminokarboller			
2-amino-9 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>b</i>]indol	AαC	C ₁₁ H ₉ N ₃	183
2-amino-3-metil-9 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>b</i>]indol	MeAαC	C ₁₂ H ₁₁ N ₃	197
1-metil-9 <i>H</i> -pirido[4,3- <i>b</i>]indol	Harman		182
9 <i>H</i> -pirido[4,3- <i>b</i>]indol	Norharman	C ₁₂ H ₁₁ N ₃	
3-amino-1,4-dimetil-5 <i>H</i> -pirido[4,3- <i>b</i>]indol	Trp-P-1	C ₁₃ H ₁₃ N ₃	211
3-amino-1-metil-5 <i>H</i> -pirido[4,3- <i>b</i>]indol	Trp-P-2	C ₁₂ H ₁₁ N ₃	197
2-amino-6-metildipirido[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i>]imidazol	Glu-P-1	C ₁₁ H ₁₀ N ₄	198
2-aminodipirido[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i>]imidazol	Glu-P-2	C ₁₀ H ₈ N ₄	184
3,4-cyclopentenopirido[3,2- <i>a</i>]karbazol	Lys-P-1	C ₁₈ H ₁₄ N ₂	258
2-amino-5-fenilpiridin	Phe-P-1	C ₁₁ H ₁₀ N ₂	170
4-amino-6-metil-1- <i>H</i> -2,5,10,10 <i>b</i> -tetraazafluoranten	Orn-P-1	C ₁₃ H ₁₁ N ₂	237
4-amino-1,6-dimetil-2-metilamino-1 <i>H</i> ,6 <i>H</i> pirolo[3,4- <i>f</i>]benziimidazol-5,7-dion	Cre-P-1		
Aminoimidazoazoenler			
2-amino-3-metilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinolin	IQ	C ₁₁ H ₁₀ N ₄	198
2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinolin	MeIQ	C ₁₂ H ₁₂ N ₄	212
2-amino-3-metilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinokzalin	IQx	C ₁₀ H ₉ N ₅	199
2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinokzalin	MeIQx	C ₁₁ H ₁₁ N ₅	213
2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinokzalin	4,8-DiMeIQx	C ₁₂ H ₁₃ N ₅	227
2-amino-3,7,8-trimetilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinokzalin	7,8-DiMeIQx	C ₁₂ H ₁₃ N ₅	227
2-amino-3,4,7,8-tetrametilimidazo[4,5- <i>f</i>] kinokzalin	4,7,8-TriMeIQx	C ₁₃ H ₁₅ N ₅	241
2-amino-4-hidroksimetil-3,8-dimetilimidazo [4,5- <i>f</i>]kinokzalin	4-CH ₂ OH-8-MeIQx		
2-amino-1,7,9-trimetilimidazo[4,5- <i>g</i>]kinokzalin	7,9-DiMeIqQx		
2-amino-1,6-dimetil imidazo[4,5- <i>b</i>]piridin	1,6-DMIP	C ₈ H ₁₀ N ₄	162
2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5- <i>b</i>] piridin	PhIP	C ₁₃ H ₁₂ N ₄	224
2-amino-1-metil-6-(4-hidroksifenil)-imidazo[4,5- <i>b</i>]piridin	4'-OH-PhIP		
2-amino-1,5,6 trimetilimidazo[4,5- <i>b</i>]piridin	1,5,6-TMIP	C ₉ H ₁₂ N ₄	176
2-amino-3,5,6 trimetilimidazo[4,5- <i>b</i>]piridin	3,5,6-TMIP		
2-amino-1,6-dimetilfuro[3,2- <i>e</i>]imidazo[4,5- <i>b</i>] piridin	IFP		

analizi için yaygın olarak katı-faz ekstraksiyon teknikleri kullanılmaktadır (Vollenbröker ve Eichner 2000; Janoszka vd. 2001).

Gıdalarda HAA'ların analizi ya metanol (Lee ve Tsai 1991), diklorometan (Edmonds vd. 1986) veya sulu asit veya baz çözeltisi (Gross 1990) ile örnek homojenizasyonu ya da enzimatik parçalama (Manabe vd. 1987) vasıtasıyla protein parçalanmasını içermektedir. HAA'ların ilk ekstraksiyon işlemi diklorometan (Felton vd. 1986a), dietileter (Grose vd. 1986) veya etilasetat (Murray vd. 1993) ile asit-baz solvent ayrımı yoluyla yapılmıştır. Sıvı-katı ekstraksiyonu XAD-2 reçinesi (Felton vd. 1986b), blue cotton veya rayon (Bång vd. 2002) ile gerçekleştirilmiştir. Katı bir kaynaktan sıvı-sıvı ekstraksiyonu Kizelgur (Gross vd. 1992) veya Extrelut diatomaceous earth kolon (Salmon vd. 2000) ile yapılmıştır. İleri purifikasyon işlemi hazır

kromatografiler (Lee ve Tsai 1991), Sephadex LH20 (Gross vd. 1989) veya TSK-Gel CM 650'li (Thiébaud vd. 1995) kolon kromatografisi ya da PRS (propilsülfonic asit silica gel) (Knize vd. 1994), C₁₈ (Gross 1990), silika (Takahashi vd. 1985), MCX (Messner ve Murkovic 2003 a, 2003b; Öz 2006) veya strong cation-exchange (SCX) kartuju (Perfetti 1996) kullanılarak katı-faz ekstraksiyonu ile gerçekleştirilmiştir.

HAA'ların analiz metodları, dedektör limitleri, avantaj ve dezavantajları Çizelge 2'de verilmiştir. Günümüze kadar yapılan ekstraksiyon ve clean-up işlemi genelde Gross ve Grüter (1992)'in geliştirmiş oldukları PRS yöntemidir. Bu yöntemde polar ve apolar HAA'lar ayrı olarak ekstrakte edilmektedir. Yöntem bazı bilim adamları tarafından aynen alınmış, bazıları ise metodu modifiye etmişlerdir (Tran vd. 2002). Son zamanlarda ise Oasis MCX

kartuşları ile yapılan clean-up işleminin avantajlarından bahsedilmektedir. Bu avantajlar ise, polar ve apolar HAA'ların tek fraksiyonda toplanması, clean-up işleminin tek aşamada gerçekleştirilmesi ve böylece zaman ve ekipmandan tasarruf edilmesidir (Messner ve Murkovic 2003a, 2003b). Bu sebeplerden dolayı son zamanlarda bilim adamları tarafından kabul gören, diğer ekstraksiyon metodlarına tercih ve tavsiye edilen metod Oasis MCX metodudur. Ancak bu iki ekstraksiyon metodundan hangisinin daha iyi olduğuna karar vermek için metodların aynı sistemde karşılaştırılması gerekmektedir.

Günümüze kadar HAA'ları belirlemek için HPLC-UV (Öz ve Kaya 2006c, 2006d), HPLC-fluoresans (Galceran vd. 1996a), HPLC-MS (Solbeck vd. 2003), HPLC-ED (Galceran vd. 1996a) veya GC-NPD (gas chromatography with nitrogen-phosphorous selective detection) (Kataoka ve Kijima 1997), GC-MS (Friesen vd. 1993), ince tabaka kromatografisi (Barnes vd. 1983), immunoafinite kromatografisi (Turesky vd. 1989), ELISA immunoassay (Vanderlaan vd. 1988) gibi teknikler

kullanılmıştır. HAA'ların çoğu polardır ve uçucu değildir, bu yüzden analiz için GC kullanılacak ise, çoğunlukla derivatizasyon işlemine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu derivatizasyon aşaması farklı dedektör sistemleri kullanılarak LC ile aşılabilmektedir. Oldukça yüksek bir hassasiyet ve seçiciliğe LC-MS kullanılarak etkin şekilde ulaşılabilmektedir. Bu amaçla LC-electrospray mass spectrometry (LC-ESI-MS) de kullanılmıştır (Galceran vd. 1996b; Pais vd. 1997a). Dedektör hassasiyetini artırmak için, LC-MS/MS (Bianchi vd. 2005) veya ion-trap (Pais vd. 2000) kullanılabilir. Yine LC-APCI-MS (LC-Atmospheric-Pressure Chemical Ionisation Mass Spectrometry) de kullanılmıştır (Pais vd. 1997b). Ayrıca araştırmalarda HPLC-ESI-MS-MS (Electrospray Tandem Mass Spectrometry) de kullanılmıştır (Richling vd. 1996). Son zamanlarda capillar elektroforez (CE) (Sentellas vd. 2004) veya elektrokimyasal (CE-ED) dedektör (Olsson vd. 1997) de yüksek dedektör limitleri istemesine rağmen kullanılmaktadır.

Çizelge 2. Pişirilmiş gıdalardaki HAA'lerin tanımlanması ve belirlenmesi için kullanılan metodlar, avantaj ve dezavantajları (Skog 2002).

Metot	Dedektör	Dedektör Limitleri (ng/g)	Avantajları	Dezavantajları
HPLC ^a	UV-diode array (UV-DAD)	0.02–50	Pik tanımlanması ve homojenlik	
	Fluoresans (F)	0.03–3	Yüksek hassasiyet	Pik doğrulaması yok, sadece daha az polar olan HAA'lar fluoresanlardır
	Elektrokimyasal (ED)	0.05–2	İyi derecede seçicilik ve hassasiyet	Pik doğrulaması yok, izokritik şartlar
	Kütle spektrometresi (MS)	0.01–2	Yüksek hassasiyet ve seçicilik. İyi ayırım verir.	
CE ^b	UV, ED, MS	35–50	Yüksek ayırım etkinliği ve düşük maliyet	Yüksek oranda zenginleştirilmiş örnek hazırlama
GC ^c	MS	0.01–0.2	Kapillar GC iyi ayırım etkinliği verir	Genellikle derivatizasyona ihtiyaç duyulmaktadır
ELISA ^d		1	Basit	Sadece sınırlı sayıda HAA için monoklonal antbodyler elde edilebilmektedir

^a HPLC: High-Performance Liquid Chromatography, ^b CE: Capillar Electrophoresis, ^c GC: Gas Chromatography,

^d ELISA: Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay

Heterosiklik aminlerin aromatik yapıları düşük bir ayırım göstermekte ve bu yüzden geniş tabanlı pikler oluşturmaktadır. GC veya HPLC tekniklerinden birini takiben MS kullanımı ile iyi bir ayırım sağlanabilmektedir (Knize vd. 1992). LC-MS tekniği mutajenik aminlerin iyi identifikasyonu ve en yüksek seçiciliği için tercih edilen metot olabilir, fakat çok pahalı bir yöntemdir. Diğer taraftan GC veya GC-MS daha yaygındır, fakat sadece uçucu bileşikler (az polar derivatifler) için mümkündür, düşük konsantrasyonlarda tanımlanamazlar ve genellikle derivatizasyon işlemine ihtiyaç duyarlar (Knize vd. 1992).

HAA'ların polar yapısı gereği, bu maddelerin analizi için seçilen metod genellikle LC'dir (Bárcelo-Barrachina vd. 2004). Bugün dedektör olarak en çok MS ve MS/MS (Bárcelo-Barrachina vd. 2004) kullanılmaktadır, fakat daha az polar aminler için aynı zamanda fluoresans dedektör de yeterli hassasiyet ve seçiciliği açısından kullanılabilir (Ristic vd. 2004).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Epidemiyolojik çalışmalar kanser ve beslenme arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Ancak gıdalarda HAA içeriğini tespit etmek oldukça zor ve pahalı yöntemler gerektirmektedir. Teknolojinin ilerlemesi ile birlikte yeni analiz ekipmanlarının gelişmesi ve dedektör limitlerinin düşürülmesi sonucu, karsinojen ve mutajen oldukları belirlenen bu bileşiklerin sayısı her geçen gün artış göstermektedir. Bu yüzden pişirilen et ve et ürünlerinin HAA içeriği yönünden analiz edilebilmesi oldukça büyük önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Barnes, W. S., Maher, J.C., Weisburger, J. H., 1983. 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. *J. Agric. Food Chem.*, 31: 883-886.
- Barceló-Barrachina, E., Moyano, E., Puignou, L., Galceran, M. T., 2004. Evaluation of Reversed-phase Columns for the Analysis of Heterocyclic Aromatic Amines by Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. *J. of Chrom. B*, 802: 45-59.
- Bång, J., Nukaya, H., Skog, K., 2002. Blue Chitin Columns for the Extraction of Heterocyclic Amines from Cooked Meat. *J. of Chrom. A*, 977: 97-105.
- Bianchi, F., Careri, M., Corradini, C., Elviri, L., Mangia, A., Zagnoni, I., 2005. Investigation of the Separation of Heterocyclic Aromatic Amines by Reversed Phase Ion-pair Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry: The Role of Ion Pair Reagents on LC-MS/MS Sensitivity. *J. of Chrom. B*, 825 (2): 193-200.
- Cárdenes, L., Ayala, J. H., Afonso, A. M., González, V., 2004. Solid-Phase Microextraction Coupled with High-Performance Liquid Chromatography for the Analysis of Heterocyclic Aromatic Amines. *J. of Chrom. A*, 1030: 87-93.
- Chen, B. H., Meng, C. N., 1999. Formation of Heterocyclic Amines in a Model System during Heating. *J. Food Prot.*, 62 (12): 1445-1450.
- Edmonds, C. G., Sethi, S. K., Yamaizumi, Z., Kasai, H., Nishimura, S., McCloskey, J. A., 1986. Analysis of Mutagens from Cooked Foods by Directly Combined Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Environ. Health Persp.*, 67: 35-40.
- Felton, J. S., Knize, M. G., Shen, N. H., Lewis, P. R., Andresen, B. D., Happe, J., Hatch, P. R., 1986a. The Isolation and Identification of a New Mutagen from Fried Ground Beef: 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis*, 7 (7): 1081-1086.
- Felton, J. S., Knize, M. G., Shen, N. H., Andresen, B. D., Bjeldanes, L. F., Hatch, F. T., 1986b. Identification of the Mutagens in Cooked Beef. *Environ. Health Persp.*, 67: 17-24.
- Felton, J. S., Malfatti, M. A., Knize, M. G., Salmon, C. P., Hopmans, E. C., Wu, R. W., 1997. Health Risks of Heterocyclic Amines. *Mutation Research*, 376: 37-41.
- Friesen, M. D., Garren, L., Béréziat, J.-C., Kadlubar, F., Lin, D., 1993. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of 2-Amino-1-methyl-6-phenyl-imidazo[4,5-b]pyridine in Urine and Feces. *Environ. Health Persp.*, 99: 179-181.
- Galceran, M. T., Pais, P., Puignou, L., 1996a. Isolation by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatographic Determination of Mutagenic Amines in Beef Extracts. *J. of Chrom. A*, 719: 203-212.
- Galceran, M. T., Moyano, E., Puignou, L., Pais, P., 1996b. Determination of Heterocyclic Amines by Pneumatically Assisted Electrospray Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J. of Chrom. A*, 730: 185-194.
- Grose, K. R., Grant, J. L., Bjeldanes, L. F., Andresen, B. D., Healy, S. K., Lewis, P. R., Felton, J. S., Hatch, F. T., 1986. Isolation of the Carcinogen IQ from Fried Egg Patties. *J. Agric. Food Chem.*, 34: 201-202.
- Gross, G. A., Philippoussian, G., Aeschbacher, H. U., 1989. An Efficient and Convenient Method for the Purification of Mutagenic Heterocyclic Amines in Heated Meat Products. *Carcinogenesis*, 10 (7): 1175-1182.
- Gross, G. A., 1990. Simple Methods for Quantifying Mutagenic Heterocyclic Aromatic Amines in Food Products. *Carcinogenesis*, 11 (9): 1597-1603.
- Gross, G. A., Grüter, A., 1992. Quantitation of Mutagenic/Carcinogenic Heterocyclic Aromatic Amines in Food Products. *J. Chrom.*, 592: 271-278.
- Gross, G. A., Grüter, A., Heyland, S., 1992. Optimization of the Sensitivity of High-Performance Liquid Chromatography in the Detection of Heterocyclic Aromatic Amine Mutagens. *Food and Chem. Toxic.*, 30 (6): 491-498.
- Janoszka, B., Blaszczyk, U., Warzecha, L., Strózyk, M., Damasiewicz-Bodzek, A., Bodzek, D., 2001. Clean-up Procedures for the Analysis of Heterocyclic Aromatic Amines (Aminoazaarenes) from Heat-Treated Meat Samples. *J. of Chrom. A*, 938: 155-165.
- Jägerstad, M., Skog, K., Arvidsson, P., Solyakov, A., 1998. Chemistry, Formation and Occurrence of Genotoxic Heterocyclic Amines Identified in Model Systems and Cooked Foods. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 207: 419-427.
- Kataoka, H., Kijima, K., 1997. Analysis of Heterocyclic Amines as their N-dimethylaminomethylene Derivatives by Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Selective Detection. *J. of Chrom. A*, 767: 187-194.
- Knize, M. G., Felton, J. S., Gross, G. A., 1992. Chromatographic Methods for the Analysis of Heterocyclic Amine Food Mutagens/Carcinogens. *J. of Chrom.*, 624: 253-265.
- Lee, H., Tsai, S.-J., 1991. Detection of IQ-Type Mutagens in Canned Roasted Eel. *Food and Chem. Toxic.*, 29 (8): 517-522.

- Manabe, S., Yanagisawa, H., Ishikawa, S., Kitagawa, Y., Kanai, Y., Wada, O., 1987. Accumulation of 2-Amino-6-methyldiprido[1,2-a:3',2'-d]imidazole and 2-Aminodiprido[1,2-a:3',2'-d]imidazole, Carcinogenic Glutamic Acid Pyrolysis Products, in Plasma of Patients with Uremia. *Cancer Research*, 47: 6150–6155.
- Messner, C., Murkovic, M., 2003a. Formation of Heterocyclic Amines in Model Systems. 2nd International Workshop on Analytical, Chemical, and Biological Relevance of Heterocyclic Aromatic Amines from 7.- 9. May 2003 in Graz, University of Technology.
- Messner, C., Murkovic, M., 2003b. Formation of Heterocyclic Amines in Chicken Meat. 2nd International Workshop on Analytical, Chemical, and Biological Relevance of Heterocyclic Aromatic Amines from 7.- 9. May 2003 in Graz, University of Technology.
- Murray, S., Lynch, A. M., Knize, M. G., Gooderham, N. J., 1993. Quantification of the Carcinogens 2-Amino-3,8-dimethyl- and 2-Amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline and 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in Food using A Combined Assay based on Gas Chromatography-Negative Ion Mass Spectrometry. *J. of Chromatography*, 616: 211–219.
- Olsson, J. C., Dyremark, A., Karlberg, B., 1997. Determination of Heterocyclic Aromatic Amines by Micellar Electrokinetic Chromatography with Amperometric Detection. *J. of Chrom. A*, 765: 329–335.
- Öz, F., 2006. Farklı Sıcaklıklarda Pişirilen Taze Et Ürünlerinde Çeşitli Baharatların Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Ens., Doktora Tezi, Erzurum.
- Öz, F., Kaya, M., 2006a. Heterosiklik Aromatik Aminlerin Mutajenliği ve Karsinojenliği. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. (yayına sunuldu).
- Öz, F., Kaya, M., 2006b. Et ve Et Ürünlerinde Heterosiklik Aromatik Amin Oluşumunun Engellenmesi. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. (yayına sunuldu).
- Öz, F., Kaya, M., 2006c. The Effects of Different Spices on Formation of Heterocyclic Amines in Beef Chops Fried at Different Temperatures. Submitted for Publication.
- Öz, F., Kaya, M., 2006d. The Effects of Different Spices and Fat Levels on Formation of Heterocyclic Amines in Kofte Fried at Different Temperatures. Submitted for Publication.
- Öz, F., Kaban, G., Kaya, M., 2007. Effects of Cooking Methods on the Formation of Heterocyclic Aromatic Amines of Two Different Species Trout. *Food Chemistry*, in press.
- Pais, P., Moyano, E., Puignou, L., Galceran, M. T., 1997a. Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry with in-source Fragmentation for the Identification and Quantification of Fourteen Mutagenic Amines in Beef Extracts. *J. of Chrom. A*, 775: 125-136.
- Pais, P., Moyano, E., Puignou, L., Galceran, M. T., 1997b. Liquid Chromatography-Atmospheric-Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry as a Routine Method for the Analysis of Mutagenic Amines in Beef Extracts. *J. of Chrom. A*, 778: 207–218.
- Pais, P., Tanga, M. J., Salmon, C. P., Knize, M. G., 2000. Formation of the Mutagen IFP in Model Systems and Detection in Restaurant Meats. *J. of Agric. and Food Chem.*, 48: 1721-1726.
- Perfetti, G. A., 1996. Determination of Heterocyclic Aromatic Amines in Process Flavors by a Modified Liquid Chromatographic Method. *J. of AOAC International*, 79: 813–816.
- Richling, E., Herderich, M., Schreier, P., 1996. High Performance Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry (HPLC-ESI-MS-MS) for the Analysis of Heterocyclic Aromatic Amines (HAA). *Chromatographia*, 42 (1/2): 7–11.
- Richling, E., Decker, C., Häring, D., Herderich, M., Schreier, P., 1997. Analysis of Heterocyclic Aromatic Amines in Wine by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *J. of Chrom. A*, 791: 71–77.
- Ristic, A., Cichna, M., Sontag, G., 2004. Determination of Less Polar Heterocyclic Aromatic Amines in Standardised Beef Extracts and Cooked Meat Consumed in Austria by Liquid Chromatography and Fluorescence Detection. *J. of Chromatography B*, 802: 87–94.
- Salmon, C. P., Knize, M. G., Panteleakos, F. N., Wu, R. W., Nelson, D. O., Felton, J. S., 2000. Minimization of Heterocyclic Amines and Thermal Inactivation of *Escherichia coli* in Fried Ground Beef. *J. of National Cancer Inst.*, 92 (21): 1773-1778.
- Santos, F. J., Barceló-Barrachina, E., Toribio, F., Puignou, L., Galceran, M. T., Persson, E., Skog, K., Messner, C., Murkovic, M., Nabinger, U., Ristic, A., 2004. Analysis of Heterocyclic Amines in Food Products: Interlaboratory Studies. *J. of Chrom. B*, 802: 69–78.
- Sentellas, S., Moyano, E., Puignou, L., Galceran, M. T., 2004. Optimization of a Clean-up Procedure for the Determination of Heterocyclic Aromatic Amines in Urine by Field-amplified Sample Injection-Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry. *J. of Chrom. A*, 1032: 193–201.
- Skog, K., 2002. Problems Associated with the Determination of Heterocyclic Amines in Cooked Foods and Human Exposure. *Food and Chem. Toxic.*, 40: 1197-1203.
- Skog, K., Solyakov, A., 2002. Heterocyclic Amines in Poultry Products: A Literature Review. *Food and Chem. Toxic.*, 40: 1213-1221.
- Solbeck, P. A. M., Martos, P. A., Wainman, B. C., Josephy, P. D., 2003. Analysis of Human Milk for the Mammaly Carcinogen PHIP. 2nd International Workshop on Analytical, Chemical, and Biological Relevance of Heterocyclic Aromatic Amines from 7.- 9. May 2003 in Graz, University of Technology.
- Sugimura, T., Adamson, R. H., 2000. Introduction. Baffins Lane, Chichester, West Sussex, 373, England.
- Takahashi, M., Wakabayashi, K., Nagao, M., Yamaizumi, Z., Sato, S., Kinae, N., Tomita, I., Sugimura, T., 1985. Identification and Quantification of 2-Amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (4,8-DiMeIQx) in Beef Extract. *Carcinogenesis*, 6 (10): 1537–1539.
- Tikkanen, L. M., Latva-Kala, K. J., Heiniö, R.-L., 1996. Effect of Commercial Marinades on the Mutagenic Activity, Sensory Quality and Amount of Heterocyclic Amines in Chicken Grilled under Different Conditions. *Food and Chem. Toxic.*, 34: 725-730.
- Thiébaud, H. P., Knize, M. G., Kuzmicky, P. A., Hsieh, D. P., Felton, J. S., 1995. Airborne Mutagens Produced by Frying Beef, Pork and Soy-based Food. *Food and Chem. Toxic.*, 33 (10): 821-828.
- Toribio, F., Moyano, E., Puignou, L., Galceran, M. T., 2002. Ion-Trap Tandem Mass Spectrometry for the Determination of Heterocyclic Amines in Food. *J. of Chrom. A*, 948: 267–281.
- Tran, N. L., Salmon, C. P., Knize, M. G., Colvin, M. E., 2002. Experimental and Simulation Studies of Heat Flow and Heterocyclic Amine Mutagen/Carcinogen Formation in Pan-Fried Meat Patties. *Food and Chem. Toxic.*, 40: 673-684.
- Turesky, R. J., Bur, H., Huynh-Ba, T., Aeschbacher, H. U., Milon, H., 1988. Analysis of Mutagenic Heterocyclic Amines in Cooked Beef Products by High-Performance Liquid Chromatography in Combination with Mass Spectrometry. *Food and Chem. Toxic.*, 26 (6): 501-509.
- Turesky, R. J., Forster, C. M., Aeschbacher, H. U., Würzner, H. P., Skipper, P. L., Trudel, L. J., Tannenbaum, S. R., 1989. Purification of the Food-borne Carcinogens 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline and 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline in Heated Meat Products by Immunoaffinity Chromatography. *Carcinogenesis*, 10 (1): 151–156.

- Turesky, R. J., Taylor, J., Schnackenberg, L., Freeman, J. P., Holland, R. D., 2005. Quantitation of Carcinogenic Heterocyclic Aromatic Amines and Detection of Novel Heterocyclic Aromatic Amines in Cooked Meats and Grill Scrapings by HPLC/ESI-MS. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 3248-3258.
- Vanderlaan, M., Watkins, B. E., Hwang, M., Knize, M. G., Felton, J. S., 1988. Monoclonal Antibodies for the Immunoassay of Mutagenic Compounds Produced by Cooking Beef. *Carcinogenesis*, 9 (1): 153-160.
- Vollenbröker, M., Eichner, K., 2000. A New Quick Solid-Phase Extraction Method for the Quantification of Heterocyclic Aromatic Amines. *Eur. Food Res. Tech.*, 212: 122-125.