

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ÇEŞİTLİ PİŞİRME TEKNİKLERİNİN SİGARA
BÖREĞİNDE AKRİLAMİD OLUŞUMU
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Evrım ÖZKAYNAK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 614. 01. 00

Sunuş Tarihi: 21. 08. 2006

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gül den OVA

Bornova-İZMİR

ÖZET**ÇEŞİTLİ PİŞİRME TEKNİKLERİNİN SİGARA BÖREĞİNDE
AKRİLAMİD OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ
ÖZKAYNAK, Evrim**

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Gülden Ova

Ağustos 2006, 128 sayfa

Bu araştırmada sigara böreklerinin yağda kızartılması sırasında akrilamid oluşumuna kızartma yağı çeşidinin, kızartma süresinin ve yumurtayla kaplamanın etkisi araştırılmıştır.

Sigara börekleri 175 °C'de ayçiçek yağında, zeytinyağında ve mısırözü yağında 5, 10 ve 20 dk. kızartıldıktan sonra yağ çeşidine göre akrilamid oluşum miktarları incelendiğinde; en yüksek akrilamid miktarı (171,1 µg/kg) ayçiçek yağında; en düşük akrilamid miktarı (55,1µg/kg) ise mısırözü yağında saptanmıştır. Her üç yağ çeşidinde de kızartma süresinin artışına bağlı olarak akrilamid oluşum miktarlarında bir artış görülmüş ve aralarında lineer bir ilişki gözlenmiştir ($p < 0,01$). Sade sigara böreklerinin 10 dk. ayçiçek yağında, zeytinyağında ve mısırözü yağında kızartılması sonucunda oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 125,9 ; 110,3 ; 102,1 µg/kg iken, 10 dk. kızartılan yumurtayla kaplanmış sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarlarının 77,4 ; 43,3 ; 35,8 µg/kg olduğu saptanmıştır ve aralarındaki bu fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Sade örneklerde her üç yağ çeşidi için de kızartma süresine bağlı olarak gelişen renk koyulaşması sonucunda akrilamid oluşum miktarları artarken L (aydınlık) değerlerinin azaldığı görülmüş ve akrilamid miktarlarıyla L değerleri arasında lineer olarak yüksek regresyon katsayılı ($R^2 > 0,90$) bir ilişki elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: akrilamid, sigara böreğinde akrilamid

ABSTRACT

EFFECTS OF VARIOUS COOKING CONDITIONS ON ACRYLAMIDE FORMATION IN ROLLED PATTY

ÖZKAYNAK, Evrim

Msc in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Gül den Ova

August 2006, 128 pages

In this study, the effects of frying oil types, frying period and covering with egg on acrylamide formation during frying of rolled patty were investigated.

After rolled patties were fried in sunflower seed oil, olive oil and corn oil at 175 °C for 5, 10 and 20 min., maximum acrylamide amount (171,1 µg/kg) was found in sun flower seed oil and minimum acrylamide amount (55,1 µg/kg) was found in corn oil. For each oil, it was obtained an increase for acrylamide amount while frying time is increasing and there is a linear correlation between them ($p < 0,01$). Acrylamide amounts in rolled patties that were fried in seed oil, olive oil and corn oil for 10 min were respectively 125,9; 110,3; 102,1 µg/kg. After rolled patties covered with egg were fried in sun flower seed oil, olive oil and corn oil for 10 min were respectively 77,4; 43,3; 35,8 µg/kg. It was found a statistical significant difference between rolled patties and rolled patties covered with egg ($p < 0,01$).

For each oil type, while colour darkness were increasing with frying period, it was found a high linear correlation ($R^2 > 0,90$) between L (light) values and acrylamide amounts.

Keywords: acrylamide, acrylamide in rolled patty.

TEŞEKKÜR

Bu tezin her aşamasında önerileriyle beni yönlendiren ve bana her zaman destek olan danışmanım **Prof. Dr. Gülden Ova**'ya

Yüksek lisans öğrenimim boyunca her zaman desteklerini hissettiğim **Gıda Kalite Kontrol Ana Bilim Dalı hocalarıma ve asistanlarına**,

GC-MS çalışmalarım sırasında gereksinim duyduğum her anda yardımını esirgemeyen **Prof. Dr. Yaşar Hışıl**'a

GC-MS'de kantitatif tayin için kullanacağım SIM modunu öğrenmemi sağlayan **Dr. Pelin Aksu**'ya

İstatistik hesaplamalarında bana yardımcı olan **Perihan Kendirci**'ye

Analizlerim süresince yardıma ihtiyacım olduğunda güler yüzlülüklerini hiç esirgemeyen **tüm bölüm laboratuvar görevlilerine**

Tüm hayatım boyunca bana vermiş oldukları destek, özveri ve anlayış için **aileme**

Tez yazım aşamam sırasında ihtiyacım olduğunda yardımını hiç esirgemeyen kardeşim **Evren**'e

İçtenlikle teşekkür ederim.

Evrin ÖZKAYNAK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIV
ÇİZELGELERDİZİNİ.....	XV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	8
2.1. Gıdalarda Akrlamid Oluşumunun Mekanizmaları.....	8
2.2. Akrlamidin Toksisitesi.....	13
2.2.1. Nörotoksik etkileri.....	14
2.2.2. Üreme toksisitesi ve gelişim üzerine etkileri.....	15
2.2.3. Karsinojenik etkileri.....	16
2.3. Gıdalarda Akrlamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler ve Azaltma Yolları.....	18
2.3.1. Şekerlerin ve aminoasitlerin etkisi.....	19
2.3.2. Sıcaklık ve sürenin etkisi.....	24
2.3.3. pH'ın etkisi.....	28
2.3.4. Gıda matriksinin etkisi.....	30
2.3.5. Nemin etkisi.....	31
2.3.6. Kızartma yağı çeşidinin etkisi.....	32
2.3.7. Depolamanın etkisi.....	34
2.3.8. Haşlama ve suda bekletme.....	35
2.3.9. Katkı maddeleri.....	36
2.4. Akrlamid Analiz Yöntemleri.....	39

	<u>Sayfa</u>
3. MATERYAL VE METOD.....	44
3.1. Materyal.....	44
3.2. Metod.....	45
3.2.1. Reaktifler.....	45
3.2.2. Standart çözeltilerin hazırlanması.....	45
3.2.3. Ekstraksiyon.....	47
3.2.4. Türevlendirme (Bromlama).....	48
3.2.5. Kalibrasyon standart çözeltilerinin bromlanması.....	49
3.2.6. GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi) Analizi.....	49
3.3. Renk Ölçümü.....	55
3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	55
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	57
4.1.Kızartma Süresinin Akrilamid Oluşumuna Etkisi....	58
4.2. Kızartma Yağı Çeşidinin Akrilamid Oluşumuna Etkisi.....	61
4.3. Yumurtayla Kaplamanın Akrilamid Oluşumuna Etkisi.....	63
4.4.Sigara Böreklerinde Renk Oluşumu ile Akrilamid Oluşumu Arasındaki İlişki.....	65
5. SONUÇ.....	73
EK 1 STANDART VE ÖRNEKLERE AİT GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRİSİ KROMATOGRAMLARI.....	76
EK 2 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	88

XIII

EK 3 HER ENJEKSİYON İÇİN HESAPLANAN AKRİLAMİD MİKTARLARI, ORTALAMALARI VE STANDART SAPMALARİ.....	96
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	99
ÖZGEÇMİŞ.....	110

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Zyzak ve ark. (2003) tarafından önerilen akrilamid oluşum mekanizması.....	12
Şekil 2.2. Yaylayan ve ark. (2003) tarafından önerilen akrilamid oluşum mekanizması.....	13
Şekil 3.1. Akrilamid ekstraksiyon basamakları.....	47
Şekil 3.2. Akrilamid ekstraksiyonun türevlendirme (bromlama) basamakları.....	48
Şekil 3.3. Kalibrasyon grafiği.....	53
Şekil 4.1. Akrilamid miktarlarının süreye ve kızartma yağı çeşidine göre değişimi.....	58
Şekil 4.2. Ayçiçek yağında üç farklı kızartma süresinde oluşan akrilamid miktarları arasındaki ilişki.....	60
Şekil 4.3. Zeytin yağında üç farklı kızartma süresinde oluşan akrilamid miktarları arasındaki ilişki.....	60
Şekil 4.4. Mısırözü yağında üç farklı kızartma süresinde oluşan akrilamid miktarları arasındaki ilişki.....	61
Şekil 4.5. Yumurtayla kaplanmış ve kaplanmamış sigara böreklerindeki akrilamid oluşum miktarının her bir yağ çeşidi için incelenmesi.....	64
Şekil 4.6. Ayçiçek yağında kızartılan sigara böreklerinde Hunter L, a, b değerleri.....	66
Şekil 4.7. Ayçiçek yağında 5, 10, 20 dk kızartılmış sigara böreklerinin fotoğrafları.....	67
Şekil 4.8. Zeytin yağında kızartılan sigara böreklerinde Hunter L, a, b değerleri.....	68
Şekil 4.9. Mısırözü yağında kızartılan sigara böreklerinde Hunter L, a, b değerleri.....	68
Şekil 4.10. Zeytin yağında 5, 10, 20 dk kızartılmış sigara böreklerinin fotoğrafları.....	69
Şekil 4.11. Mısırözü yağında 5, 10, 20 dk kızartılmış sigara böreklerinin fotoğrafları.....	70
Şekil 4.12. Ayçiçek yağı, zeytin yağı ve mısırözü yağında yumurtayla kaplanarak kızartılmış sigara börekleri.....	70

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. 2002'den 2004'e kadar yapılan çalışmalarda bazı ürünlerde saptanan akrilamid düzeyleri.....	3
3.1. Kalibrasyon grafiğinin çizilmesi için kullanılan veriler	53
4.1. Sade sigara böreği örneklerinde saptanan akrilamid miktarları.....	57
4.2. 10 dk. kızartılan sade ve yumurtalı sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları.....	63
4.2. Ayçiçek yağı, zeytinyağı ve mısırözü yağında kızartılan sade ve yumurtalı sigara böreği örneklerinde Hunter L, a, b değerleri.....	66

1. GİRİŞ

Gıdaların risk değerlendirmesi mikrobiyolojik ve kimyasal güvenlik kavramlarını içermektedir. Gıdaların işlenmesi geçmişten bu yana gıdaların korunması temeline dayanmıştır bu da gıdaların mikrobiyolojik güvenliğini artırmak ve gıdanın raf ömrünü uzatmak amacıyla gelişmesini sağlamıştır; kurutma, tuzlama, fermentasyon en eski işleme teknikleridir (Miller Jones, 1992). Zamanla gelişen teknolojiyle pastörizasyon, sterilizasyon, ışınlama, yüksek basınçlı pastörizasyon gibi gıda işleme teknikleri doğmuştur ve bu işlemlerin hepsinin temelinde gıdaların mikrobiyolojik güvenliği yatmaktadır (Lado and Yousef, 2002).

Gıdaların işlenmesinde mikrobiyolojik güvenlik kadar kimyasal güvenlik de önemlidir. Isısal işlem, gıdaların mikrobiyolojik kalitesini ve duyu kalitesini artırmada geçmişten bugüne kadar kullanılan en önemli tekniktir. Fakat ısısal işlem, gıda içerisinde gerçekleşen Maillard reaksiyonları aracılığıyla lezzet ve aromayı artırırken aynı zamanda besin öğelerinin indirgenmesi, biyolojik yararlılığın azalması, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve akrilamid oluşumu gibi gıdada istenilmeyen değişikliklere yol açmaktadır. Bu nedenle gıda işleme tekniklerinin son ürün üzerindeki etkilerinin dikkatle değerlendirilmesi gerekmektedir (Tritscher, 2004).

Akrilamid (2-propenamid – $\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$) renksiz, erime noktası $84.5\text{ }^\circ\text{C}$ ve kaynama noktası $192.6\text{ }^\circ\text{C}$ (760 mmHg) olan beyaz renkli katı bir kristaldir. Bu bileşik suda, asetonda ve etanolde çözünebilmektedir; sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir (2155 g/L'dir) (Friedman, 2003). Sanayide çok amaçlı kullanılan poliakrilamid sentezinde monomer olarak kullanılmaktadır (Lingnert et al., 2002). Poliakrilamid içme suyu ve atık sularda bulunan parçacık ve kirliliklerin uzaklaştırılmasında yararlanılan bir kimyasal olup (Wenzl et al., 2003) yapıştırıcı, boya, kağıt ve tekstil endüstrisi ve kozmetik ürünleri yapımında da kullanılmaktadır (Vattem and Shetty, 2003). Poliakrilamid malzemeler çok az miktarda akrilamid içermektedir ve bu kalan monomerler suya veya gıdaya temas yoluyla geçebilmektedirler (Tritscher, 2004). WHO (Dünya Sağlık Örgütü) ve EEC (Avrupa Birliği) tarafından içme sularında bulunabilecek akrilamid için belirlenmiş göç etme sınırları (teşhis seviyesi - LOD) $5\text{ }\mu\text{g/kg}$ olup; EEC tarafından ambalaj materyallerinden gıdaya göç edebilecek akrilamid için belirlenmiş göç etme sınırları $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 'dır (Wenzl et al., 2003). Ayrıca sigara dumanı bilinen önemli bir akrilamid kaynağıdır (Vattem ve Shetty, 2003). İnsanların çeşitli işlerde akrilamide deri yoluyla veya hava yoluyla maruz kalmalarından dolayı da akrilamid, 2002 yılına kadar insanlar üzerinde çevresel bir kontaminant madde olarak değerlendirilmiştir (He et al., 1989).

Tareke et al. (2000) tarafından kızartılmış hayvan yiyeceklerindeki akrilamidin kanda hemogloblin bağlayıcı rolünün olduğunun gösterilmesiyle ve 2002 yılında da İsveç Ulusal Gıda Örgütü (Swedish National Food Administration) ve Stockholm Üniversitesinin birlikte yaptıkları çalışmada ısısal işlem görmüş nişasta bazlı gıdalarda önemli miktarlarda akrilamid saptanmasıyla (Tareke et al. , 2002) akrilamid bir anda önemli bir kontaminant olarak görülmeye başlanmıştır. İnsanlar için yaşam boyu tüketilen günlük akrilamid miktarının, 1 µg/kg vücut ağırlığı olması durumunda kanser riskinin 1000'de 0,7-4,5 arasında olacağı belirtilmektedir (Mucci et al. , 2003). Tablo 1.1.'de 2002-2004 yılları arasında yapılan araştırmalarda gıdalarda saptanan akrilamid miktarları ile ilgili olarak FAO (Gıda Tarım Örgütü)/ WHO tarafından derlenmiş bilgiler gösterilmektedir (Anon, 2005a).

Tablo 1.1. 2002'den 2004'e kadar incelenmiş bazı ürünlerde saptanan akrilamid düzeyleri (Anon, 2005)

Ürünler	Örnek sayısı	Ortalama Kons. (mg/kg)	Maksimum Kons. (mg/kg)
Hububatlar ve hububat bazlı ürünler			
Hububatlar ve makarna (çiğ ve haşlanmış)	372	15	47
Hububatlar ve makarna (tost, yağda kızarmış)	634	123	82
Ekmekler	5,145	446	3,436
Hamur tatlıları ve bisküviler	4,980	350	7,834
Kahvaltılık tahıllar	1,130	96	1,346
Pizza	85	33	763
Balık ve balık ürünleri (yağda kızartılmış, fırında)	107	25	233
Et ve sakatatlar (pişirilmiş, kızartılmış)	325	19	313
Süt ve süt ürünleri	147	5,8	36
Kabuklu yemişler, tohum yağları	203	84	1,925

Baklagiller	93	51	320
Kökler ve yumrular			
Patates, püre/haşlanmış	66	16	69
Fırında pişirilmiş patates	99	169	1,270
Patates cipsi	3,555	752	4,080
Parmak patates	6,309	334	5,312
Parmak patates, kroket (dondurulmuş, servise hazır)	48	110	750
Kahve, kakao ve çay			
Kahve, içime hazır	101	13	116
Kahve (öğütülmüş, Kavrulmuş)	709	288	1,291
Kahve ekstraktları	119	1,100	4,948
Kafeinsiz kahve	34	668	5,399
Kakao ürünleri	23	220	909
Yeşil çay (kavrulmuş)	101	306	660
Şekerler ve bal (başlıca çikolata)	133	24	112
Sebzeler			
Çiğ, haşlanmış ve konserve	146	4,2	225
İşlenmiş (fırınlanmış, yağda kızartılmış, ızgara)	47	59	202
Meyveler			
Taze	57	<1	10
Kurutulmuş, yağda kızartılmış, işlenmiş	49	131	770
Alkollü içecekler (bira, cin, şarap)	99	6,6	46
Baharatlar ve soslar	22	71	1,168
Bebek formülü			
Bebek maması (konserve)	226	22	121
Bebek maması (toz halde)	34	16	73
Bebek maması (bisküviler, gevrekler)	58	181	1,217

Yukarıdaki tablo incelendiğinde çiğ ve haşlanmış hububatlar ve makarnada saptanan ortalama akrilamid miktarı 15 µg/kg iken kızarmış hububatlar ve makarnada saptanan ortalama akrilamid miktarının 123 µg/kg olduğu görülmektedir. Bu değerlerin bu çalışmada kullanılan yufkada ve kızarmış sigara böreklerinde tespit edilmiş ortalama akrilamid miktarlarına oldukça

yakın olduğu gör÷lmektedir; yufkada saptanan akrilamid miktarı 15 µg/kg; kızarmış sigara böreğinde bulunan akrilamid miktarı 113 µg/kg olarak bulunmuştur.

Yapılan hayvan denemeleriyle akrilamidin yüksek dozlarında üreme ve sinir sistemini etkilediği, metabolik ürünü olan glisik amidin DNA'yı bağlayarak genetik hasara yol açtığı saptanmıştır (Dybing and Sanner 2003). Sıçanlarla yapılan çalışmalarda akrilamide uzun süreli maruz kalma sonucunda kanser etkisinin gör÷ldüğü kesinlik kazanmıştır. Fakat insanlarda kanser etkisi yaptığına dair kesin sonuçlar bulunmamaktadır (Anon, 2002 f). Sıçanlarla yapılan kanser çalışması sonuçları göz önüne alınarak, gıdaya suyla ve ambalaj metaryalleri yoluyla bulaşabileceğinden ve toksisitesi çok kuvvetli bir kimyasal bileşik olmasından dolayı Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü (IARC-International Agency for Research on Cancer) akrilamid bileşimini insanda kanserojenik etki yapma olasılığı bulunan bileşikler sınıfına (Grup 2A) koymuştur (IARC, 1994). Ayrıca akrilamid Norveç'de insana kanserojen etkisi olduğu düşün÷len maddeler sınıfına (Anon, 2002e), EPA (Çevre Koruma Kuruluşu) tarafından da aynı düşünceyle B2 sınıfına konulmuştur (Anon, 2003d). İşlenmiş veya yüksek sıcaklıkta pişirilmiş özellikle snek tipi gıdaların önemli düzeylerde akrilamid içerdikleri ve bu gıdaların insan sağlığı için önemli riskler taşıyabileceğini bildirilmektedir (Zhang et al., 2006).

Gıdalarda akrilamid kızartma, fırında ve ızgarada pişirme gibi ısıl işlemlerin sonucunda oluşmaktadır. Şimdiye kadar çığ veya haşlanmış gıdalarda düşük miktarlarda akrilamid teşhis edilmiştir. 100-120°C'nin üzerine ısıtma işleminden sonra en yüksek akrilamid miktarı karbonhidratça zengin gıdalarda (100-4000 µg/kg) ve en düşük akrilamid miktarı ise proteince zengin gıdalarda (<100 µg/kg) bulunmuştur. Akrilamid miktarları gıda grupları ve aynı koşullarda işlenmiş ürün grupları içinde önemli değişkenlik göstermektedir (Andrjewski et al., 2004; Granby ve Fagt, 2004). Akrilamid içeriği açısından önemli gıda grupları patates cipsi, kızarmış parmak patates, kızarmış ekmek, kahvaltılık tahıllar, unlu mamüller ve kahve olarak belirtilmektedir. (Surdyk, 2004).

Sigara böreği ülkemizde severek ve oldukça da çok tüketilen bir gıda olup genellikle yağda kızartılarak yenilmektedir. Hem nişastaca zengin olması hem de bize özgü bir gıda olması nedeniyle bu çalışmada örnek olarak seçilmiştir.

Bu araştırmada sigara böreklerinin yağda kızartılması sırasında akrilamid oluşumuna kızartma yağı çeşidinin, kızartma süresinin ve yumurtayla kaplamanın etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Ayrıca kızartma süresine bağlı olarak oluşan renk koyulaşması ve akrilamid oluşumu arasındaki ilişkinin de incelenmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçlar doğrultusunda hazırlanan sigara böreklerinin ayçiçek yağı, zeytinyağı ve mısırözü

yağlarında üç farklı sürede kızartılması ve akrilamid miktarlarının saptanması planlanmıştır.

2. ÖNCEKİ YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunun Mekanizmaları

Isısal işlem görmüş gıdalarda akrilamid oluşumu için ortaya konulan en önemli mekanizma çoğunlukla reaktif bir karbonil grubu ile amino asitler arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonudur (Stadler et al., 2002; Mottram et al., 2002; Zyzak et al., 2003; Yaylayan et al., 2003). Maillard reaksiyonu aynı zamanda enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Söz konusu reaksiyon kompleks olmasına karşın yine de önemli aroma ve lezzet bileşiklerini oluşturması açısından arzu edilmektedir (Stadler et al., 2004).

Yapılan çalışmalar akrilamidin oluşumundan sorumlu aminoasidin asparajin olduğunu ve gıdaların pişirilmesi sırasında asparajinin indirgen şekerlerle reaksiyonu sonucunda akrilamid oluştuğunu göstermektedir (Taeymans et al., 2004). Asparajin amino asidi dışında glutamin, sistin, arginin, metiyonin ve aspartik asit gibi amino asitler ise eser miktarda akrilamid oluşturmaktadır (Gertz et al., 2002).

Amrein et al. (2003) patateslerle yaptıkları çalışmada asparajinin amid grubuyla birlikte akrilamid molekülünün omurgasını oluşturduğunu göstermişlerdir. Yaylayan et al. (2003) da yaptıkları model çalışmada sentetik N-glukozilasparajinin pirolizinden elde edilen akrilamidin aynı koşullar altında

asparajin/glukoz modelinden oluşan akrilamid ile karşılaştırılabilir olduğunu onaylamışlardır. Yapılan diğer bir çalışmada da Maillard reaksiyonunda sadece asparajinin amido azotunun akrilamid oluşumuna katıldığı saptanmıştır (Becalski et al., 2003). Ayrıca Zyzak et al. (2003) da akrilamidin yapısındaki 3 karbon atomunun ve azot atomunun asparajinden geldiğini tespit etmişlerdir.

Maillard reaksiyonunun başlangıç basamağında indirgen şekerler ile asparajin reaksiyona girerek Schiff baz ile dengede olan N-glukozilasparajin kompleksini oluşturmaktadır ve bu kompleks ısıtma esnasında yüksek miktarlarda akrilamid oluşturmaktadır (Stadler et al., 2002). Ayrıca dekarboksile olmuş asparajin (3-aminopropionamide) ısıtıldığında indirgen şeker olmadan akrilamid oluşturabilmektedir (Zyzak et al., 2003). Asparajinin Strecker reaksiyonunu içeren diğer olası yollar; Strecker aldehidinin direkt ara ürün olması (Mottram et al., 2002) veya yağlarda akrilamid oluşumu konusunda ne sürülen akrilik asit yollu bir mekanizmadır (Becalski et al., 2002; Gertz and Klostermann 2002; Lingnert et al., 2002; Stadler et al., 2003).

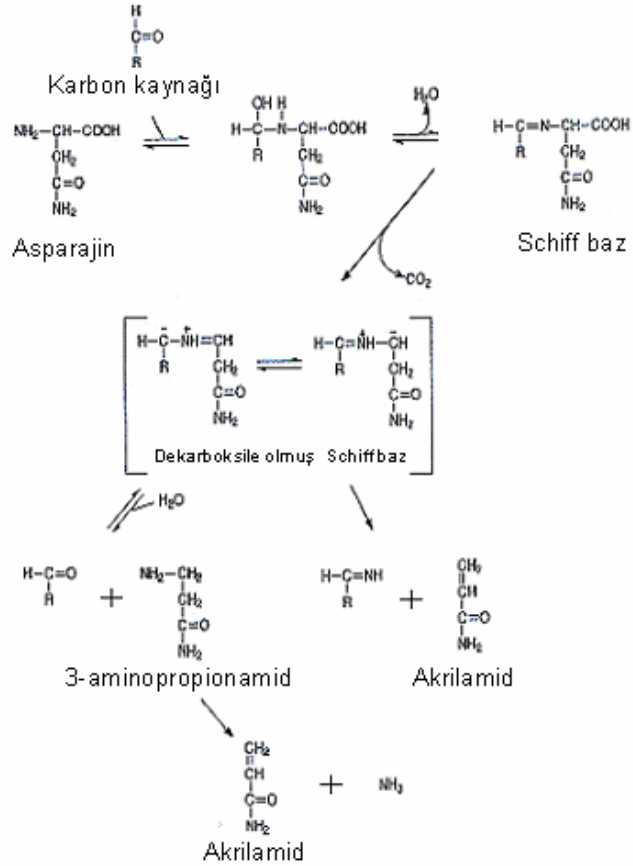
Akrilik asit üzerinden gerçekleşen mekanizma; gliserolün ısısız indirgenmesiyle akrolein oluşumunu, akroleinin akrilik aside oksidasyonunu ve son olarak da büyük olasılıkla azot içeren bileşiklerin hidroliziyle oluşan amonyakla akrilik asidin reaksiyonundan akrilamid oluşumunu içermektedir (Becalski et al., 2003). Becalski et al. (2003) yaptıkları model çalışmada

akrilamidin oluşumunda akroleinin olası rolünü araştırmışlar fakat bu sentetik oluşum yolunu destekleyen bir kanıt elde edememişlerdir. Vatter and Shetty (2003) de patates cipsleri ile yaptıkları çalışmada akrilamid oluşumunun oksidatif olmadığını bundan dolayı da akrilamid oluşumunun yağ oksidasyonu üzerinden olma olasılığının ortadan kalktığını belirtmişlerdir. Mestdagh et al. (2006) parmak patateslerle ve model sistemde yaptıkları çalışmada yağın indirgenmesinin akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemişler; akrilamid oluşumunun yağ oksidasyonundan bağımsız olduğunu ispatlamışlar ve gliserol, mono ve diaçilgliseroller gibi yağın indirgenme ürünlerinin akrilamid oluşumunu önemli derecede etkilemediğini göstermişlerdir.

Zyzak et al (2003) ve Yaylayan et al (2003) yaptıkları model çalışmalarda akrilamid oluşumunun asparajinden ve bir reaktif karbonil kaynağından oluştuğunu göstermişler ve bu oluşumda Schiff bazının önemini belirtmişlerdir.

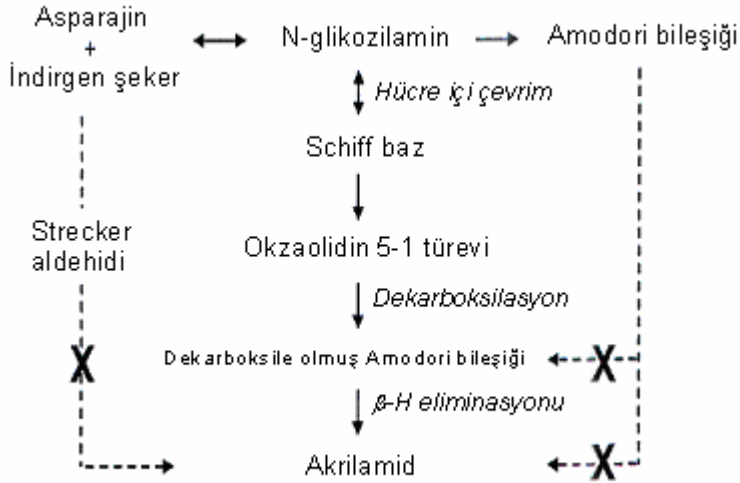
Zyzak et al. (2003), asparajinin akrilamid oluşum mekanizmasındaki yerini daha iyi anlamak için patates model sisteminde akrilamid oluşumuna karbonil içeren diğer bileşiklerin etkisini araştırmışlar ve glukoz, fruktoz, 2-deoksiglukoz, riboz, gliseraldehid, gloksal, ve dekanal içeren çeşitli karbonil kaynaklarının asparajinden ısı etkisiyle akrilamid oluşturabileceğini bulmuşlardır. Akrilamid oluşumunda ilk basamağın bir karbonil

kaynađı ve asparajinin α -amini arasında Schiff baz oluřumu olduđu dűřünűlmektedir. İzotop-etiketleme deneyleri ve karbonil çalıřmaları dođrultusunda Őekil 2.1.'de gűsterilen mekanizma űne sűrűlműřtűr. Burada Schiff baz ısıyla dekarboksile olmaktadır. Dekarboksile olan Schiff baz 2 ayrı yoldan reaksiyona girebilmektedir. 1. yolda, ısıtıldıđında 3-aminopropionamide (dekarboksile olmuř asparajin) hidroliz olmakta ve ileri ařamada amonyađın eliminasyonu ile indirgenerek akrilamid oluřurmaktadır. 2. yolda ise, dekarboksile olan Schiff baz direkt bozunarak iminin eliminasyonu ile akrilamid oluřturabilmektedir. Ayrıca bu reaksiyonun indirgen Őekere ihtiyacı yoktur ve n-alkanals, gloksal ve 2-deoksiglukoz gibi bileřikler etkili bir Őekilde reaksiyona girebilmektedirler.



Şekil 2.1. Zyzak et al. (2003) Akrilamid oluşum mekanizması

Yaylayan et al. (2003) tarafından ortaya konulan mekanizma Şekil 2.2.'de gösterilmiştir. Bu mekanizma genel olarak; Schiff bazın erken dekarboksilasyonu, Amadori ürününün yeniden düzenlenmesini ve B-H-eliminasyonu ile akrilamide yükseltgenme basamaklarını içermektedir. Bu mekanizma Maillard reaksiyonunun başlangıcında akrilamid oluştuğunu desteklemektedir.



Şekil 2.2. Yaylayan ve ark. (2003) tarafından önerilen akrilamid oluşum mekanizması

2.2. Akrilamidin Toksisitesi

FAO/WHO akrilamid maddesinin toksik etki yaptığını; insanda kanserojen ve teratojen olma olasılığının bulunduğunu, deriden geçebildiğini ve sinir sistemine zarar verdiğini bildirmektedir (Anon 2003c). Akrilamid suda çok yüksek çözünürlüğü nedeniyle vücutta (süt ve plasenta dahil) çok geniş bir yere dağılmaktadır (Tritscher, 2004).

Ağız yoluyla alınan yüksek dozda akrilamidin laboratuvar hayvanlarında kansere yol açtığı sonuç olarak da insanlar için potansiyel kanserojen olduğu düşünülmekte fakat gıdalarla alınan düşük miktarda akrilamidin insanlarda kansere neden olup

olmadığı hakkında kesin sonuçlar olmadığı ifade edilmektedir (Anon, 2004a). Buna karşın 2005 yılında WHO ve FAO birlikte, işlenmiş veya yüksek sıcaklıkta pişirilmiş özellikle bazı gıdaların önemli düzeylerde akrilamid içerdiklerini ve bu gıdaların insan sağlığı için önemli riskler taşıyabileceğini bildirmişlerdir (Zhang et al., 2006).

2.2.1. Nörotoksik Etkileri

Çin'de akrilamid üreten küçük fabrikalarda çalışan işçilerin işleri gereği kısa süreliğine akrilamide maruz kalmaları zayıf bacaklar, ayak parmaklarının refleksini ve duyarlılıklarını kaybetmesi, uyuşmuş eller gibi belirtilere neden olduğu belirtilmektedir (He ve ark., 1989). Akrilamide maruz kalan işçilerin periferik nöropati (his bozukluğu) belirtileri sergilemesi bu bileşiğin insan üzerinde nörotoksik etkisinin olduğunu göstermektedir (Calleman et al., 1993; Costa, 1996). Akrilamid kimyasalına daha uzun süreli maruz kalma durumunda nöropatiyi takiben serebellar disfonksiyon (beyincikle ilgili dengesiz bozukluk) içeren daha ciddi belirtilerle sonuçlanmıştır (He et al., 1989). Sıçanlarla yapılan içme suyu çalışmasında periferik nöropati (his bozukluğu) oluşumu için NOAEL (no observable adverse effect level-olumsuz etkinin gözlenmediği düzey) değeri günlük 0.5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş olup daha yüksek düzeylerde merkezi sinir sistemi nöropatisi de gözlenmiştir (Tritscher, 2004).

2.2.2. Üreme Toksisitesi ve Gelişim Üzerine Etkileri

Akrilamidin metabolik ürünü olan glisik amid DNA'yı bağlamakta (Anon, 2002a) ve kültürlü hayvan hücrelerinde ve *in vitro*'da çalışılan hayvanlarda gen mutasyonuna yol açmaktadır (Anon 2002b; Anon 2002c).

Tareke et al. (2000) ve Mucci et al. (2003)'ünün yaptıkları çalışmada, kızarmış yiyeceklerle beslenen hayvanlarda, deneylerde kızarmış yiyecek tüketmeyen hayvanlara kıyasla yüksek düzeylerde hemogloblin bağlayıcı ve DNA bağlayıcı özellikler ve hayvan hücrelerinde kromozom anormallikleri görülmüştür. Sıçanların kanında akrilamidin hemoglobline bağlanarak N (2-karbometil) valin (CEV) oluşturduğu görülmüştür. Kızarmış diyetle beslenen hayvanlarda CEV düzeyi kontrol hayvanlarından 10 kat daha yüksek olarak saptanmıştır (Tareke et al., 2000)

Farelerin ve sıçanların spermatidlerinde akrilamidin baskın öldürücü mutasyonlara neden olduğu rapor edilmiştir ve bundan dolayı memeli üreme hücresi mutajeni olduğu düşünülmektedir (Shelby et al., 1987; Adler et al., 2002). Sıçanların 30-90 gün süreyle günlük 5-20 mg/kg seviyelerde akrilamid ile beslendiğinde sıçanlarda nörolojik belirtiler ortaya çıkmakta ve bununla beraber, erkek ve kadın sıçanlarda döllenme yeteneği hızı düşmekte, ceninin rezorpsiyonunu ortadan kalkmakta ve hamile dişilerde

yavru büyüklüğü düşmekte, anormal sperm oluşumu gerçekleşmekte ve erkeklerdeki sperm sayısı azalmaktadır. (Chapin et al., 1995; Sakamoto and Hashimoto, 1986; Wise et al., 1995). Sıçanlarla yapılan diğer bir çalışmada üreme toksisitesinin NOAEL değeri günlük 0.5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (Tritscher, 2004). Fakat, Tyl et al. (2000 and 2003) yaptıkları çalışmada yetişkin toksisitesi için NOAEL değerinin 0.5 mg/kg/gün'den az olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında sıçanların üreme hücrelerindeki doza bağlı kromozomal hasarlar, akrilamide deri yoluyla maruz kalınması sonucunda da gözlemlenmiştir (Gutierrez - Esplata ve ark., 1992).

2.2.3. Karsinojenik Etkileri

Fareler ve sıçanlar üzerinde yapılan toksikolojik çalışmalarda, hayvanların gıda yoluyla belirli dozlarda akrilamide maruz kalmaları sonucu akciğer, meme bezi, ağız boşluğu, bağırsak ve üreme bölgelerinde kanser oluşma riskinin olabileceği desteklenmiştir. İnsanların beslenme sırasında aldığı akrilamid miktarının, deney hayvanlarının maruz kaldığı dozdan birkaç kat daha az olduğu ve insanların gıda yoluyla aldığı akrilamidin etkili bir şekilde vücuttan uzaklaştırılabileceği belirtmektedir (Mucci et al., 2003). Akrilamid suda kolay çözünmekte ve bağırsakta hızlı bir şekilde emilmektedir. Üre yoluyla atılımı hızlı olup akrilamidin yarısı birkaç saat içerisinde vücuttan uzaklaştırılmaktadır (Anon, 2002b; Anon, 2002d). Ancak, insanlar için yaşam boyu tüketilen

günlük akrilamid miktarının 1 µg akrilamid / kg vücut ağırlığı düzeyinde olması durumunda kanser riski 1000'de 0.7 - 4.5 arasında olmaktadır (Mucci et al., 2003).

Pelucci et al (2003) İtalya ve İsviçre'de (79 yaş altı insanlarla 1991-2000 yıllarında hastanede yatan) vaka-kontrol çalışması yapmışlar; kızarmış patates ve patates cipsi tüketimi ile çeşitli kanser olguları (ağız boşluğu, yutak, yemek borusu, gırtlak, kalın bağırsak, kolon, rektum, yumurtalık) arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışma sonucunda fırınlanmış patates tüketimi ile kanser riski arasında önemli bir ilişki bulunamamıştır. Bu genel sonucun aksine kendi içerisinde kızartılmış patates tüketimiyle kalın bağırsak kanseri arasında açık bir ilişkinin ortaya çıktığı görülmüştür. Bu çalışmada sonuçların elde edilmesinde bazı sınırlandırıcı faktörler vardır; birincisi seçilen popülasyonda fırınlanmış patates tüketimi örneğin ABD ile kıyaslandığında oldukça az sıklıktadır. İkincisi ise bu çalışmada incelenen Güney Avrupa popülasyonu Kuzey Avrupa ve ABD halkına göre farklı pişirme teknikleri kullanmaktadır.

Mucci et al (2003) de İsveç'deki insanlarla kalın bağırsak, böbrek ve mesane kanseri ile gıda yoluyla akrilamid alımı arasındaki ilişkiyi inceledikleri bir vaka-kontrol çalışmasında yeterli istatistiksel veri olmadığından teşhis edilebilir düzeyde akrilamid içeren gıda alımıyla kanser riski arasında yüksek bir ilişki saptayamamışlardır. Ancak, kolon kanseri ile gıda yoluyla

akrilamide maruz kalma arasında bir ilişki bulunmuşlardır.

İsveç doğumlu 20-79 yaşları arasındaki insanlarla yapılan diğer bir vaka-kontrol çalışmasında gıda yoluyla akrilamid alımı ve böbrek kanseri arasındaki ilişki incelenmiş ve günlük gıda alımıyla böbrek kanseri arasında pozitif bir ilişki bulunamamıştır. Ancak bu çalışmada da istatistiksel olarak veri eksikliğinin olduğu belirtilmiştir.

WHO tarafından belirlenen gelişmiş ülkelerdeki uzun süreli, diyetle akrilamide maruz kalma miktarı günlük 0.3-0.8 µg / kg vücut ağırlığı olarak tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda veriler ortaya çıktıkça, kanser durumlarıyla ilgili epidemiyolojik çalışmalar bildirildikçe gıda yoluyla alınan akrilamidin insan sağlığı üzerindeki riski hakkında daha açık bilgilerin söylenebileceği vurgulanmaktadır (Mucci et al 2004).

2.3. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler ve Azaltma Yolları

Akrilamid oluşumu için öncü gıda bileşenleri indirgen şekerler ve asparajin amino asidi olup (Stadler et al., 2002; Becalski et al., 2003; Amrein et al., 2003; Rydberg et al., 2003; Taeymans et al., 2004) bunların yanı sıra, gıda matriksi, sıcaklık ve süre gibi işlem koşulları ile birlikte nem miktarı, pH, ısıtma ortamı ve depolama da akrilamidin oluşumunu etkilemektedir

(Robert et al., 2004). Ayrıca gıdaların yağda kızartılması işleminde akrilamid oluşumunda yağ çeşidinin de etkisinin olduğu öne sürülmektedir (Becalski et al., 2003; Gertz et al., 2002).

Akrilamidin gıda içerisinde işlem süresince oluşumunu önlemek için ise yukarıda belirtilen akrilamid oluşumu üzerine etkili faktörler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda en uygun işlem koşulları oluşturulmakta veya suda bekletme ve katkı maddeleri ekleme gibi bazı ön işlemler uygulanabilmektedir.

Aynı zamanda indirgen şekerler ve serbest amino asitler, Maillard reaksiyonunda aroma bileşiklerinin ve esmerleşmenin oluşumunda öncüler olup bu da akrilamidin lezzet maddeleriyle ve esmerleşmeyle paralel olduğu anlamına gelmektedir (Amrein et al., 2003). Bundan dolayı, akrilamidin oluşumunu azaltmak için önerilen herhangi bir uygulamanın pişirilen gıdaların organoleptik özelliklerini olumsuz etkilememesine özen gösterilmesi gerektiği belirtilmektedir (Stadler and Scholz, 2004).

2.3.1. Şekerlerin ve amino asitlerin etkisi

Asparajin amino asidi varlığında ortamdaki indirgen şeker konsantrasyonunun akrilamid oluşum miktarında belirleyici faktör olduğu bildirilmektedir (Amrein et al., 2003; Zyzak et al., 2003; Becalski et al., 2004; Williams, 2005);

Amrein et al. (2003) 17 patates kültüründen elde edilen 74 örnekte glukoz, fruktoz ve asparajin analizi yapmışlar ve bu patateslerdeki potansiyel akrilamid oluşumlarını standart bir ısısal işlem kullanarak ölçmüşlerdir; örneğin patates cipsi ve parmak patates standardize edilmiş koşullar altında üretilmiştir. *Agria* patates cinsinden 7 ayrı yumrunun incelenmesi sonucunda $[(0.5 \cdot \text{glukoz} + \text{fruktoz}) \cdot \text{asparajin}]$ ile potansiyel akrilamid oluşumu arasında lineer ($R^2=0.9055$) bir ilişki elde edilmiştir; fruktozun akrilamid oluşumunda glukozdan 2 kat daha etkili olduğunu saptanmıştır.

Zyzak et al. (2003) patates nişastası ve su kullanarak hazırladıkları gıda sistemi modeline ısı uygulayarak aminoasitlerden ve D-glukozdan akrilamid oluşumunu incelemişler; sadece patates nişastası ve su içeren modele asparajin eklendiğinde yüksek miktarda akrilamid (9270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) oluştuğu, model örnek içerisinden D-glukoz ayrıştırılıp asparajin eklendiğinde ise çok az akrilamid (117 $\mu\text{g}/\text{kg}$) oluştuğu gözlemlenmiştir.

Becalski et al. (2004) parmak patateslerle yaptıkları bir çalışmada asparajinin ve şekerlerin (glukoz, fruktoz, sukroz) konsantrasyonuna bağlı olarak akrilamid oluşum miktarını incelemişler ve akrilamid oluşum miktarında indirgen şeker konsantrasyonuna bağlı bir artış saptamışlardır.

Williams (2005) patates cipslerinde akrilamid oluşumuna patateslerin amino asit ve şeker içeriklerinin etkisini incelemiş ve çiğ patateslerdeki hem glukoz hem de fruktoz konsantrasyonları ile patates cipsindeki akrilamid miktarı arasında ilişki olduğunu göstermiştir ($r^2=0.97$). Fakat asparajınla ($r^2 =0.1$) ve indirgen olmayan bir şeker olan sukrozla ($r^2=0.6$) akrilamid konsantrasyonu arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Oluşan akrilamid miktarı, gıdanın indirgen şeker içeriğiyle pozitif ilişkili olduğu için indirgen şekerlerin miktarını azaltmak akrilamidin azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Fakat indirgen şekerlerin esmerleşme için gerekli olmasından dolayı indirgen şeker miktarını azaltmak yerine, akrilamid oluşumunda reaktif olan şekerler bazı durumlarda daha az aktif olanlarla yer değiştirilebilmektedirler. Pastane ürünlerinde fruktoz glukozla yer değiştirilerek akrilamid içeriği azaltılabilmektedir (Biederman ve Grob, 2003). Amrein ve ark. (2004) da zencefilli, pekmezli ekmekle yaptıkları çalışmada akrilamid içeriğinin aynı zamanda indirgen şekerlerin sukrozla yer değiştirilmesiyle azaltılabileceğini göstermişlerdir.

Bu çalışmaların yanında asparajın amino asidinin akrilamid oluşumunda belirleyici faktör olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Zyzak et al. (2003) püre haline getirilmiş patatesin (mashed potato) mikrodalgada pişirilmesi sırasında asparajınaz

enziminin akrilamid oluşumuna etkisini incelemişler; asparaginaz enziminin, %88 asparagin miktarında ve %99'un üzerinde de akrilamid oluşumunda bir azalma sağladığını tespit etmişlerdir.

Zencefilli, pekmezli ekmek ile yapılan bir çalışmada da akrilamid oluşumunu, serbest asparajin miktarının önemli ölçüde belirlediği rapor edilmiştir (Amrein et al., 2004). Serbest asparajinin hamur yapımından önce una eklenmesi fırında pişirilen zencefilli pekmezli ekmeklerdeki akrilamid içeriklerini önemli derecede artırmıştır; 1 kg una 250 mg asparagin eklenmesi akrilamid miktarını 4 kat arttırmıştır. Bu da zencefilli pekmezli ekmeklerde akrilamid oluşumunu serbest asparajinin önemli derecede belirlediğini göstermektedir. Pişirme işlemine kadar asparajinin bozulması akrilamid oluşumunda bir düşüşe neden olacaktır. Bu hipotez de asparajinin amid grubunu hidroliz eden asparaginaz enziminin hamur yapımı sırasında katılmasıyla test edilmiştir.

Surdyk et al. (2004)'un mayalanmış buğday ekmeğinde yaptıkları çalışmada; asparajin eklenmesi ekmeklerdeki akrilamid içeriğini önemli miktarda artırırken fruktoz eklenmesi akrilamid içeriğini etkilememiştir. Hatta paralel bir çalışmada her 100 g una 0.10 ve 0.70 g asparajin eklenmesi sonucunda pişirilmiş ekmeklerin kabuklarının kuru ağırlıklarının her 100g'ı için 0.40-0.64 g fruktoz ve 0.25-0.35 g glukoz saptanmıştır. Bu da indirgen şekerlerin pişme sırasında oluştuğunu ve indirgen şekerlerin mayalanmış buğday ekmeğinde akrilamid oluşumunda sınırlayıcı

bir faktör olmadığını göstermektedir.

Düşük asparajin içeren kültürlerin seçilmesiyle ve/veya işlem öncesinde asparajini bloke ederek veya hidroliz ederek gıdalarda akrilamid oluşumu azaltılabilmektedir. Asparajinin aspartik aside ve amonyağa hidrolizi kimyasal yolla (asid veya baz katalizörlüğünde) veya asparajinaz veya diğer amidazların kullanımı ile enzimatik yolla gerçekleştirilebilmektedir. Hububat ürünlerinde düşük asparajin içeren tahıl çeşitleri seçilebilmektedir (Surdyk et al., 2004). Olsson et al. (2004), kızartma işlemi uygulanacak ürünler için düşük asparajin içeren patates klonlarının seçilmesinin uzun depolama sırasında asparajin seviyesinin önemli derecede artması riskini en aza indirebileceğini bildirmişlerdir.

Diğer yandan, Williams (2005) patates cipsleri ile yaptığı çalışmada tek başına asparajin içeriğiyle akrilamid oluşumu arasında düşük bir korelasyon bulmuştur. Çiğ patateslerde asparajin konsantrasyonunun asparajinaz kullanılarak kontrol edilmesinin çok az etkili bir yol olduğunu ve kızarmış patateslerde akrilamid oluşumunu azaltmanın en etkili yolu olarak uygun depolama koşulları kullanılarak indirgen şeker konsantrasyonunun kontrolü olduğunu belirtmiştir.

2.3.2. Sıcaklık ve sürenin etkisi

Gıdalara uygulanan ısısal işlem sıcaklığının ve süresinin artması gıdalarda akrilamid oluşumunu yükseltmektedir (Tareke et al., 2002; Mottram et al., 2002; Becalski et al., 2003; Rydberg et al., 2003; Surdyk et al., 2004; Kita et al., 2004).

Tareke et al. (2002) fırında kontrollü koşullar altında ısısal işlem gören parmak patateslerde akrilamid oluşumuna sıcaklığın etkisini incelemiştir. 100°C'ye kadar 19 dakikalık ısıtma sonunda patateslerdeki akrilamid içeriğinde bir etki olmamıştır. 120°C'de ise küçük bir artış (~+30 µg/kg) saptanmıştır. Bu durum akrilamid oluşumu için 100°C'nin üzerinde bir sıcaklığa gereksinim olduğunu göstermektedir.

Surdyk et al. (2004) mayalanmış buğday ekmeğinde yaptıkları çalışmada ekmek kabuğunda ve ekmek içinde oluşan akrilamid miktarlarını ayrı ayrı incelemişler ve ekmeklerde oluşan akrilamidin %99'unun ekmek kabuğunda bulunduğunu saptamışlar; bunun nedeninin ekmek içindeki sıcaklığın 100°C'yi geçmemesi olduğunu belirtmişler hatta ekmek içindeki %1'lik miktarın da ekmek kabuğunun ekmek içinden iyi ayrıştırılamaması sonucunda bulunduğunu vurgulamışlardır.

Aynı araştırmacılar mayalanmış buğday ekmeğinde akrilamid oluşumu üzerine pişirme süresinin ve sıcaklığının etkisini

incelemişlerdir. Ekmek kabuğundaki akrilamid iğeriği hem pişirme sıcaklığı ile hem de pişirme sũresi ile artmıştır. Daha dũřũk sũre ve sıcaklıklarda ekmeklerde daha dũřũk akrilamid (<20 µg akrilamid/kg kuru ekmek kabuğu) teşhis edilmiştir. En yũksek akrilamid iğeriği ise ekmekler 290°C'de 25 dakika pişirildiğinde kuru ekmek kabuğunda 1800 µg akrilamid/kg olarak teşhis edilmiştir. Ekmek içinde de benzer bir ilişki olduğu ancak akrilamid miktarlarının daha dũřũk olduğu belirtilmiştir (Surdyk et al., 2004).

Pişirme sıcaklığının ve sũresinin dũřũrũlmesiyle gıdalarda akrilamid oluşumunun azaltılabileceği dũřũnũlmektedir (Surdyk et al., 2004; Kita et al., 2004). Ancak bu ęeřit uygulamaların endũstride ve evde gıda hazırlama sırasında zor olacağı әне sũrũlmektedir (Brathen et al., 2005). Kita et al. (2004) yaptıkları ęalıřmada patates cipslerinde dũřũk kızartma sıcaklığı, dũřũk kızartma sũresi ve daha dũřũk sıcaklıklarda kurutma işlemi ile akrilamid oluşumunun bũyũk ۆlęũde azaltılabileceğini gۆstermiřlerdir. Patates cipsleri 185°C'de yağda kızartılırken 2 dakika kızartma işleminden sonra 105°C'de 75 dakika kurutma uygulanması akrilamid iğeriğini yaklaşık %70 dũřũrmektedir. Cipsler 160°C'de yağda kızartılırken 3 dakika kızartma işleminden sonra 75 dakika kurutma işleminin ise akrilamid iğeriğini %80'den fazla dũřũrdũęũ gۆzlenmiřtir.

Bunun yanı sıra bazı ęalıřmalarda gıdalara yũksek sıcaklık (Mottram et al., 2003; Taubert et al., 2004) veya uzun ısıtma

süresi (Rydberg et al., 2003) uygulandığında akrilamid miktarının azaldığı saptanmıştır.

Rydberg et al. (2003) kızartma süresi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada patatesleri fırında 200°C'de çeşitli sürelerde 60 dakika boyunca ısıtma işlemine tabi tutmuşlar ve patateslerdeki akrilamid içeriğini süreye karşılık incelemişlerdir. Başlangıçta patates dilimlerinin akrilamid içerikleri zamanla üssel bir şekilde artmış fakat 20. dakikadan sonra da hızlı bir azalışa geçmiştir ve 60. dakikada en fazla azalma elde edilmiştir.

Mottram et al. (2003) tarafından asparajın ve indirgen şekerlerin model reaksiyonlarında en fazla akrilamid miktarının 175°C'de olduğu bunun üzerindeki sıcaklıklarda akrilamid miktarının azaldığı rapor edilmiştir. Bu azalmanın nedeni düşünülüyor, akrilamidin 175°C'nin üzerinde bozulması ve polimerize olması şeklinde açıklanmaktadır ancak oluşan bu polimerlerin neler olduğu hakkında bilgi mevcut değildir.

Taubert et al. (2004) farklı geometrik şekillerdeki patateslerle yaptıkları kızartma çalışmasında dikkate değer akrilamid miktarları 120°C'de oluşmaya başlamaktadır. Yüksek yüzey/hacim oranlı ürünlerde 160-180°C'de 2-5 dakikalık işlem süresi maksimum akrilamid konsantrasyonunun oluşmasını sağlamaktadır.

Elmore et al. (2005) de akrilamid oluşumu ve süre ilişkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada; pirinç, patates ve buğday flekleri kullanarak hazırladıkları keklerde 180 °C'lik fırında çeşitli pişirme sürelerinde oluşan akrilamid oluşumlarını incelemişlerdir. Elde edilen üç eğri de benzerdir; 10 ve 20 dakikalar arasında akrilamid oluşumunda hızlı bir artış, 20-35 dakikalar arasında maksimum değere ulaşma ve sonra yavaş lineer bir azalma görülmektedir. Patates, pirinç ve buğday keklerindeki maksimum akrilamid konsantrasyonları sırayla 6800, 3200 ve 1100 µg/kg. olarak teşhis edilmiştir. Bu miktarlar ticari ürünlere göre yüksektir bunun nedeni keklerin bu çalışmada uzun süre pişirilmesidir. Her üç gıdada da maksimum akrilamid oluşumuna ulaşıldıktan sonra akrilamid konsantrasyonunda zamana göre bağlı lineer bir azalma görülmektedir; azalma hızları her üç üründe de benzerdir. Bu azalma büyük bir olasılıkla diğer gıda bileşenleri ile akrilamid arasındaki ikincil reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Taubert et al. (2005) da patates cipsleriyle yaptıkları çalışmada, kızartma yağında hiç akrilamid teşhis edilmediği için akrilamidin indirgenliğini ve patatesin yüzeyinden herhangi bir göç olayının olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Elmore et al. (2005) pirinç, patates ve buğday fleklerinden elde ettikleri keklerin 180 °C'de ısıtılması süresince asparajin ve indirgen şekerlerin azalmasını incelemişler; hem asparajin için hem de indirgen şekerler için lineer bir azalma saptamışlardır. Ayrıca yaptıkları diğer bir çalışmada yine keklerin 180 °C'de

pişirilmesi süresince asparajın miktarındaki azalış ile akrilamid oluşumundaki azalış arasında lineer bir ilişki tespit etmişlerdir.

Fırında pişirme işleminde gıdalarda esmerleşme düzeyi artarken akrilamid konsantrasyonunun da arttığı bildirilmektedir (Amrein ve ark., 2004). Surdyk et al. (2004) yaptıkları çalışmada; ekmekler aynı ingredientlerle farklı koşullarda (sıcaklık/süre) fırında pişirildiğinde, ekmek kabuğunun akrilamid içeriğiyle rengi arasında oldukça yüksek bir ilişki ($P < 0.001$) bulunmuştur. Fakat asparajın eklenmesi renk artışı sağlamamaktadır bu da esmerleşme reaksiyonlarında diğer amino asitlerin de rol oynadığını göstermektedir.

Taubert et al. (2004) ise esmerleşme düzeyinin tek başına akrilamid konsantrasyonunu belirlemede güvenilir olmadığını belirtmişlerdir ve patateslerle yaptıkları kızartma çalışmasında esmerleşme düzeyinin geniş yüzeyli ürünlerde akrilamid içeriğinin gerçek ölçüsü olmadığını göstermişlerdir.

2.3.3. pH'ın etkisi

Yapılan çalışmalarda akrilamid oluşumunun sistemin pH'ına da bağlı olduğu saptanmıştır. pH hem şekerlerin hem de amino grubunun reaktivitesini etkilemektedir. İşlem sırasında pH'ı düşürmenin akrilamid oluşumunu sınırlayacağı bildirilmektedir (Rydberg et al., 2003; Kita et al., 2004).

Rydberg et al. (2003) rendelenmiş ve homojenize edilmiş patateslerle farklı konsantrasyonlarda sitrik asit kullanımının akrilamid oluşumuna etkisini incelemişlerdir. Patatesler 180 °C'lik fırında 25 dakika ısıtılmıştır ve pH düşüşüne bağlı olarak oluşan akrilamid miktarında bir azalma görülmüştür.

Jung et al. (2003) kızartma veya fırında pişirmeden önce sitrik asit çözeltisine daldırma veya haşlamanın mısır cipsinde ve patates cipsinde akrilamid oluşumunu önemli derecede azalttığını saptamışlardır. Zencefilli, pekmezli ekmekte akrilamid içeriğini düşürmek için ürünün esmerleşme, mayalanma ve lezzeti özellikleri göz önüne alınarak 5000 mg/kg'ı geçmeyecek konsantrasyonda sitrik asit ilavesi uygun görülmektedir (Amrein ve ark., 2004).

Kita et al. (2004) patates cipsleriyle yaptıkları çalışmada; patates dilimlerini asidik çözeltiler içerisinde farklı sürelerde bekletmenin veya haşlamanın patates cipslerinde oluşacak akrilamid miktarını nasıl etkileyeceğini araştırmışlar ve en yüksek azalmanın (%90) 20 °C'lik asetik asit (%98) çözeltisinde patates dilimlerinin 60 dakika bekletilmesi sonucunda elde edildiğini görmüşlerdir. %50'lik bir azalma da hem asetik asit (%98) hem de sitrik asit (%98) çözeltilerinde 70 °C'de 3 dakika haşlama sonucunda elde edilmiştir. Sitrik asit çözeltisinde 70 °C'de 1 veya 3 dakika haşlanmış patates dilimlerinden elde edilen patates cipslerinde hafif ekşi bir tat saptanmış ancak asetik asit

kullanıldığında bir tat değişimi belirlenmemiştir.

2.3.4. Gıda matriksinin etkisi

Kavrulmuş veya kızartılmış et ve balık ürünleri, patates veya hububat ürünleriyle kıyaslandığında daha düşük akrilamid içermektedirler. Bunun nedeni proteinlerin, akrilamid oluşumu üzerine inhibisyon etkisinin olması şeklinde açıklanmaktadır (Biedermann and Grob., 2003; Vatterm and Shetty., 2003; Tareke, 2003).

Tareke at al. (2002) çeşitli koşullarda hem laboratuarda hazırlanmış hem de restoranlarda hazırlanmış gıdalarda yaptıkları analizlerde proteince zengin gıdalarda (tavuk, biftek, soya etli biftek, morina balığı, hamburger) ortalama akrilamid miktarı (5-50 µg/kg) düzeyindeyken karbonhidratça zengin gıdalarda (özellikle patates bazlı ürünler) ortalama akrilamid miktarı (150-4000 µg/kg) seviyelerindedir. Bu gıdalar içerisinde en dikkate değer olanları tavada kızarmış şeker pancarınının tavada kızarmış patatesten ve parmak patatesten yaklaşık 2 kat daha fazla akrilamid içermesidir. Fakat patates cipsiyle kıyaslandığında patates cipsindeki miktar 3-4 kat daha yüksektir. Diğer bir gıda çeşidi ise patates, yumurta, süt ve un kullanılarak hazırlanan kızarmış patates pankekleridir. Bu pankekler diğer patates ürünleriyle kıyaslandığında oldukça düşük akrilamid içermektedir.

Vattem and Shetty (2003) tarafından yapılan bir başka çalışmada da patates dilimleri nohut lapasıyla muamele edildikten sonra kızartılmış ve kızartma sonrası akrilamid miktarının kontrol örneğine (taze patates) göre oldukça düşük seviyede arttığı (0.31 µg/kg'dan 0.58 µg/kg'a) saptanmıştır. Nohut lapasıyla muamele edilmiş patates dilimleri Hindistan'da yıllardır koruyucu yararlarından dolayı proteince zengin bir yiyecek olarak tüketilmektedir. Nohutta bulunan proteinlerin ısıya dayanıklı oldukları bilinmektedir. Akrilamid oluşumundaki bu küçük miktardaki artışın proteinlerin patates dilimlerinin yüzeyindeki nişastayla kompleks oluşturması ve bu kompleksin kızartma sırasında daha yüksek sıcaklıklarda bile stabil kalabilmesi sonucunda oluşabileceğini öne sürmüşlerdir. Stabil bir nişasta-protein kompleksi, Maillard reaksiyonu ve ısıl indirgenme için daha az şekerin var olması demektir, bu da daha az akrilamid oluşumunu sağlamaktadır.

2.3.5. Nemin etkisi

Yüksek nem içeren örneklerdeki (taze patates veya hamur) akrilamid oluşumunun çok düşük miktarlarda olduğu belirtilmektedir (Claeys et al., 2005).

Elmore et al. (2005) pirinç, buğday ve patates flekleri kullanarak hazırladıkları keklerde yaptıkları çalışmada 180 °C'de fırında pişirme işleminde pişirme süresine karşılık keklerdeki %

nem içeriğinin değişimine göre oluşan akrilamid miktarlarını incelemişler; nem oranı %5'in üzerinde olan keklere akrilamid oluşumunun oldukça düşük olduğunu ve %5'in altındaki nem değerlerinde ise nem miktarı ile akrilamid arasında lineer bir ilişki elde edildiğini saptamışlardır.

2.3.6. Kızartma yağı çeşidinin etkisi

Gertz ve ark. (2002) ise patatesleri 170°C ve 180°C'lerde 3'30" süre ile silikon katılmış ayçiçek ve kolza yağlarında kızartmışlar ve patateslerde akrilamid oluşumunun silikon (E 900) içeren kızartma yağlarında daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Silikon, yüzey gerilimini arttırmak için kullanılan köpürmeyi önleyici bir ayandır, Ayrıca paralel bir çalışmada kızarmış patateslerde kolza yağında, ayçiçek ve palm olein yağına oranla daha yüksek akrilamid oluştuğu ortaya konulmuştur.

Becalski et al. (2003) patates ile yaptıkları çalışmada 175°C'de patates dilimlerini mısır yağı, zeytin yağı ve parafin kullanarak 10 dakika ve 15 dakika kızartmışlar sonuç olarak kızartma yağı çeşidinin oluşan akrilamid miktarını etkileyebileceğini belirtmişler ve en yüksek akrilamid miktarının zeytinyağı kullanıldığında oluştuğunu göstermişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada da patateslerin kızartılmasında zeytinyağı kullanımının mısır yağına kıyasla daha yüksek akrilamid oluşturduğu bildirilmektedir (Tareke, 2003).

Buna karşın Williams (2005) patates cipsleriyle yaptığı çalışmada ise akrilamid oluşumunu yağ çeşidinin etkilemediğini belirtmiştir. Çalışmada bitkisel yağ ve palm yağı kullanmışlar; kızartma sonrası yağlardaki peroksit değerlerini kızartma öncesine göre yaklaşık bitkisel yağda 2 kat, palm yağında 4 kat bulunmuş fakat patates cipslerinin akrilamid içerikleri her iki yağ için de birbirine yakın bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda yağın doymamışlık içeriğinin, zincir uzunluğunun ve peroksit değerinin akrilamid oluşumu üzerine etkisinin önemli olmadığını tespit etmişlerdir.

Yağ oksidasyonunun akrilamid oluşumu üzerine etkisini incelemek için oksidasyona karşı oldukça hassas olan soya yağı kullanılarak parmak patateslerle gerçekleştirilen çalışmada yağ oksidasyonunun parmak patatesin kızartılması sırasında oluşacak olan akrilamid miktarına önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Bu sonuca karşın yağ oksidasyonunun yağ ve parmak patatesler arasındaki ısı transferini etkileyebileceği ve önceki çalışmalarda belirtilen sonuçların gösterdiği gibi akrilamid oluşumunun yağ çeşidinden etkilenebilebileceği belirtilmektedir (Mestdagh et al., 2006). Araştırmalar yağın çeşidinin akrilamid oluşumu üzerinde önemli bir etkisinin olduğunu ortaya koymakla birlikte bu konuda daha fazla çalışmaya gerek olduğu görülmektedir.

2.3.7. Depolamanın etkisi

Depolama sıcaklığı patateslerin şeker içeriği üzerinde kuvvetli bir etkiye sahiptir. Olsson et al. (2004) patateslerin 3-4°C'de depolanmasının, solunumu azaltarak uzun süreli depolama için en iyi koşulu sağladığını göstermişlerdir. Ancak, düşük sıcaklıkta depolama aynı zamanda patateslerde indirgen şeker miktarının artmasına neden olmakta ve bu olay düşük sıcaklık tatlanması olarak adlandırılmaktadır. Bu indirgenmiş şekerler patatesi donmaya karşı korumakla beraber yüksek indirgen şeker konsantrasyonu akrilamid oluşumunu artırmaktadır. Buna karşın patatesleri 10 °C'de depolama işleminin düşük sıcaklık tatlanmasını azalttığı gösterilmiştir fakat bu depolama şekli; depolama masrafını, çimlenmeyi durdurucuların kullanım gereksinimini ve hastalık problemlerini artırmaktadır (Olsson et al., 2004)

Honicke et al. (2004) toz haline getirilmiş patates cipslerini oda sıcaklığında kapalı ambalajda 100 günün üzerinde depolamışlar ve bu sürenin sonunda akrilamid miktarında lineer bir azalma saptamışlardır.

2.3.8. Haşlama ve suda bekletme

Ön işlemin amacı gıdalardaki akrilamid öncülerinin miktarını azaltmaktır (Jung et al., 2003; Pedreschi et al., 2004) ve bu ön işlemlerden birisi haşlama veya suda bekletmedir. Bu işlemler indirgen şekerlerin ve asparajinin azalmasını sağlamaktadır (Brathen et al., 2005). Patateslerin haşlanması, yüzeyde bulunan indirgen şekerlerin uzaklaştırılması ile ısıtma sırasında kahverengi noktaların oluşumunu azaltmaktadır ve yüzeydeki nişastanın jelatinazasyonu ile yağ emilimini azaltmaktadır (Jung et al., 2003; Pedreschi et al., 2004). Haşlama işlemi aynı zamanda ürünün pH'ını da düşüren bir faktördür ve bu nedenle akrilamid oluşumunu azaltmada etkili olduğu düşünülmektedir (Tareke et al., 2002).

Pedreschi et al. (2005) 'ın yaptıkları çalışmada, kızartmadan önce 85°C suda 3.5 dakika haşlama işleminin (patates/su : yaklaşık 0.005 w/w) 120, 150 ve 180°C kızartılan haşlanmış patates cipslerinin akrilamid içeriğini önemli düzeyde azalttığı gösterilmiştir. Haşlama işlemi patates cipslerinde oluşan akrilamid miktarlarını kontrol örneklerine göre 120, 150 ve 180°C'lerde sırayla %68, %75 ve %49 oranında düşürmüştür. Haşlama patates dokusundan glukoz ve asparajinin uzaklaştırılmasını sağlayarak kızarmış patates dilimlerinde daha düşük akrilamid oluşumuna neden olmuştur. Ayrıca patates cipslerindeki renk ve dokuyu iyileştirebilmektedir; kızartma sıcaklığının 120°C'den 180°C'ye yükselmesiyle patates cipslerinin

daha kızardığı ve koyulaştığı görülmektedir. Ayrıca aynı kızartma sıcaklıklarında haşlama uygulanmış patates cipslerinin kızartmadan sonra daha açık ve daha az kırmızı olduğu görülmektedir.

Fakat; haşlama ön işlemi, patates cipsi veya parmak patates gibi ürünler için oldukça yeterli olmakla beraber ekmek gibi hububat ürünlerine uygulanamamaktadır (Brathen ve ark., 2005).

Williams (2005) kızartma işleminden önce suda bekletmenin etkisinin yeterli olmadığını ancak kısa bir kaynatma işlemi ile akrilamid miktarının azaltılabileceğini bildirmektedir. Yaptıkları çalışmada patates dilimleri 2 saat oda sıcaklığında suda bekletildikten sonra kızartılmış ve suda bekletme işleminin patates cipslerinde oluşan akrilamid oluşumunu azaltmada etkili olduğu görülmüştür.

2.3.9. Katkı maddeleri

Asitler, amino asitler veya proteinler gibi farklı katkı maddelerinin gıdada akrilamid oluşumunu engellemekte etkin olabileceği belirtilmektedir (Rydberg et al., 2003; Vatterm and Shetty., 2003).

Organik asitlerin katılması

Askorbik asidin Maillard reaksiyonunda bir indirgen şeker olarak davrandığı görülmüştür; askorbik asidin indirgenme ürünleri amino asitlerle ve peptitlerle reaksiyona girerek Maillard reaksiyonu sonucu akrilamid oluşumunu engellemektedir (Rydberg et al., 2003).

Bir glukoz-asparajin model sistemine veya patates örneklerine lisin ilave edilmesi akrilamid oluşumunu önemli derecede düşürmektedir (Becalski et al., 2003; Rydberg et al., 2003). Glukoz-asparajin model sisteminde ayrıca sistin varlığı da akrilamid oluşumunu azaltmıştır (Leufven et al., 2003). Fırında pişirilen patates örneklerine glisin, alanin, glutamin veya glutamik asit ilave edildiğinde de oluşan akrilamid miktarı daha düşük olmaktadır (Rydberg et al., 2003). Amrein et al. (2004) da zencefilli, pekmezli ekmek yapımında (133 mmol/kg hamur) glisin ilave ederek akrilamid oluşumundaki azalmayı en üst düzeyde bulmuşlardır.

Brathen et al. (2005) patateslerle yaptıkları çalışmada; patates cipslerinde akrilamid içeriğine amino asit çözeltilerinde (80 °C/2 dakika) haşlamanın etkisi patates cipsi için elde edilen sonuçlar glisinin, akrilamid miktarını glutaminden daha etkili azalttığını göstermiştir. Bu çalışmada çeşitli sıcaklık ve süreler için glisin ve glutamin çözeltilerinde haşlama koşullarının patates

cipslerinde akrilamid oluşumuna etkisi incelenmiş ve 80 °C'de 2 dakikalık işlemin akrilamid oluşumu üzerinde en etkili azalmayı sağladığı tespit edilmiştir. Suda haşlama akrilamid oluşumunda yaklaşık %30'luk bir azalma sağlarken haşlama çözeltisi 0.05 M glisin içerdiğinde %70'lik bir azalma gözlenmiştir. Aynı çalışmada ekmek ve yassı ekmek yapımında hamura glisin eklenmesinin son ürünlerdeki akrilamid içeriklerini etkili şekilde düşürdüğü saptamıştır.

Kabartma ajanlarının etkisi:

Amrein et al. (2004) zencefilli, pekmezli ekmek ile yaptıkları çalışmada kabartma ajanı olarak amonyum bi karbonatın kullanılmasının akrilamid oluşumunu önemli derecede yükselttiğini saptamışlardır; amonyum hidrojen karbonatın farklı miktarları eklenerek üretilmiş zencefilli pekmezli ekmeklerdeki akrilamid içerikleri ile eklenen miktarlar arasında doğrusal bir ilişki elde edilmiştir. Aynı çalışmada kabartma ajanı olarak sodyum bi karbonatın kullanılmasının ise amonyum bi karbonat kullanılmasına oranla akrilamid oluşumunu 1/3 oranında düşürdüğü saptanmış, kabul edilebilir esmerleşme ve duyuşsal özellikler elde edilmiştir. Ortamda amonyak varlığının olması akrilamid oluşumunda önemli bir etken olarak görülmektedir.

Antioksidanların etkisi

Patates dilimlerinin kızartılması sırasında; patates dilimlerinin yaban mersini toz çözeltisine (%1 (w/v)) ve kekik çözeltisine (%1 (w/v)) daldırılması sonucunda akrilamid oluşumu patateslere eklenen baharatların fenolik madde içeriğindeki ve antioksidan kapasitelerindeki artışla artmıştır (Vattem and Shetty., 2003). Tareke (2003), ısıtma işleminden önce ete antioksidan (BHT, sesamol, E vitamini) eklenmesinin akrilamid oluşumunu yükselttiğini bulmuştur. Becalski et al. (2003) ise patates dilimlerinin kızartılması için kullanılacak yağa antioksidatif özelliği ile bilinen biberiye baharatı ilave edildiğinde düşük akrilamid oluşumunun gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.

2.4. Akrilamid Analiz Yöntemleri

Akrilamid, gıda analizcileri için oldukça yeni bir kontaminant olmasına karşın, 2002'de gıda ürünlerinde keşfedildiğinden bu yana yoğun bir yöntem geliştirme ve iyileştirme çalışmaları yapılmaktadır (Wenzl et al, 2003). Şimdiye kadar uygulanan analiz yöntemleri kromatografik teknik olarak başlıca Gaz Kromatografisi (GC) veya Sıvı Kromatografisi (LC); tanımlama tekniği olarak da Kütle Spektrometresi (MS) esaslıdır (Rieder and Stadler, 2003). En yaygın kullanılan yöntemler ise Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ve Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) / İkili Kütle Spektrometresi (MS) [LC-

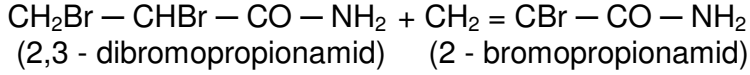
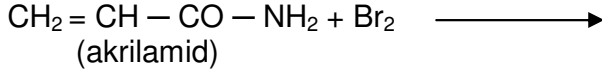
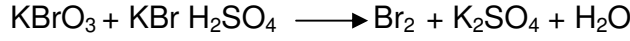
MS/MS] yöntemleridir (Wenzl et al, 2003).

Akrilamid analizinde örnek hazırlama aşaması önemlidir. Gıda matriksine bağlı olarak örnek kurutulur ve öğütülür (Honicke et al., 2004). Örnek hazırlama aşamasının başlangıcında işaretlenmiş akrilamid izotopu eklemek, ön işlem sırasında örnek içindeki akrilamid kaybının analiz sonucunu etkilememesi için yapılan bir uygulamadır; bu amaçla kullanılan en yaygın iç standartlar izotop etiketli [$^{13}\text{C}_3$] akrilamid, [D_3]- akrilamid ve [$^{13}\text{C}_1$] akrilamiddir (Wenzl et al., 2003).

Yaygın olarak kullanılan analitik metotlar arasındaki en büyük farklar; akrilamidin *ekstraksiyon* (ekstraksiyon çözgeninin içeriğindeki değişkenler, ekstraksiyon sıcaklığının ve süresinin tanımlanması, mekanik uygulamalar) (Wenzl et al., 2003) ve *temizleme* aşamalarıdır. Çoğunlukla su ekstraksiyonu kullanılmaktadır çünkü akrilamid yüksek oranda suda çözünmekte organik çözgenlerde daha az çözünmektedir (Honicke et al., 2004). Ekstraksiyon işlemlerinde çok fazla farklılıklar vardır. Temizleme işlemi örnek hazırlama aşamasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır mümkün olduğunca kolay, güvenilir ve farklı gıda çeşitlerine uygulanabilir olmalıdır (Honicke et al., 2004). Bir çok temizleme aşaması birkaç katı faz ekstraksiyonunun kombinasyonundan oluşmaktadır (Wenzl et al., 2003).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) uygulamalarının düşük ayırma kalitesi ve akrilamidin HPLC'de alıkonma süresine göre yeterince iyi belirlenmemesi nedeniyle LC-MS esaslı metotlar geliştirilmiştir (Gertz and Klostermann, 2002). Bu metotların avantajı türevlendirme yapmadan akrilamid analiz edilebilmektedir (Pittet et al, 2004; Rieder and Stadler, 2003), fakat akrilamidin molekül ağırlığının düşük olması (71 g/mol) ve düşük kaliteli iyon parçacıkları vermesinden dolayı akrilamidin teşhisinin doğru yapılabilmesi için ikili kütle spektrometresine (MS-MS) ihtiyaç duyulmaktadır (Pittet et al, 2004; Gertz and Klostermann, 2002).

GC metodu, nişastaca zengin örneklerle çalışırken nişastanın güçlü jelatinasyon özelliğinden dolayı başarısız olmaktadır; bunun yanında GC ile ilgili temizleme, türevlendirme ve standardın stabilizasyonu hakkında detaylı bilgi mevcut değildir. Bu sorunun üstesinden gelmek için yüksek kaliteli iyonlar sağlamada GC-MS'den yararlanılan yeni bir analitik metot geliştirilmiştir (Gertz and Klostermann, 2002). Bu metotta türevlendirme (bromlama) işleminin kullanılmasıyla daha uçucu bir bileşik oluşturulmakta ve tanımlama seçiciliği artmaktadır (Wenzl ve ark., 2003; Pittet ve ark., 2004). Bromlama işlemi potasyum bromür (KBr), hidrojen bromür (HBr) ve bromlu (Br_2) su eklenerek yapılmaktadır; bu bromlama basamağının zahmetli ve zaman alıcı (Wenzl ve ark., 2003) olması nedeniyle alternatif bir bromlama tekniği de potasyum bromat ($KBrO_3$) ve KBr kullanılarak yapılmaktadır ve aşağıdaki reaksiyon gerçekleşmektedir;



Bu türevlendirme tekniğinin bir çok avantajı vardır; güçlü bir asit olan (HBr) ve doygun bromlu çözelti hazırlamaya gerek yoktur. Bu iki solventin hazırlanması zordur ve el ile teması tehlikelidir. KBrO₃ ve KBr birleşiminin kullanımı daha kullanışlı ve güvenlidir ve reaksiyon soğuk depo sıcaklığında 30 dakikada mükemmel tekrarlanabilirlik verecek şekilde gerçekleşmektedir. Ayrıca akrilamidin (KBrO₃ ve KBr) birleşimi ile elde edilen türevi mükemmel GC özellikler sergilemekte, keskin pik şekilleri elde edilmektedir. Bu türevlendirme basamağının dezavantajları bu bileşimin karışık kompozisyonlu solvent olması ve bunun da türevlerin reaksiyon ürünlerini etkileyebilmesidir. Bu yüzden enstürmental analiz öncesi son basamak olarak bir temizleme ekstraktı uygulanmalıdır (Zhang et al., 2006).

Bromlama basamağı ile akrilamid *2,3-dibromopropionamide* dönüşmektedir. Fazla brom, sodyum tiyosülfat (1N) çözeltisi eklenerek uzaklaştırılmaktadır ve *2,3-dibromopropionamide* etil asetatla ekstrakte edilmektedir. Bu akrilamid türevi bir ileri uygulama ile daha stabil bir analit olan *2-bromopropionamide* trietilamin (%10) eklenerek dönüştürülebilmektedir. Fakat bazı

koşullarda 2,3-dibromopropionamid'in GC'in girişinde veya direkt olarak kapiler kolonda daha stabil olan 2-bromopropionamid'e dönüştüğü de görülmüştür (Pittet et al., 2004).

Bir de türevlendirme yapılmadan ekstraksiyon ve temizleme işlemlerinden sonra akrilamidin GC-MS'de direkt teşhis edildiği metot vardır (Wenzl et al., 2003).

GC-MS metodunda daha çok pozitif iyon kimyasal iyonizasyon (CI) ve impact iyonizasyon (EI) içeren kütle spektrometresi kullanılarak akrilamid teşhis edilmekte ve miktar tayininde de selected ion monitoring (SIM) metodu tercih edilmektedir (Biedermann et al., 2002).

Ayrıca akrilamid gaz kromatografisi ikili kütle spektrometresi (GC/MS-MS) ile teşhis edilebilmektedir. Wenzl et al. (2003) kimyasal iyonizasyon metoduyla akrilamidin teşhis limitini 1-2 µg/kg'a kadar düşürmüşlerdir. Fakat Zhang et al. (2006) yaptıkları çalışmada gaz kromatografisi – elektron yakalama dedektörü (GC-ECD) yönteminin MS/MS bazlı yöntemlerden biraz daha hassas olduğunu göstermişler ve bu yöntemin avantajı olarak da akrilamid türevinin temizleme işlemi olmadan enjeksiyon yapılabilmesini, daha ucuz ve güvenilir bir alternatif yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Akrilamid monomeri toksik ve deriden hızla geçebilen bir kimyasaldır. Bu kimyasalla çalışırken uygun laboratuvar güvenlik önlemleri alınmalıdır (Anon, 2003 b); deri ve gözle temasından kaçınılması gerekir (güvenli gözlükler ve eldivenler kullanılmalı) (Pittet et al., 2004) ve solunmamalıdır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Sigara börekleri, marketten satın alınmış hazır yufkaların 16 eşit parçaya bölünerek sarılması sonucu hazırlanmıştır. Kızartma işleminde ayçiçek yağı, zeytinyağı ve mısırözü yağı kullanılmıştır. 30 dakika 200°C'de ısıtılan plakalı ısıtıcı üzerindeki çelik tencereye her partide 650 ml yağ eklenmiş, yağ sıcaklığı 180°C'ye geldiğinde 7 parça sigara böreği yağ içerisine atılmış ve sigara börekleri 175°C yağ sıcaklığı ortamında kızartılmıştır. Yağ sıcaklığı termometre kullanılarak ölçülmüş ve ısıtma işlemi için homojen bir sıcaklık dağılımı sağlamak amacıyla plakalı ısıtıcı kullanılmıştır.

Sigara böreği örnek partileri her yağ çeşidinde 5 dk, 10dk. ve 20 dk. kızartılmıştır. Kızartma sürelerinin belirlenmesinde Hunter aygıtıyla ölçülmüş L değerleri baz alınarak sigara böreğinin açık, orta ve koyu renkleri belirlenmiştir. Ortalama L değerleri açık renk için 38, orta renk için 52, koyu renk için 64 olarak kabul edilmiştir.

Ayrıca diğeri bir parti sigara b6reği de homojenize edilmiş yumurtayla kaplandıktan sonra ayıııek yağı, zeytinyağı ve mısır6z6 yağında 10 dakika kızartılmıştır.

3.2. Metod

Sigara b6reklerinde akrilamid tayini amacıyla uygulanan ekstraksiyon işlemi ve tayin metodu aşağıda aııkılanmaktadır. Tareke et al. (2002) tarafından geliştirilen ve Atina'daki National Chemical Laboratory tarafından modifiye edilen ekstraksiyon işlemi ve GC-MS metodu uygulanmıştır (Anon 2005 b)

3.2.1. Reaktifler

Sodyum s6lfat, potasyum brom6r, s6lf6rik asit *Merc*), etil asetat (kromarografik saflıkta), Hekzan (kromatografik saflıkta) *Riedel*, potasyum bromat *Pnreac*, sodyum tiyos6lfat *Fluka*, akrilamid (elektroferez %99 saflıkta) (*Sigma*) ve D₃-akrilamid % 99 + saflıkta) *Polymersource* kullanılmıştır.

3.2.2. Standart 6zeltelerin hazırlanması

0,0012; 0,0024; 0,0036; gram akrilamid standardı tartılmış ve 1 litrelik balon j6jeye aktarılmıştır. Daha sonra her balon j6jeye 0,0004 g D₃-akrilamid ilave edilmiş ve saf suyla 1000 ml'ye

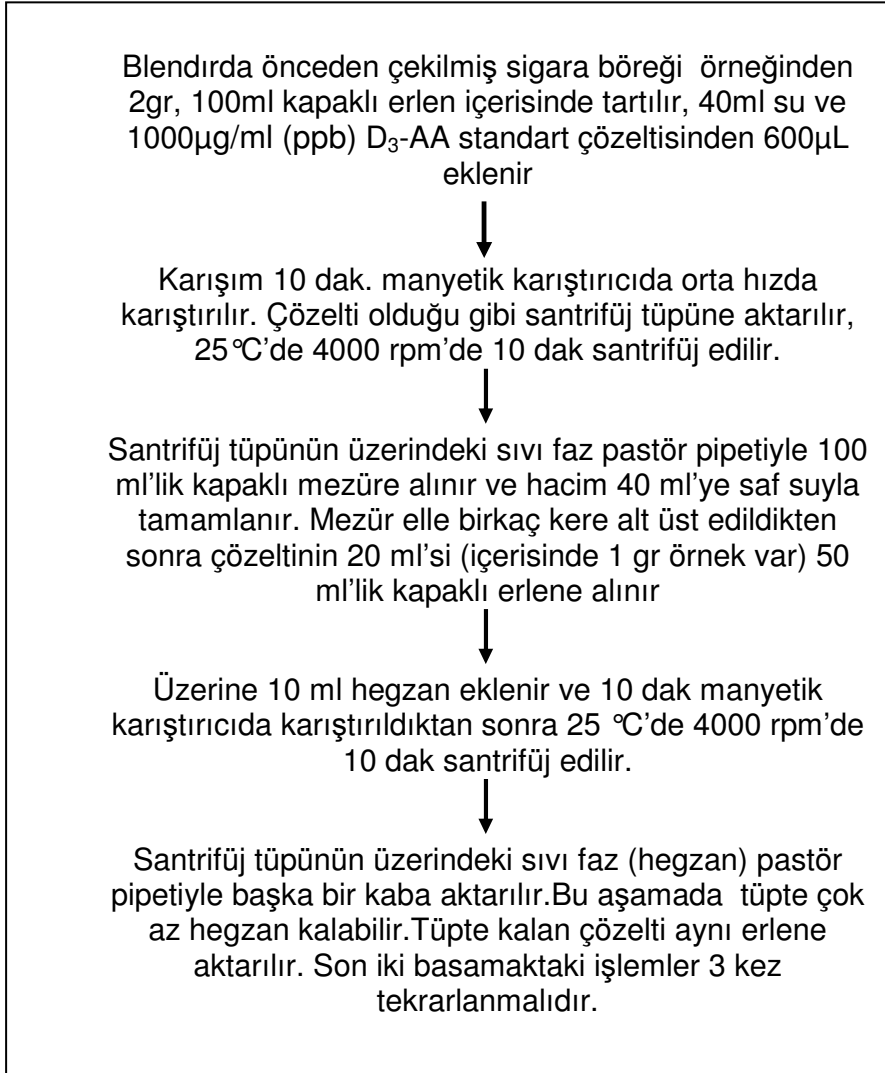
tamamlanmıştır. Bu standart çözeltilerin dışında ayrı bir 1 litrelik balon jöjeye sadece 0,0004 g D₃-akrilamid aktarılmış ve saf suyla 1000 ml'ye tamamlanarak D₃-akrilamid standart çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiler daha sonra saf suyla seyreltilerek sırayla 300, 600, 900 ve 1000 µg/ml (ppb) çözeltileri elde edilmiştir. Bütün çözeltiler buzdolabında +4°C'de en fazla 2 hafta depolanmıştır.

0,1 mol/L potasyum bromat çözeltisi: 1,67g KBRO₃ 10 ml suda

0,1 mol/L sodyum tiyosülfat çözeltisi: 24,82 g Na₂S₂O₃·5H₂O 100 ml suda çözülerek hazırlanmıştır.

3.2.3. Ekstraksiyon

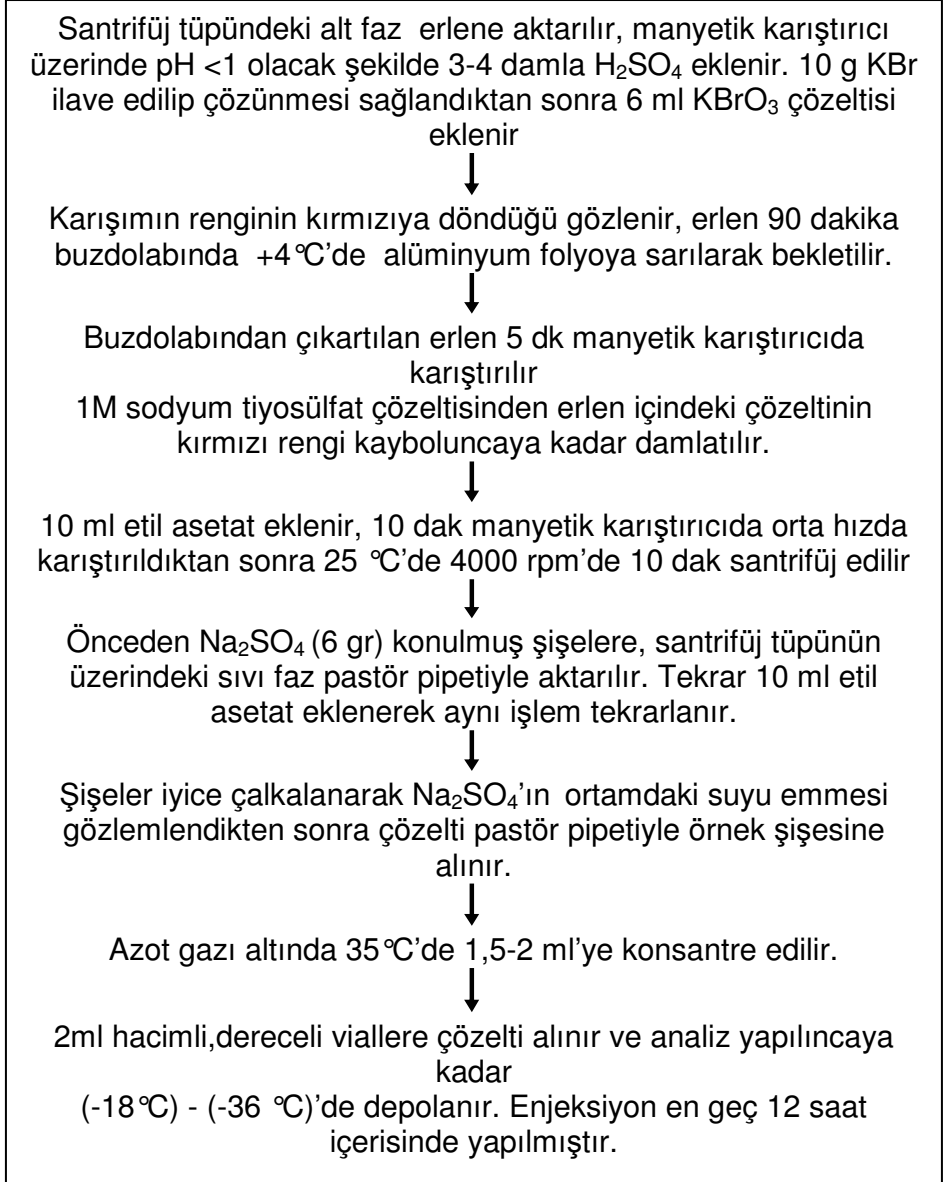
Ekstraksiyon işlemleri basamakları Şekil 3.1. 'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Akrilamid ekstraksiyon basamakları

3.2.4. Türevlendirme (Bromlama)

Ekstraksiyon aşaması sonrası bromlama işlem basamakları Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Akrilamid ekstraksiyonunun türevlendirme (bromlama) basamakları

3.2.5. Kalibrasyon standart çözeltilerinin hazırlanması

0, 300, 600 ve 900 µg/ml (ppb) akrilamid standart çözeltilerinden 600 µL ayrı ayrı 40 mL su içeren kapaklı 100 mL'lik erlenlere aktarılır ve her erlene 600 µL 1000 ppb D₃ – akrilamid eklenir. Ayrıca kalitatif tayin için scan modunda çalışmak üzere 1000 ppb D₃ – akrilamid çözeltilerine de aynı işlem uygulanır. Hazırlanan bu çözeltilerin hepsi yukarıda açıklanmış şekilde bromlanır. Bromlanan standart çözeltiler en fazla 2 hafta (-18°C) - (-36 °C)'de depolanır

3.2.6. GC–MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi) analizi

Örnek ekstraktları ve standart çözeltiler Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometrisi (GC–MS)'inde pozitif elektron etkisi (electron impact - EI) kullanılarak seçici iyon görüntüleme (selected ion monitoring -SIM) moduyla analiz edilmiştir. GC–MS kolonu (J&W Scientific fic / 122-2932/ DB – 225 ms) 30 cm uzunluğunda, 0,25 mm iç çapındadır ve film kalınlığı 0,25µm olup çalışma sıcaklıkları 40 – 250 °C'dir ve hareketli faz olarak helyum kullanılmıştır.

Gaz Kromatografisi (GC) Koşulları

Kolon fırın sıcaklığı: 65 °C

Enjeksiyon sıcaklığı: 250 °C

Enjeksiyon modu: splitless

Split oranı:1.0

Kolon akışı: 1.00 mL/dak.

Kolon sıcaklık programı

<u>Artış hızı (°C/dak)</u>	<u>Sıcaklık (°C)</u>	<u>tutuş süresi (dak.)</u>
—	65.0	1.00
7.0	240.0	10.00

Kütle Spektrometrisi (MS) Koşulları

İyon kaynağı sıcaklığı: 200 °C

Ara yüzey sıcaklığı: 250 °C

Dedektör voltajı: 0.15 kV

Solvent cut time: 5.00 dak.

Başlangıç (m/z): 50.00

Bitiş (m/z): 200.00

Kalitatif Tayin (scan modu)

- 8.8 ppm akrilamid standardından 2 μ L enjeksiyon yapılır. Akrilamid standardının spektrumundan:

- akrilamidin alıkonma zamanı tespit edilir
- 106, 108, 149 ve 151 kütleli karakteristik iyonlar görülür

- 8.8 ppm D₃-akrilamid standardından 2 μ L enjeksiyon yapılır. D₃ - akrilamid standardının spektrumundan:

- D₃-akrilamidin alıkonma zamanı tespit edilir.
- 109, 110, 151 ve 153 kütleli karakteristik iyonlar görülür

- 2 μ L etil asetat enjeksiyon yapılır.

- 2 μ L örnek standardından enjeksiyon yapılır. Örnek standardının spektrumundan:

- Örneğimizdeki akrilamidin alıkonma zamanı
 - ❖ Akrilamidin daha önceden tespit edilmiş alıkonma zamanı
 - ❖ Akrilamidin spektrumu
 - ❖ Akrilamid pikinin hemen solunda ona çok yakın D₃ – akrilamid pikinin çıkması

bilgileri kullanılarak tespit edilir.

Standart ve örneklere ait akrilamid ve D₃-akrilamid kütle spektrumları Ek 1'de gösterilmektedir.

Kantitatif Tayin (SIM modu)

SIM modunda akrilamid için 149 kütleli karakteristik iyonu ve D₃ – akrilamid için 153 kütleli karakteristik iyonu seçilmiş ve pik alanlarının hesaplamaları bu iyonlar üzerinden yapılmıştır.

Kalibrasyon grafiğinin çizilmesi için hazırlanan standartlardan 2 kere enjeksiyon yapılır.

Standart ve örneklere ait akrilamid ve D₃-akrilamid pik alanları Ek 1’de gösterilmektedir.

Kalibrasyon grafiği

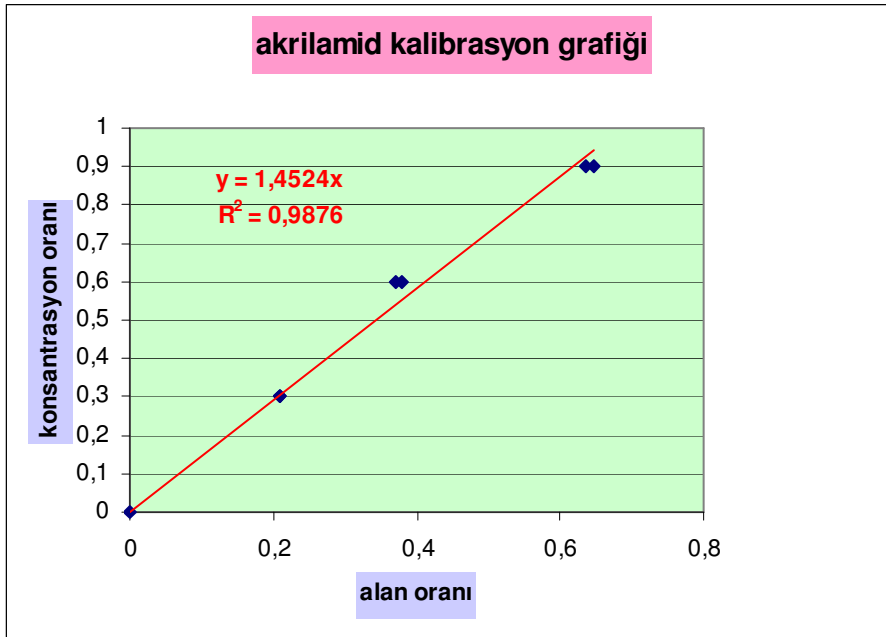
Kalibrasyon grafiğinin çizilmesinde kullanılan oranlar;

$$\text{X eksenine} \rightarrow \text{Alan oranı} = \frac{\text{Akrilamid pikinin alanı}}{\text{D}_3\text{- akrilamid pikinin alanı}}$$

$$\text{Y eksenine} \rightarrow \text{Kons. oranı} = \frac{\text{Akrilamid konsantrasyonu}}{\text{D}_3\text{-akrilamid konsantrasyonu}}$$

Tablo 3.1. Kalibrasyon grafiğinin çizilmesi için kullanılan veriler

Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	D ₃ Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Akrilamid (Alan)	D ₃ Akrilamid (Alan)	Alan oranı	Kons. oranı
300	1000	7925	37900	0,209	0,3
300	1000	8010	38100	0,210	0,3
600	1000	12313	33120	0,372	0,6
600	1000	12591	33280	0,378	0,6
900	1000	24267	37490	0,647	0,9
900	1000	23454	36970	0,634	0,9

**Şekil 3.3.** Kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon grafiğinin hesaplamalarda kullanılabilmesi için $R^2 \geq 0,99$ olması gerekir. Ayrıca kalibrasyon grafiğinin doğruluğunun tespiti için akrilamid miktarı (701 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)) belirli olan bir standart örnek (peksimet) kullanılmıştır. Bu standart

örnekte bulunan akrilamid miktarınının 100 µg/kg aşağısının veya yukarısının bulunması kalibrasyon grafiğinin doğruluğunun onaylanması için yeterlidir (Anon 2005 b). Yapılan çalışma sonucunda, standart örnekte bulunan 701 µg/kg değeri 662.1 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu standart örnek Atina'da National Chemical Laboratory'den tedarik edilmiştir. Atina'daki laboratuvara ise bu standart örnek, Heatox Projesi çerçevesinde Avrupa Birliği ülkelerindeki laboratuvarların analiz sonuçlarının zed puanlarını (analiz sonucunun, doğru analiz sonucuna yakınlığına göre verilen puan) denetleyen İsviçre'deki laboratuvar tarafından gönderilmiştir. Tekrarlanabilirliği sağlamak için her enjeksiyonun bir tekrarı yapılmıştır ve ortalama değerleri kullanılmıştır. Örneklerin enjeksiyonunda her farklı parametreye geçişte kolonun temizliği amacıyla 1 µL etil asetat enjekte edilmiştir. Her enjeksiyon için hesaplanan akrilamid miktarları, bu miktarların ortalamaları ve standart sapmaları Ek 3'de verilmiştir. Sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Akrilamid miktarı (}\mu\text{g/kg)} = \frac{\text{D}_3 \text{ AA mik. (}\mu\text{g/kg)} * \text{D}_3 \text{ AA hacmi (ml)} * \text{kons. oranı}}{\text{örnek ağırlığı (g)}} * 1000$$

konsantrasyon oranı; kalibrasyon grafiğinin çizilmesi için kullanılan alan ve konsantrasyon oranları kullanılarak Excel

programında hesaplanmıştır. Excel'de f_x içerisinde seçilen tahmin kutusunda :

x: alan oranı (her veri için)

bilinen y'ler: bütün alan oranları

bilinen x'ler: bütün konsantrasyon oranları

yazılarak hesaplanmıştır.

3.3 Renk Ölçümü

Sigara böreklerinin L, a, b değerleri Hunter aygıtı (Hunterlab renk tayin cihazı, Model: ColorFlex) kullanılarak ölçülmüştür. Ayrı yerlerden 4 ölçüm alınmış, regresyon katsayısının hesaplanmasında bu dört değer ortalama kullanılmıştır.

3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler

Her parametre için kızartılan 7 tane sigara böreğinden 2 tanesi alınıp öğütülmüş ve elde edilen yaklaşık 24 gram öğütülmüş sigara böreğinden 2 paralelde kullanılmak üzere 2'şer gram alınmıştır. Çalışmada analizler sonucu elde edilen bulgular TotemStat programı kullanılarak %99 güven aralığında varyans, LSD, ve ortogonal parçalanma analizleri (Ek 2) kullanılarak değerlendirilmiştir. Her bir yağ çeşidi için sürenin akrilamid oluşumuna etkisinin incelenmesinde süre bir doz olarak kabul

edilerek ortogonal parçalanma analizi yapılmıştır. Her bir süre için yağ çeşidinin akrilamid oluşumuna etkisinin incelenmesinde çeşit faktöründen ve çeşit sayısının 5'in altında olmasından dolayı LSD analizi yapılmıştır.

Her bir yağ çeşidi için akrilamid miktarları ve süre arasındaki ilişkiyi belirlemek ve sigara böreklerinin L, a, b değerleri ile bu değerlere karşılık gelen akrilamid miktarları arasındaki ilişkiyi incelemek için regresyon analizleri yapılmıştır. Her bir yağ çeşidi için 10 dk. kızartılan sade ve yumurtayla kaplanan sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları da histogramlarla gösterilmiştir.

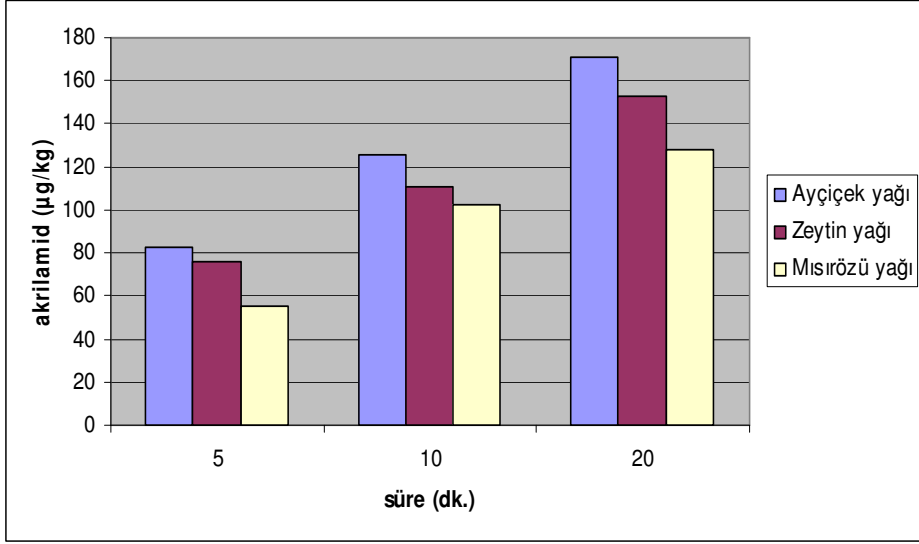
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu bölümde 175°C'de 5, 10 ve 20 dakika sürelerinde ayçiçek yağında, zeytin yağında ve mısırözü yağında kızartılan sigara börekleri metot bölümünde açıklandığı şekilde analiz edilmiş olup saptanan akrilamid miktarları tablo 4.1'de gösterilmektedir. Örneklerde saptanan akrilamid miktarlarının kızartma yağı çeşidi, kızartma süresi ve yumurta ile kaplama faktörlerine göre nasıl değiştiği aşağıda tartışılmaktadır.

Tablo 4.1. Sade sigara böreği örneklerinde saptanan akrilamid miktarları

SÜRE (dk.)	AKRİLAMİD MİKTARI ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	Ayçiçek yağı	Zeytin yağı	Mısırözü yağı
5	82,3 \pm 13,57	76,15 \pm 5,58	55,1 \pm 3,73
10	125,9 \pm 2,96	110,3 \pm 1,69	102,1 \pm 1,05
20	171,1 \pm 3,24	152,8 \pm 8,42	127,9 \pm 2,82

Hem yağ çeşitleri açısından hem de kızartma süreleri açısından sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,01$). Bununla beraber interaksiyon da önemli çıkmıştır ve bunun için yağ çeşidi ve süre faktörleri kendi aralarında incelenmiştir. Ayrıca süreye bağlı olarak sigara böreklerinde ortaya çıkan renk oluşumu ile akrilamid oluşumu arasındaki ilişki de incelenmiştir.



Şekil 4.1. Akrilamid miktarlarının süreye ve kızartma yağı çeşidine göre değişimi.

4.1. Kızartma Süresinin Akrilamid Oluşumuna Etkisi

Tablo 4.1.'den görüldüğü gibi ayçiçek yağında 5 dk. kızartılmış sigara böreklerinde akrilamid miktarı 82,3 µg/kg iken 20 dk. kızartılmış sigara böreklerinde akrilamid miktarı 171,1 µg/kg'dır. Zeytin yağında 5 dk. kızartılmış sigara böreklerinde akrilamid miktarı 76,15 µg/kg'dan 10 dk.'da 110,3 µg/kg'a, 20 dk.'da 152,8 µg/kg'a yükselmiştir. Mısırözü yağında ise 5 dk. kızartılmış sigara böreklerinde akrilamid miktarı 55,1 µg/kg, 20 dk. kızartılmış sigara böreklerinde akrilamid miktarı 127,9 µg/kg olarak saptanmıştır. Şekil 4.1.'den gözlemlendiği gibi her üç yağ çeşidi için de kızartma süresi artarken sigara böreklerinde oluşan

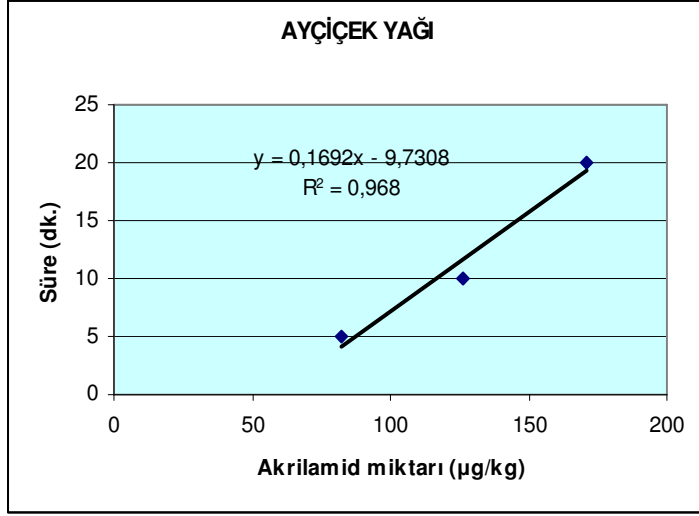
akrilamid miktarları da artmaktadır ve bu artışın lineer olduğu belirlenmiştir ($p < 0,01$). Bu lineer ilişki aynı zaman da şekil 4.2. , 4.3. ve 4.4.'de de görülmektedir.

Surdyk et al. (2004) mayalanmış buğday ekmeğiyle yaptıkları çalışmada pişirme süresinin artmasıyla akrilamid miktarının arttığını göstermişlerdir.

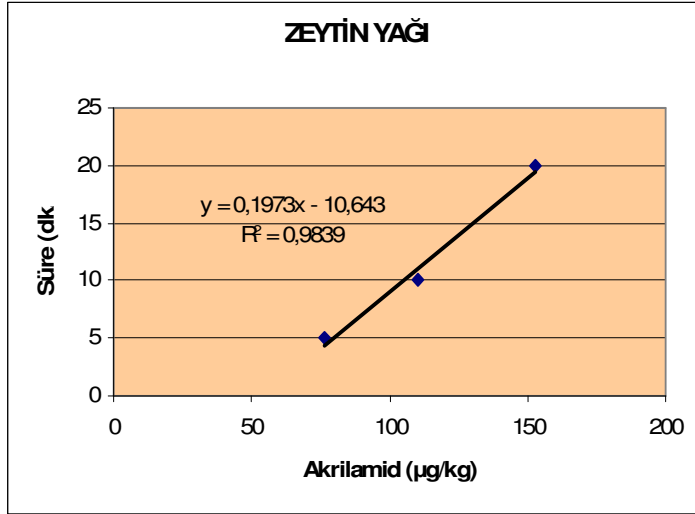
Yapılan diğer bir çalışmada patates cipsi üretiminde kızartma sıcaklığının düşürülmesinin yanı sıra kızartma süresinin de düşürülmesiyle akrilamid oluşumunda oldukça yüksek bir düşüş elde edilmiştir (Kita et al., 2004).

Rydberg et al. (2003) patatesleri fırında 200 °C'de 60 dk. boyunca pişirmişler ve 20. dk.'ya kadar oluşan akrilamid miktarının zamanla üssel bir şekilde arttığını saptamışlardır.

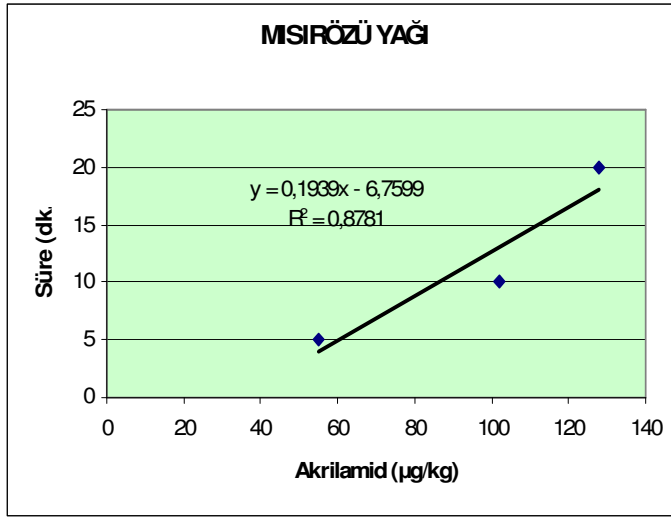
Diğer bir araştırmada da pirinç, patates ve buğday fleklerinin 180 °C'de fırında pişirilmesi sırasında akrilamid oluşumunda 10. ve 20. dakikalar arasında hızlı bir artış; 20-35 dakikalar arasında ise maksimum değere ulaşma gözlenmiştir (Elmore et al., 2005).



Şekil 4.2. Ayçiçek yağında üç farklı kızartma süresinde oluşan akrilamid miktarları arasındaki ilişki.



Şekil 4.3. Zeytin yağında üç farklı kızartma süresinde oluşan akrilamid miktarları arasındaki ilişki.



Şekil 4.4. Mısırözü yağında üç farklı kızartma süresinde oluşan akrilamid miktarları arasındaki ilişki.

4.2. Kızartma Yağı Çeşidinin Akrilamid Oluşumuna Etkisi

Tablo 4.1. ve şekil 4.1. incelendiğinde 5 dk. ayçiçek yağında, zeytin yağında ve mısırözü yağında kızartılmış sigara börekleri içerisinde en düşük akrilamid miktarının mısırözü yağında olduğu görülmektedir. Söz konusu verilere uygulanan LSD analizi sonuçlarına göre ayçiçek yağı ve zeytin yağı arasında akrilamid oluşumu açısından bir fark olmadığı ama mısırözü yağının diğer iki yağdan farklı olduğu saptanmıştır.

10 dk. ayçiçek yağında, zeytin yağında ve mısırözü yağında kızartılmış sigara börekleri içerisinde en yüksek akrilamid

miktarının ayçiçek yağında olduğu görülmektedir (Tablo 4.1 ve şekil 4.1). Söz konusu verilere uygulanan LSD analizi sonuçlarına göre zeytin yağı ve mısır özü yağı arasında bir fark olmadığı ama ayçiçek yağının diğer iki yağdan farklı olduğu saptanmıştır.

20 dk. ayçiçek yağında, zeytin yağında ve mısırözü yağında kızartılmış sigara böreklerinde oluşmuş akrilamid miktarları sırasıyla 171,1; 152,8 ve 127,9 µg/kg'dır. LSD analizi sonucuna göre 20 dk. kızartılmış sigara böreklerinde akrilamid oluşumuna yağ çeşidinin önemli bir etkisinin olduğu saptanmıştır.

Becalski et al. (2003) ve Tareke (2003) patateslerle yaptıkları çalışmada zeytinyağında kızartılan patateslerde mısırözü yağında kızartılan patateslerden daha yüksek akrilamid oluştuğunu saptamışlardır. Patateslerle yapılan diğer bir çalışmada ayçiçek yağında kızartılan patateslerde oldukça yüksek akrilamid bulunmuştur.

Patateslerle yapılan diğer bir çalışmada ayçiçek yağında kızartılan patateslerde oldukça yüksek akrilamid saptanmıştır (Gertz et al., 2002).

Gıdanın yağda kızartılması sırasında sıvı veya katı yağların ve suyun değişimi ile ilgili kütle transferi olayı meydana gelmektedir. Su buharı, gıdanın etrafında bir çeşit tampon oluşturarak ısı transferini sınırlamakta ve gıdanın sıcaklığını yağın

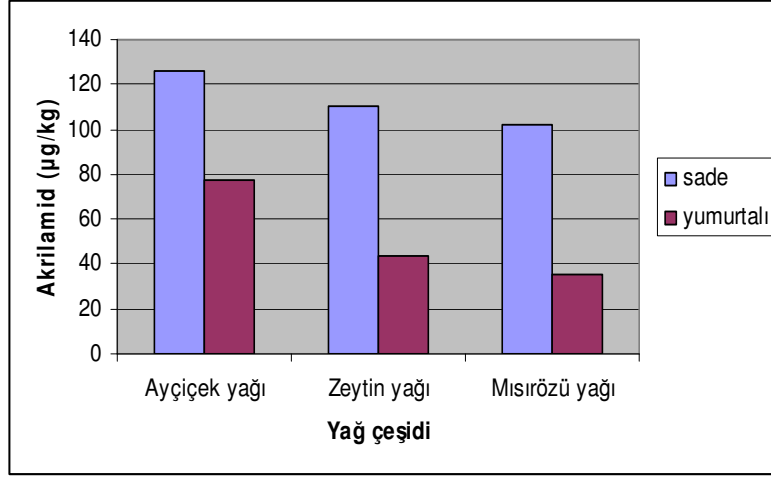
sıcaklığının altında muhafaza etmektedir. Kızartma ortamının çeşidi gıdanın etrafındaki buhar baloncuklarının boyutunu etkileyerek yüzey geriliminin değişimiyle ısı transferini etkileyebilmektedirler (Claeys et al., 2005).

4.3.Yumurtayla Kaplamanın Akrilamid Oluşumuna Etkisi

Sigara böreklerinde akrilamid oluşumu üzerine proteinlerin etkisini gözlemek amacıyla yumurtayla kaplanan sigara börekleri 10 dk ayçiçek yağında, zeytin yağında ve mısırözü yağında kızartılmış ve sade sigara böreklerinde saptanan akrilamid miktarları 10 dk. aynı yağlarda kızartılan sade sigara börekleriyle karşılaştırmalı olarak tablo 4'de verilmektedir.

Tablo 4.2. 10 dk. kızartılan sade ve yumurtalı sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları

	AKRİLAMİD MİKTARLARI (µg/kg)		
Çeşit	Ayçiçek yağı	Zeytin yağı	Mısırözü yağı
Sade	125,9	110,3	102,1
Yumurtalı	77,4	43,3	35,8



Şekil 4.5. Sade ve yumurtayla kaplanmış sigara böreklerinde akrilamid oluşum miktarının her bir yağ çeşidi için incelenmesi.

Tablo 4.2. ve şekil 4.5. incelendiğinde her üç yağ çeşidi için de yumurtayla kaplanmış sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları sade sigara böreklerine göre oldukça düşüktür. Yapılan varyans analizi sonucunda sade kızartılmış sigara börekleri ile yumurtayla kaplanarak kızartılmış sigara börekleri arasında önemli bir fark saptanmıştır ($p < 0.01$).

Ayrıca 10 dk. yumurtayla kaplanarak ayçiçek yağında, zeytin yağında ve mısırözü yağında kızartılmış sigara börekleri içerisinde en yüksek akrilamid miktarının ayçiçek yağında olduğu görülmektedir. Söz konusu verilere uygulanan LSD analizi sonuçlarına göre zeytin yağı ve mısır özü yağı arasında bir fark olmadığı ama ayçiçek yağının diğer iki yağdan farklı olduğu saptanmıştır.

Tareke et al. (2002) elde ettikleri analiz sonuçlarında ticari olarak satılan yumurta, süt ve un kullanılarak hazırlanan patates pankeklerinin diğer patates ürünlerine kıyasla oldukça düşük akrilamid içerdiğini saptamışlardır.

Vattem ve Shetty (2003) tarafından yapılan başka bir çalışmada da nohut lapasıyla muamele edildikten sonra kızartılan patates dilimlerinde oldukça düşük miktarda akrilamid oluştuğu gözlenmiştir.

4.4. Sigara Böreklerinde Renk Oluşumu İle Akrilamid Oluşumu Arasındaki İlişki

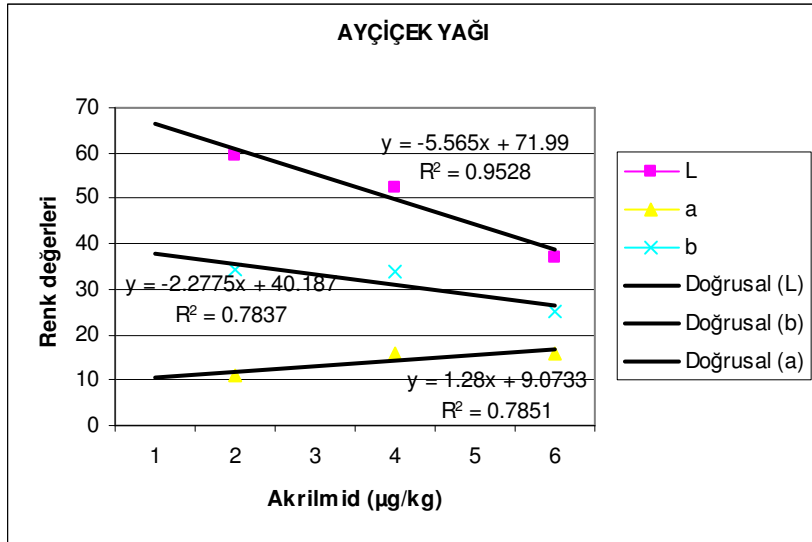
Sade ve yumurtayla kaplanarak kızartılan sigara böreklerinde Hunter renk ölçüm aygıtında llen L, a, b, değerleri tablo 4.3.'de verilmektedir. L aydınlık değeridir, a kırmızı ve yeşilliği, b sarı ve maviliği göstermektedir. Kızarmış sigara böreklerinin çekilen fotoğrafları Şekil 4.7., 4.10., 4.11. ve 4.12.'de gösterilmektedir.

Tablo 4.3. Ayçiçek yağında, zeytinyağında ve mısırözü yağında kızartılan sade ve yumurtalı sigara böreği örneklerinde Hunter L, a, b değerleri

Yağ Çeşidi	Süre (dk.)	Renk Değerleri			Akrilamid (µg/kg)
		L	a	b	
Ayçiçek Yağı	5	59,43	10,86	34,25	82,23
	10	52,59	15,74	33,84	125,9
	20*	37,17	15,98	25,14	171,1
	10*	43,46	16,84	30,68	77,4
Zeytin yağı	5	65,12	8,25	33,47	76,15
	10	53,81	15,60	34,40	110,3
	20*	36,07	15,86	24,71	152,8
	10*	49,42	15,17	33,78	43,3
Mısırözü yağı	5	67,20	8,04	32,65	55,1
	10	51,46	15,13	34,36	102,1
	20*	32,97	14,50	22,07	127,9
	10*	47,69	16,60	33,11	35,8

*

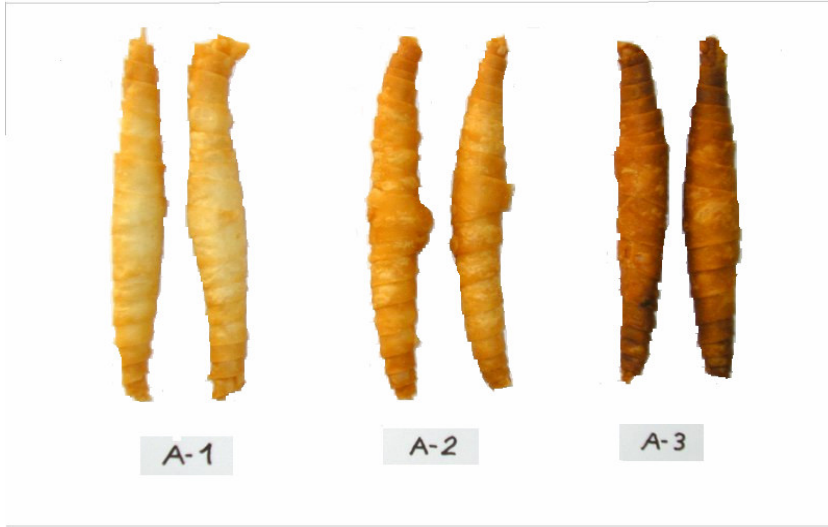
yumurta ile kaplanmış örnekler



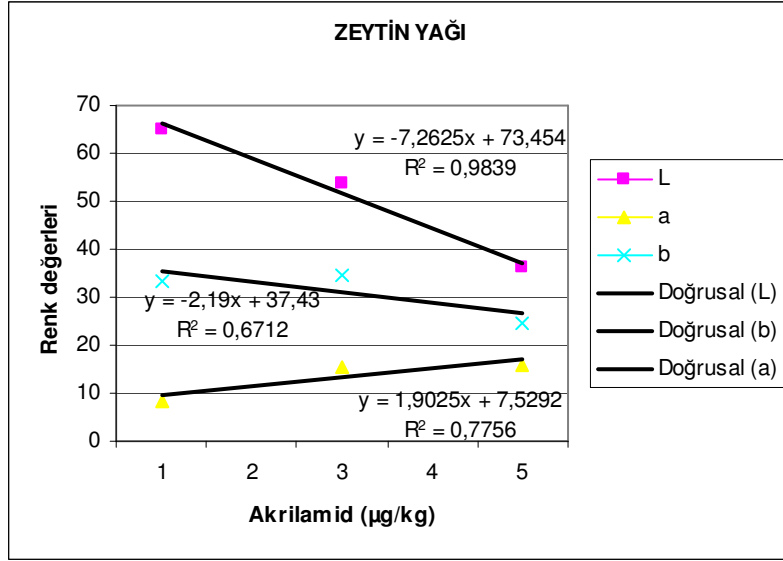
Şekil 4.6. Ayçiçek yağında kızartılan sigara böreklerinde Hunter L, a, b değerleri

Şekil 4.6.'da L, a, b değerleri incelendiğinde; lineer olarak L değeri ile akrilamid miktarı arasında yüksek regresyon katsayılı ($R^2 >0,90$) bir ilişki elde edilmiş, a ve b değerleri ile akrilamid oluşumu arasında ise orta seviyede bir regresyon katsayısı ($R^2 >0,70$) saptanmıştır.

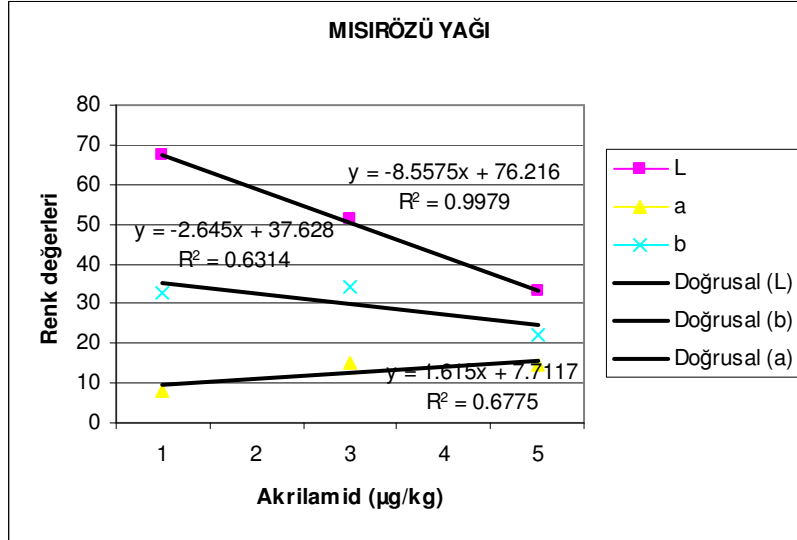
Ayçiçek yağında kızartılmış sigara böreği örneklerinin fotoğrafları Şekil 4.7.'de görülmektedir.



Şekil 4.7. Ayçiçek yağında 5, 10, 20 dk kızartılmış sigara böreklerinin fotoğrafları (A-1: 5 dk. A-2: 10 dk. A-3: 20 dk.)

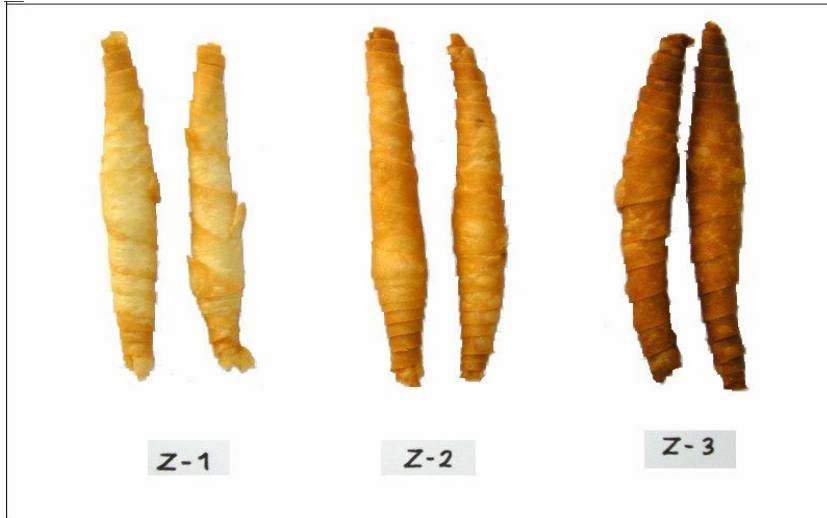


Şekil 4.8. Zeytinyağında kızartılan sigara böreklerinde Hunter L, a, b değerleri



Şekil 4.9. Mısırözü yağında kızartılan sigara böreklerinde Hunter L, a, b değerleri

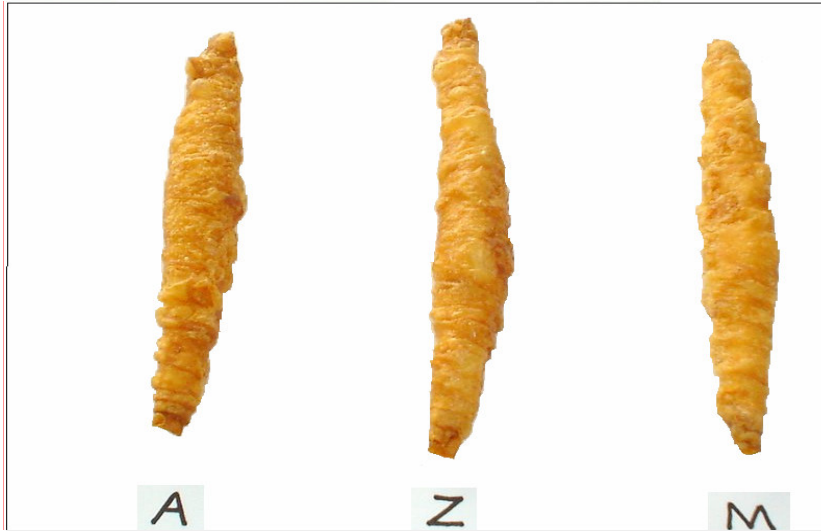
Şekil 4.8. ve Şekil 4.9.'da L, a, b değerleri incelendiğinde ise; lineer olarak L değerleri ile akrilamid miktarları arasında oldukça yüksek regresyon katsayılı bir ilişki elde edilmiş, zeytin yağında kızartılan sigara böreklerinde a değeri ile akrilamid miktarı arasında orta seviyede bir regresyon katsayısı elde edilirken b değeri ile akrilamid oluşumu arasında düşük seviyede bir regresyon katsayısı elde edilmiştir. Mısırözü yağında kızartılan sigara börekleri için ise hem a hem de b değerleri ile akrilamid miktarı arasında düşük seviyede bir regresyon katsayısı ($R^2 < 0,70$) saptanmıştır. Zeytin yağında ve mısırözü yağında kızartılmış sigara böreği örneklerinin fotoğrafları Şekil 4.9. ve Şekil 4.10.'da görülmektedir.



Şekil 4.10. Zeytinyağında 5, 10, 20 dk kızartılmış sigara böreklerinin fotoğrafları
(A-1: 5 dk. A-2: 10 dk. A-3: 20 dk.)



Şekil 4.11. Mısırözü yağında 5, 10, 20 dk kızartılmış sigara böreklerinin fotoğrafları (A-1: 5 dk. A-2: 10 dk. A-3: 20 dk.)



Şekil 4.12. Ayçiçek yağında, zeytinyağında ve mısırözü yağında yumurtayla kaplanarak kızartılmış sigara börekleri (A: Ayçiçek yağı Z: Zeytin yağı M: Mısırözü yağı)

Surdyk et al. (2004) yaptıkları çalışmada Minolta renk ölçüm aleti kullanarak hesapladıkları ΔE ($\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2$)^{1/2} değerleri doğrultusunda; ekmekler aynı ingredientlerle farklı koşullarda (sıcaklık/süre) fırında pişirildiğinde, ekmek kabuğunun akrilamid içeriğiyle rengi arasında oldukça yüksek bir ilişki ($P < 0.001$) bulunmuştur.

Taubert ve ark. (2004) ise esmerleşme seviyesinin tek başına akrilamid konsantrasyonunu belirlemede güvenilir olmadığını belirtmişlerdir ve patateslerle yaptıkları kızartma çalışmasında esmerleşme düzeyinin geniş yüzeyli ürünlerde akrilamid içeriğinin gerçek ölçüsü olmadığını göstermişlerdir.

FDA (Food and Drug Administration-Gıda ve İlaç Örgütü) tarafından ulusal diet çalışmalarından faydalanılarak 7 tip gıdada daha fazla akrilamid olduğu saptanmış olup bunlar aşağıda verilmiştir (Anon 2004a);

- Patates kızartmaları (28,3 µg/porsiyon)
- Patates cipsi: (16-18 µg/porsiyon)
- Peksimet: (9.8 µg/porsiyon)
- Kahvaltılık tahıllar: (7.3 µg/porsiyon)
- Bisküvi, kurabiye: 6.6 µg/porsiyon)
- Yumuşak ekmek: (2.2 µg/porsiyon)
- Kahve: (2 µg/porsiyon)

Burada geçen porsiyon kelimesi her ürün için farklı miktarları içermektedir. Kahvaltılık tahılın 1 porsiyonu 55 gram iken; patates cipsinin 1 porsiyonu 30 gram; kızarmış parmak patatesin 1

porsiyonu 70 gram; kahvenin 1 porsiyonu 240 gram olarak belirtilmektedir (Anon, 2006 a). Tablo 1.1. kullanılarak peksimetin 1 porsiyonu 45 gram; bisküvinin 1 porsiyonu 65 gram ;yumuşak ekmeğin 1 porsiyonu 220 gram olarak hesaplanmıştır. Tabloda gıdanın kg'ı başına içerdiği akrilamid miktarı görülmektedir. Yukarıda da gıdanın porsiyonu başına düşen akrilamid miktarları verilmiştir. Bu iki veri kullanılarak gıdanın belirtilen akrilamid miktarını içermesi için 1 porsiyonunun kaç gram olması gerektiği hesaplanmıştır.

İnsanlar için yaşam boyu tüketilen günlük akrilamid miktarının 1 µg akrilamid / kg vücut ağırlığı düzeyinde olması durumunda kanser riski 1000'de 0.7 - 4.5 arasında olmaktadır (Mucci et al., 2003). Ortalama 70 kiloda bir insanı ele alırsak; bu kişinin günde 70 µg akrilamid tüketmesi yukarıda belirtilen kanser riski aralığına girmesi anlamına gelmektedir. Bu insanın bir günde 70 µg akrilamidi vücuduna alması için örneğin;

3 porsiyon patates cipsi

2 porsiyon kahvaltılık tahıl

2 porsiyon bisküvi

tüketmesi gerekmektedir.

Mısırözü yağıyla kızartılan sigara böreğinde ortalama 95 µg/kg; ayçiçek yağıyla kızartılan sigara böreğinde ortalama 113 µg/kg akrilamid bulunmaktadır. 10 tane sigara böreği yaklaşık 100 gram gelmektedir. Sigara böreğinin 1 porsiyonunu 100 gram kabul

edersek; mısırözü yağıyla kızartılan sigara böreğinin 1 porsiyonunda 9,5 µg; ayçiçek yağıyla kızartılan sigara böreğinin 1 porsiyonunda ise 11,3 µg akrilamid bulunmaktadır. 70 kiloda olan bir insanın günde 70 µg akrilamidi vücuduna alması için; mısırözü yağıyla kızartılan sigara böreklerinden 8 porsiyon; ayçiçek yağıyla kızartılan sigara böreklerinden 6 porsiyon yemesi gerekmektedir.

Günümüzde insanların yemek yeme alışkanlıkları göz önüne alındığında bir önceki örnekte belirtilen porsiyon sayıları normaldir. Sigara börekleri ele alındığında ise bir insanın bir günde 6-8 porsiyon sigara böreği tüketme olasılığının düşük olduğu görülmektedir.

5. SONUÇ

Gıda örneği olarak sigara böreğinin seçildiği bu çalışmada; hazırlanan sigara böreklerinde kızartma işlemleri sonrasında kimyasal analizler gerçekleştirilmiş, elde edilen sonuçlar doğrultusunda ise sigara böreklerinde akrilamid oluşumuna kızartma süresinin, kızartma yağı çeşidinin ve yumurtayla kaplamanın etkisi incelenmiş bunun yanında akrilamid oluşumu ile sigara böreklerinin L, a, b değerleri arasındaki ilişki incelenmiştir.

Sigara börekleri 175 °C'de 5, 10 ve 20 dk. ayçiçek yağında, zeytinyağında ve mısırözü yağında kızartılması sonucunda;

- Her üç yağ çeşidi için de kızartma süresi artarken sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları da artmaktadır ve

lineer olarak yüksek regresyon katsayılı ($R_2 > 0,90$) bir ilişki elde edilmiştir ve bu lineer ilişki varyans analizi ile de belirlenmiştir ($p < 0,01$).

- En düşük akrilamid miktarı ($55,1 \mu\text{g}/\text{kg}$) mısırozü yağında; en yüksek akrilamid miktarı ($171,1 \mu\text{g}/\text{kg}$) ise ayçiçek yağında saptanmıştır.
- Her üç yağ çeşidi için de yumurtayla kaplanmış sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarları sade sigara böreklerine göre oldukça düşüktür. Yapılan varyans analizi sonucunda sade kızartılmış sigara börekleri ile yumurtayla kaplanarak kızartılmış sigara börekleri arasında önemli bir fark saptanmıştır ($p < 0,01$). Yumurtayla kaplanarak 10 dk. ayçiçek yağında, zeytin yağında ve mısırozü yağında kızartılmış sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarlarının, yumurtayla kaplanmadan 5 dk. kızartılmış sigara böreklerinde oluşmuş akrilamid miktarlarına oldukça yakın olduğu dikkat çekmiştir. Akrilamid oluşum miktarındaki azalma yüzdelerinin ayçiçek yağında %38.52, zeytinyağında %63.46 ve mısır özü yağında %64.94 olduğu tespit edilmiştir.
- Hür üç yağ çeşidi için de sade sigara böreklerinde L (aydınlık) değeri düştükçe akrilamid miktarının arttığı saptanmıştır.

Yapılan bu çalışma ile geleneksel bir gıda çeşidimiz olan sigara böreklerinde kızartma esnasında oluşan akrilamid miktarları ve azaltılması konusunda genel bir fikir edinilmiş olup; bu çalışmanın devamında söz konusu ürünlerde oluşan akrilamid miktarının azaltılması için değişik pişirme yöntemleri ve kaplama maddeleri ile de çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

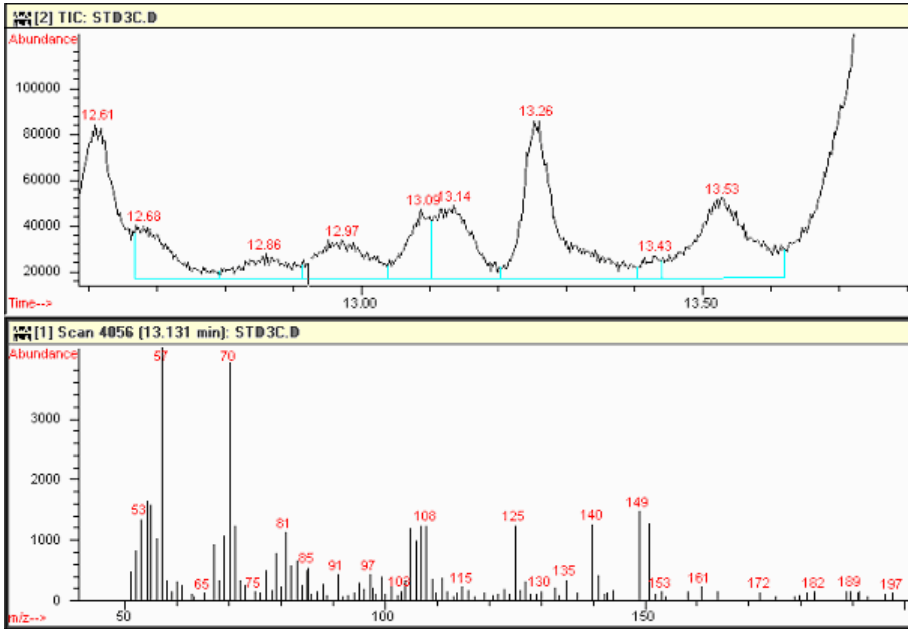
Öneriler;

Sigara börekleri yağda kızartılırken;

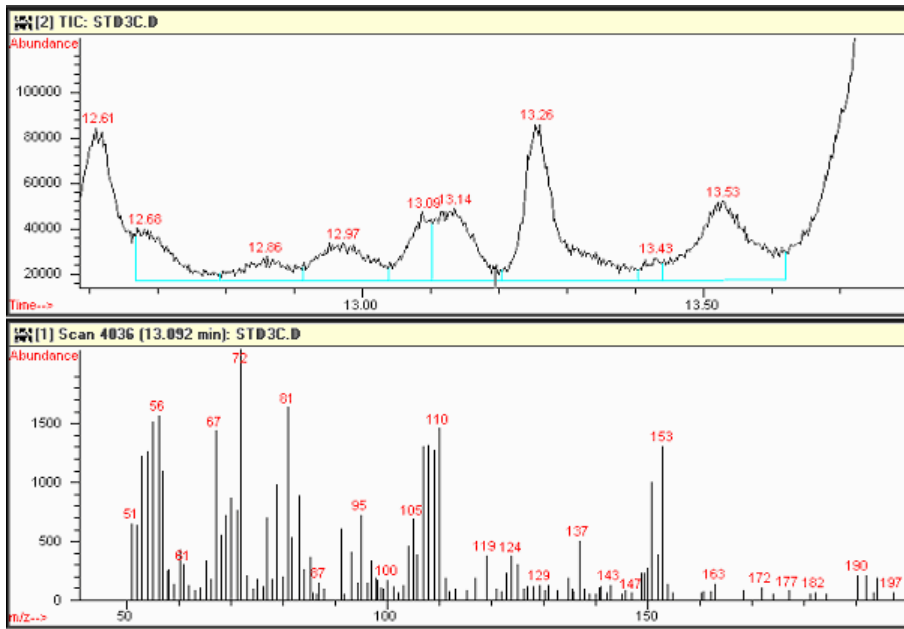
- 175 °C'de 5 dakika tutulmalıdır.
- Kızartma yağı olarak mısırözü yağının kullanılmalıdır,
- Yumurtayla kaplama işlemi, oluşan akrilamid miktarını azalttığından dolayı tercih edilmelidir.
- Bu çalışma ileride daha fazla örnekle tekrar edilmelidir.
- Bu çalışmada kullanılan yağlara ilave olarak zeytinyağı kadar besleyici değeri son yıllarda ortaya çıkan fındık yağı da eklenerek benzer bir çalışma yapılabilir.

EK 1 STANDART VE ÖRNEKLERE AİT GAZ KROMATOĞRAFİSİ KÜTLE SPEKTROMETRİSİ KROMATOGRAMLARI

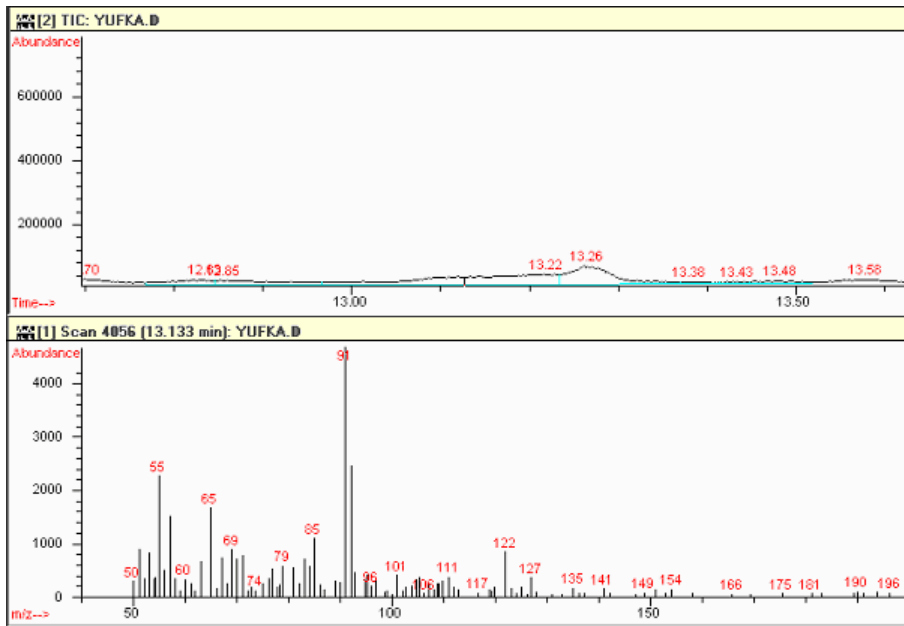
Scan Modunda Standart ve Örnekler Ait Spektrumlar



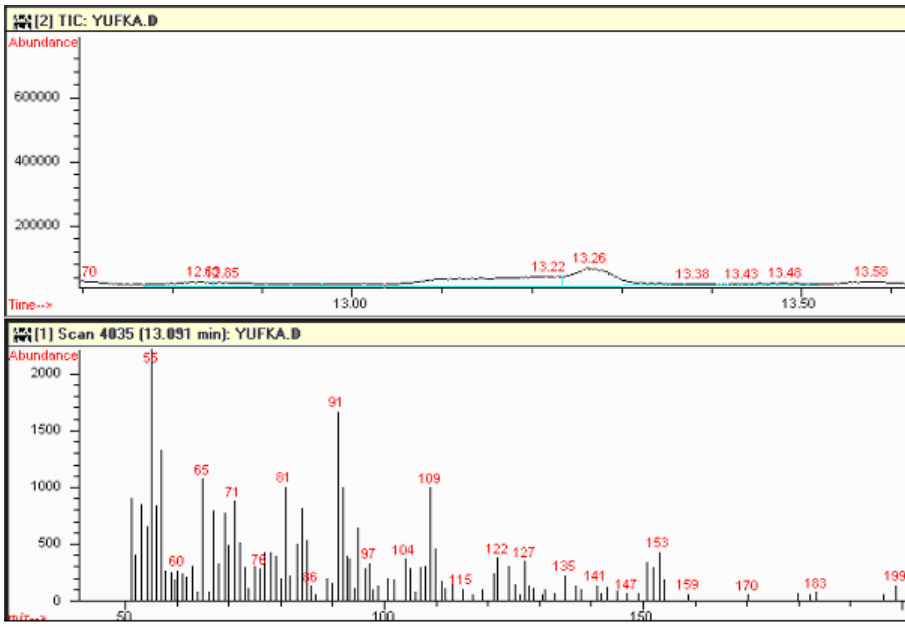
Akrilamid standardının 13.131. dakikadaki spektrumu



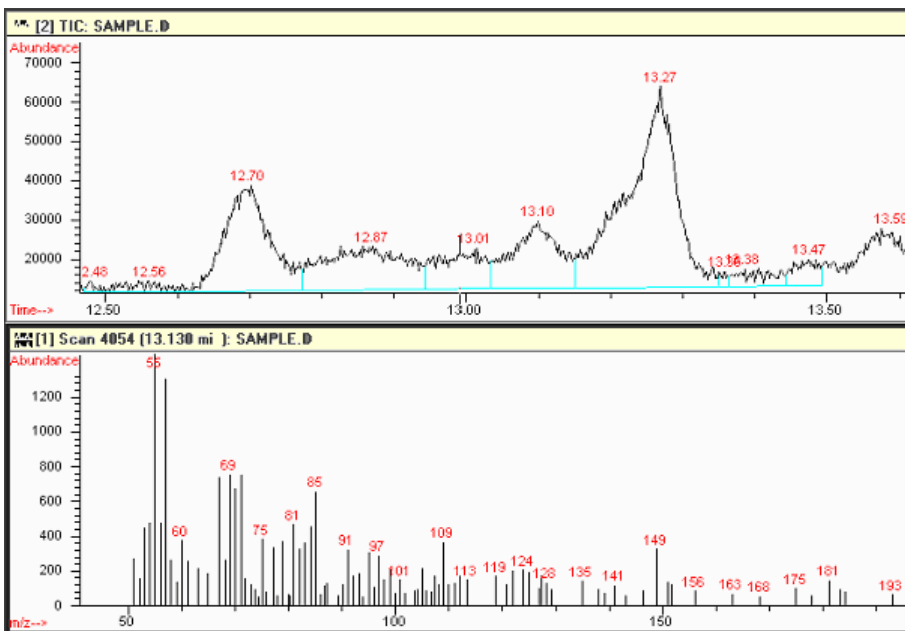
D₃- Akrilamid standardının 13.092. dakikadaki spektrumu



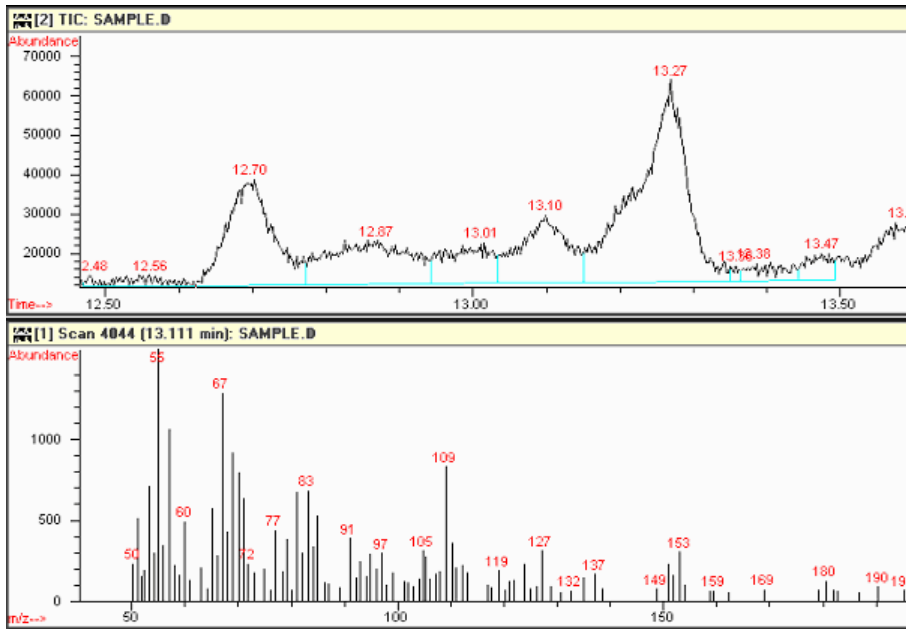
Yufkada akrilamidin 13.133. dakikadaki spektrumu



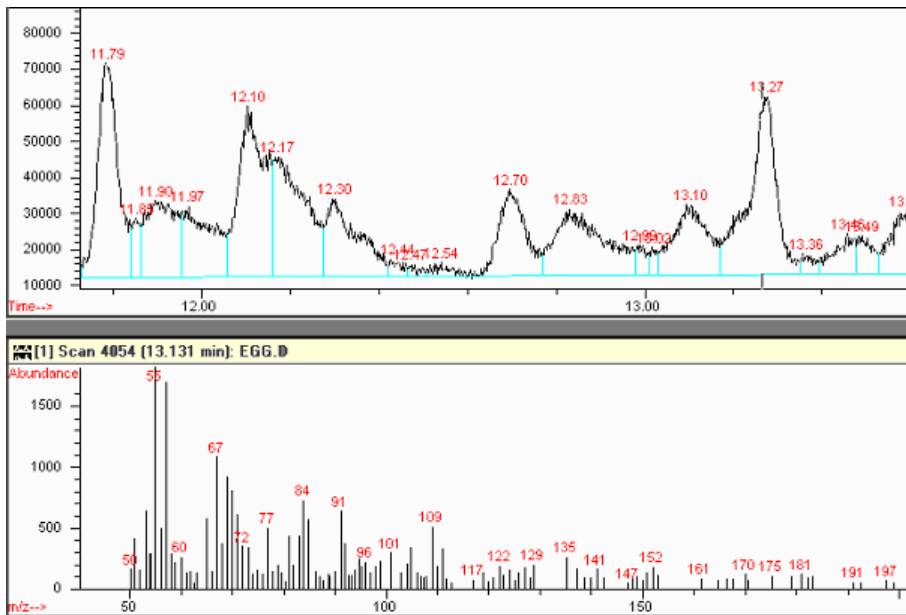
Yufkada D₃- akrilamidin 13.091. dakikadaki spektrumu



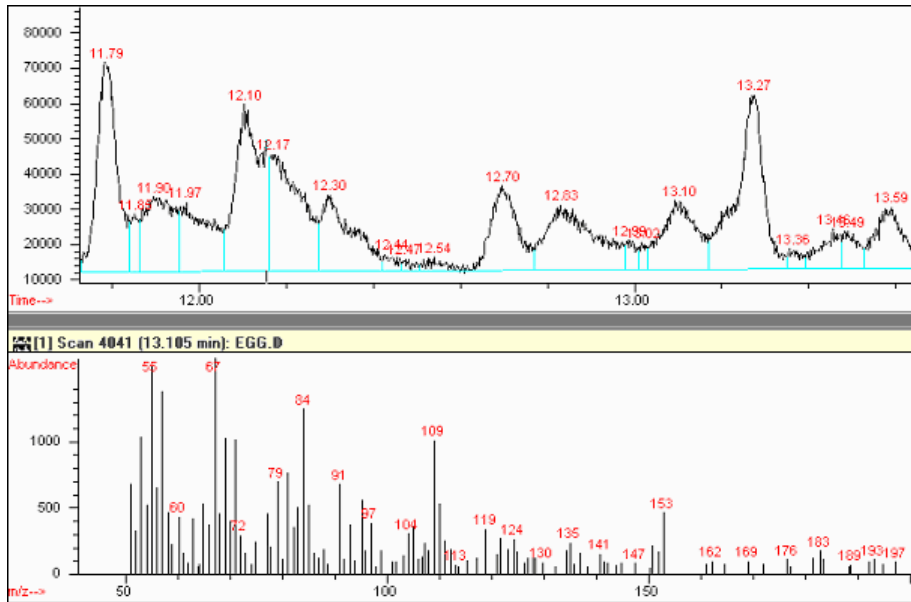
Sigara böreğinde akrilamidin 13.130. dakikadaki spektrumu



Sigara böreğinde D₃- akrilamidin 13.111. dakikadaki spektrumu

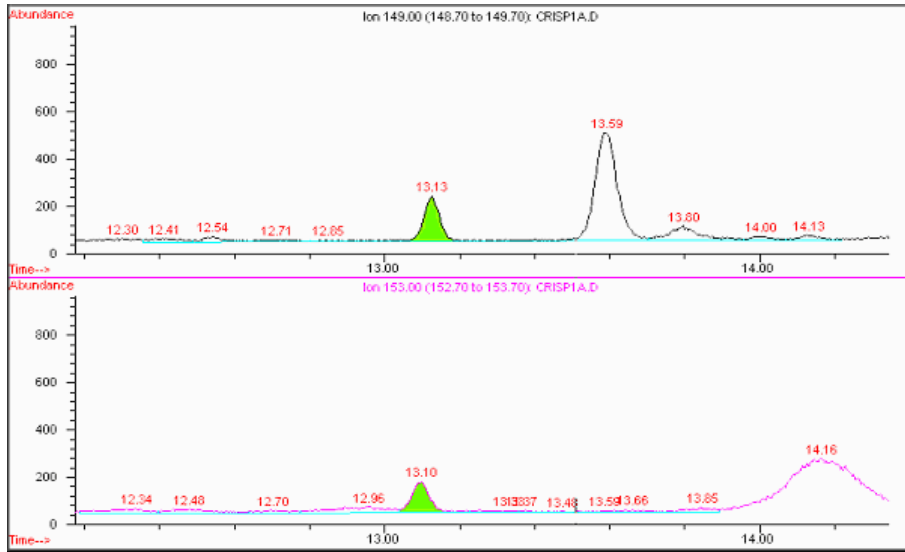


Yumurtalı Sigara böreğinde akrilamidin 13.130. dakikadaki spektrumu

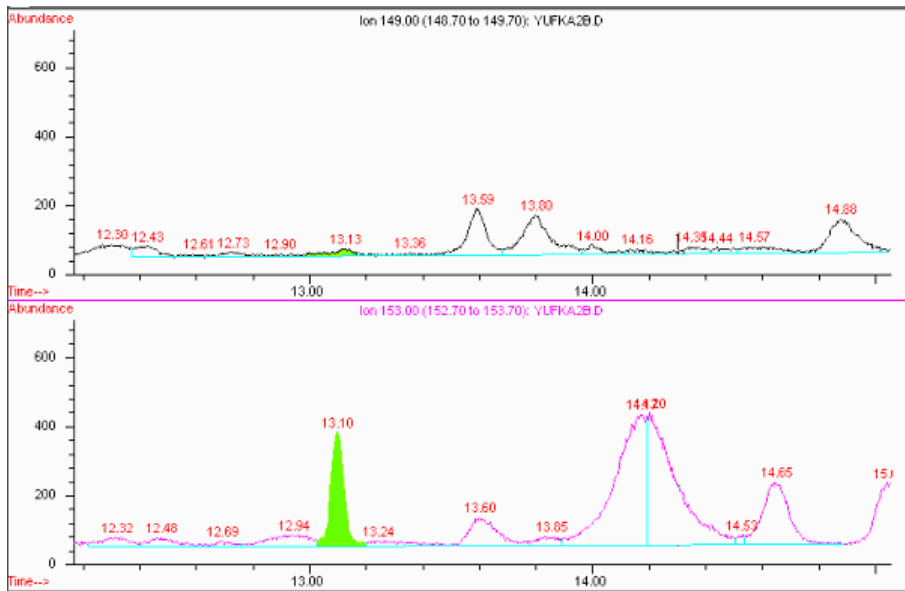


Yumurtalı sigara böreğinde D₃-akrilamidin 13.111. dakikadaki spektrumu

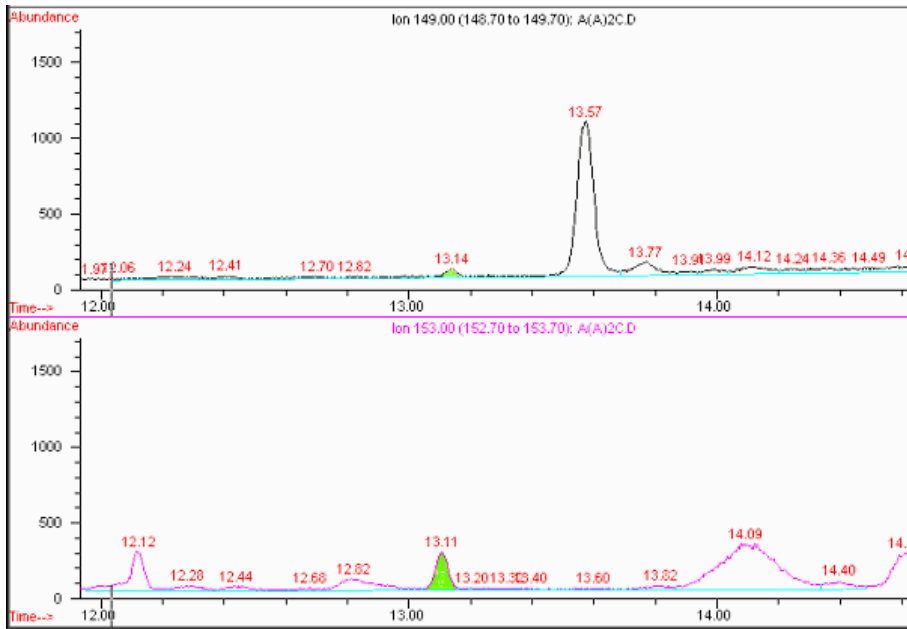
Sim Modunda Standart ve Örneklere Ait Akriamid(üst) ve D₃-Akrilamid (alt) Pik Alanları



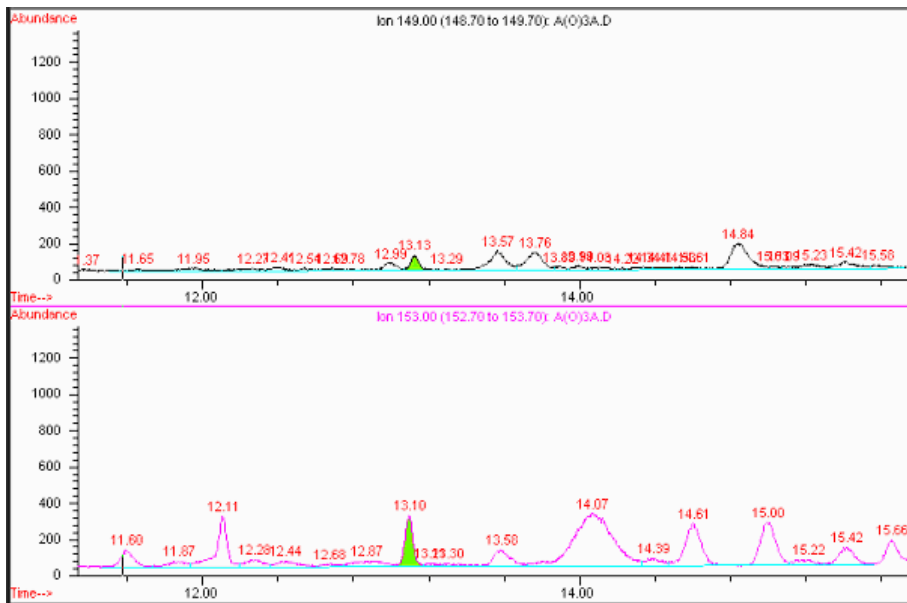
Standart örnekte, kızarmış ekmekte akrilamid ve D₃ – akrilamid



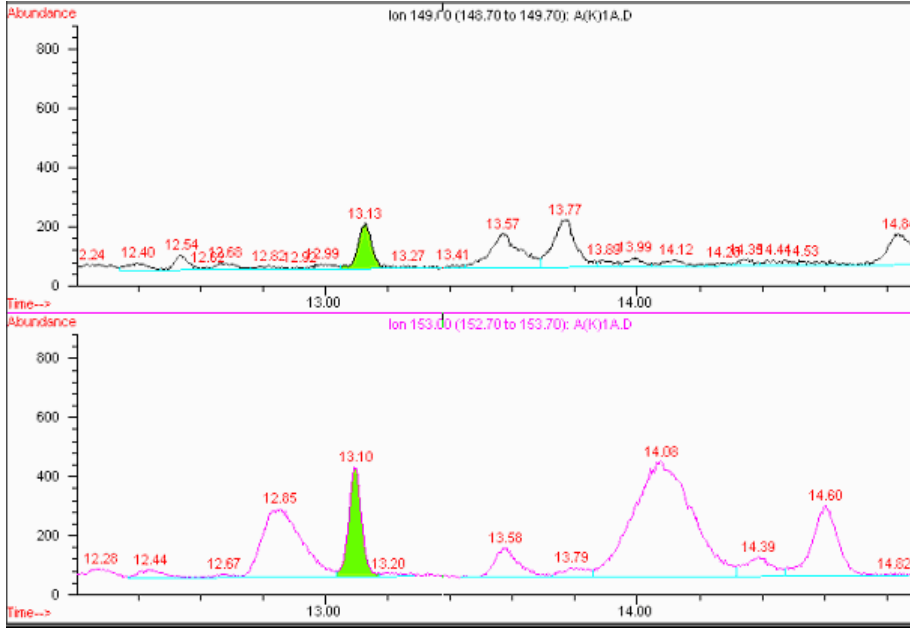
Yufkada akrilamid ve D₃ – akrilamid



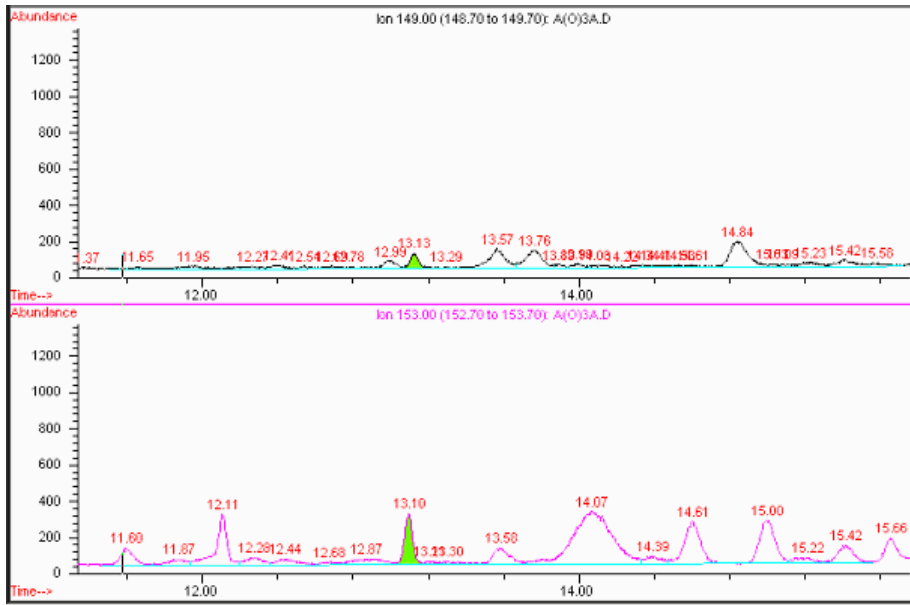
Ayçiçek yağında açık renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid ve D₃-akrilamid



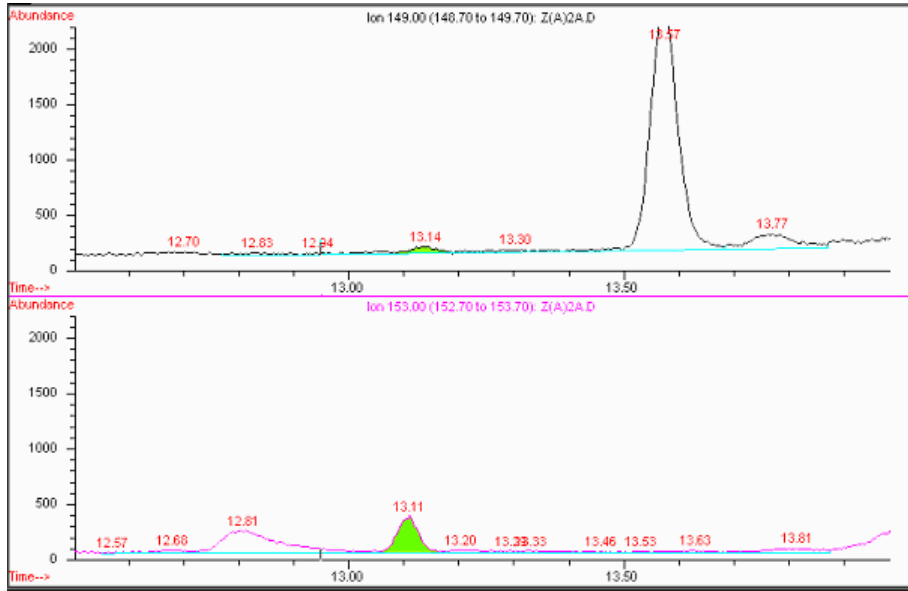
Ayçiçek yağında orta renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid ve D₃-akrilamid



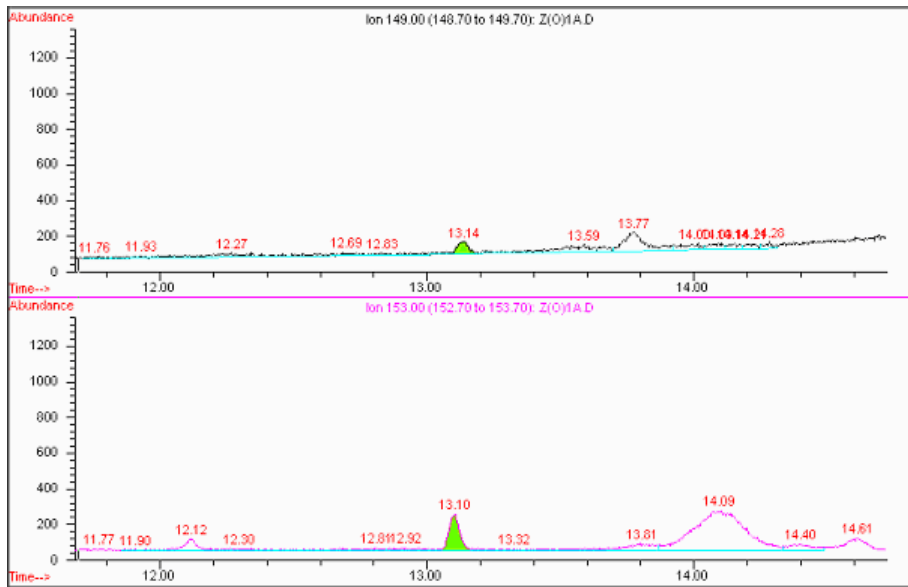
Ayçiçek yağında koyu renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃-akrilamid



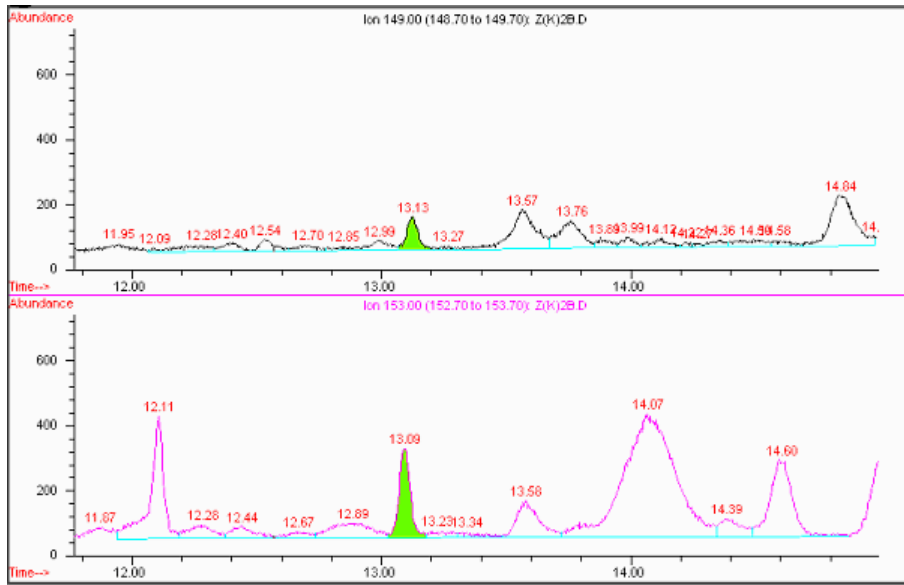
Ayçiçek yağında yumurtayla kaplanarak kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃-akrilamid



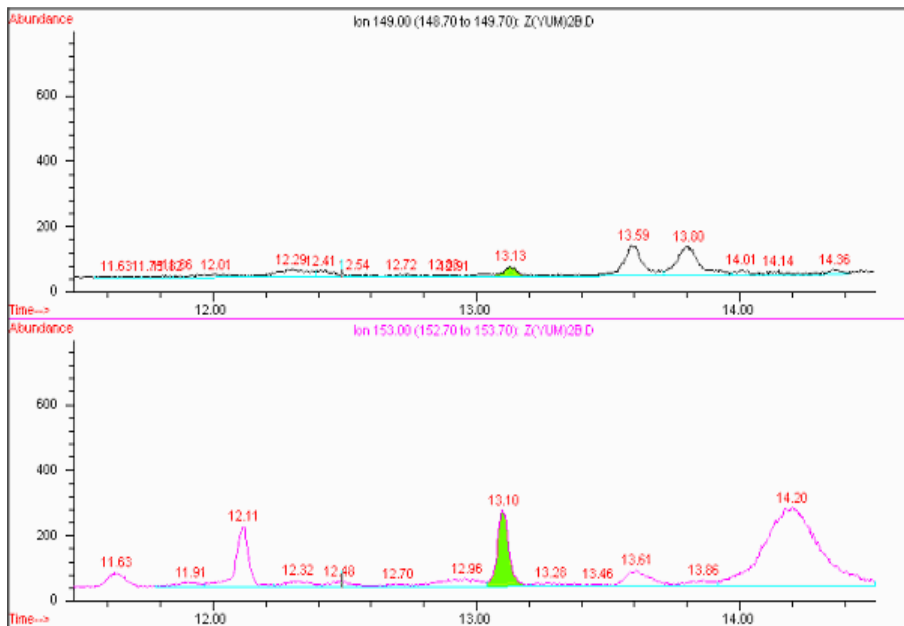
Zeytin yağında açık renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃- akrilamid



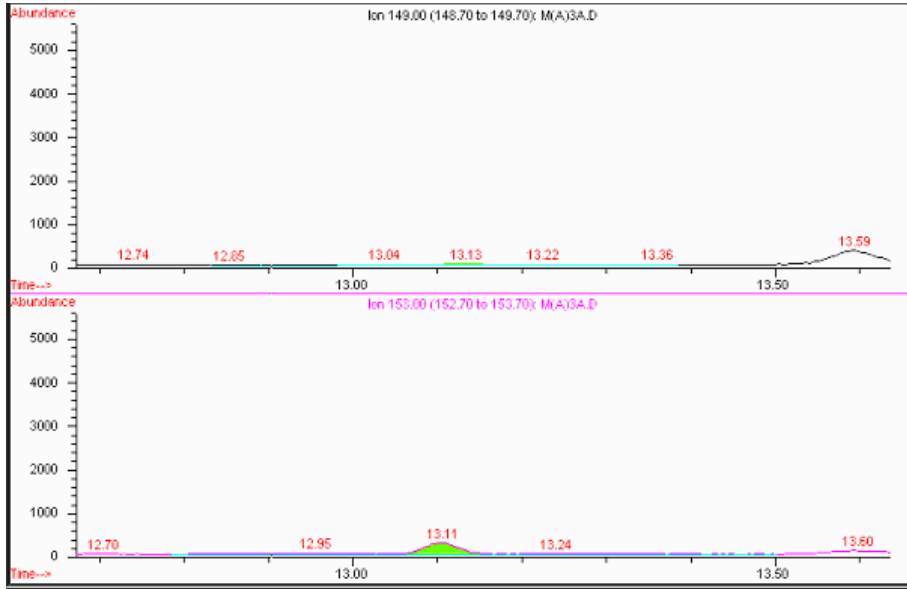
Zeytin yağında orta renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃- akrilamid



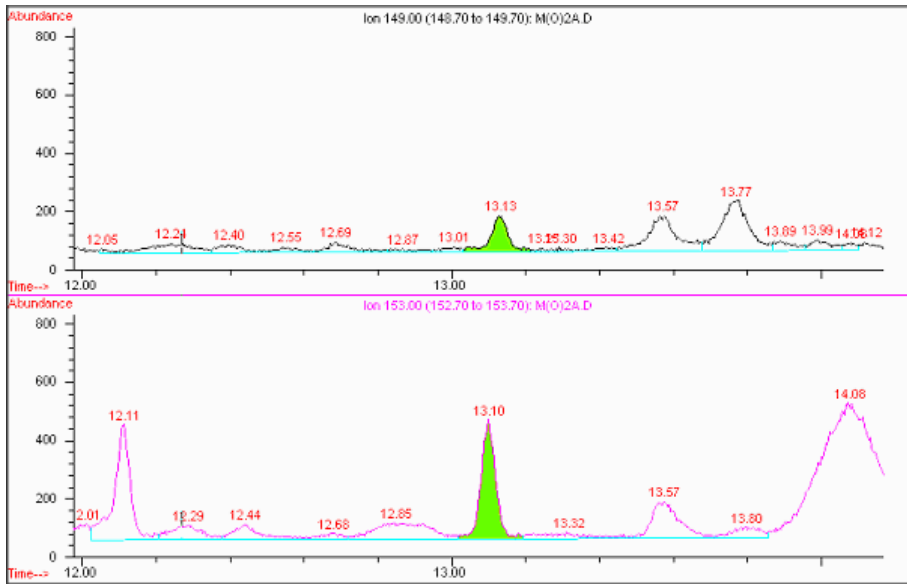
Zeytin yağında koyu renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃-akrilamid



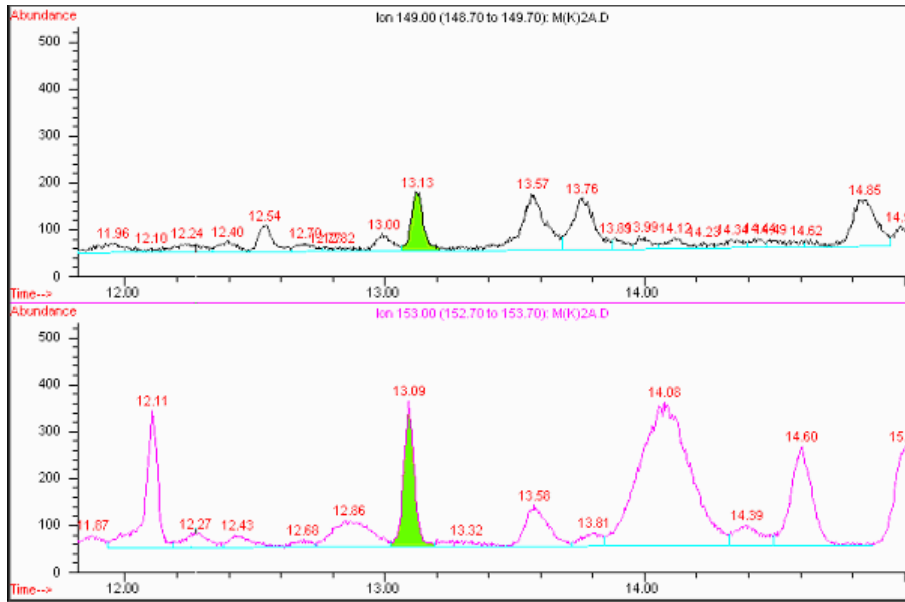
Zeytin yağında yumurtayla kaplanarak kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃-akrilamid



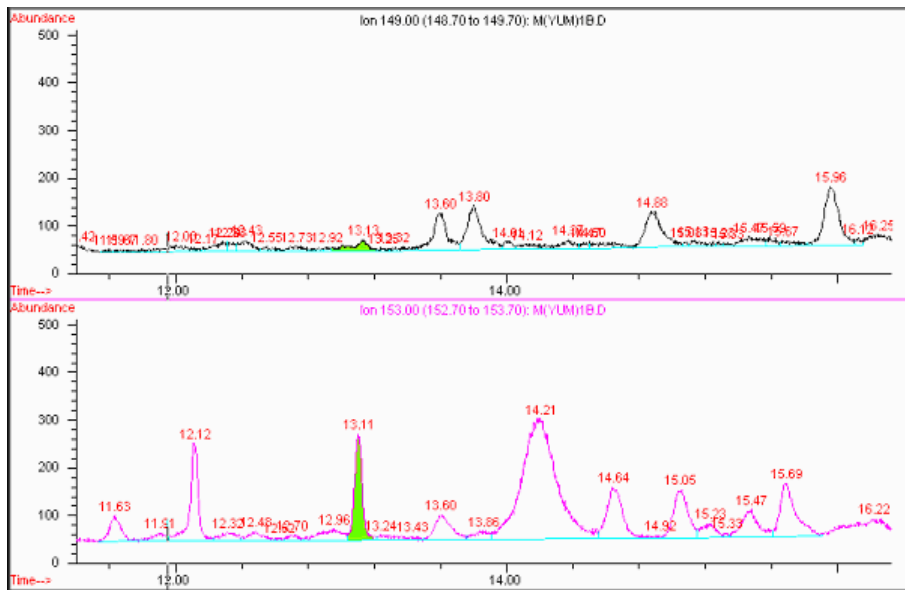
Mısırozü yağında açık renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃-akrilamid



Mısırozü yağında orta renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D₃-akrilamid



Mısırözü yağında koyu renkte kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D_3 -akrilamid



Mısırözü yağında yumurtayla kaplanarak kızartılmış sigara böreğinde akrilamid'in ve D_3 -akrilamid

EK 2 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

Kızartma Süresi ve Kızartma Yağı Çeşidi ile Akrilamid miktarı Arasındaki İstatistiksel İlişkiler

Dosya adı: EVRIM.DBF
 Model : İki Faktörlü Tesadüf Blokları.
 Analiz Tarihi: 27 Temmuz 2006, Perşembe
 Kullanılan Değişkenler
 Tekerrür: TEKRAR
 Faktör A: YAG
 Faktör B: SURE
 Analiz edilen karakter: AA_MIK

VARYANS ANALİZ TABLOSU

Varyasyon Kaynağı	Serb. Der.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Bulunan	F Olasılık %5	F Olasılık %1
TEKRAR	1	0,087	0,087	0,004 ns	5,320	11,260
YAG	2	2977,289	1488,644	76,593 **	4,460	8,650
SURE	2	18791,241	9395,621	483,417 **	4,460	8,650
A * B	4	346,954	86,738	4,463 *	3,840	7,010
HATA	8	155,487	19,436			
GENEL	17	22271,057				

Varyasyon Katsayısı = %3,96_

ns = Önemsiz

* = Önemli (Alfa %5 seviyesinde)

** = Önemli (Alfa %1 seviyesinde)

Dosya adı: genel.txt
 Analiz Tarihi: 27 Temmuz 2006, Perşembe

Analiz edilen karakter: AA_MIK

Kullanılan Değişkenler ve Seviyeleri
 YAG 1., seviyesi altında SURE

ORTOGONAL PARÇALANMA ANALİZ TABLOSU

Varyasyon Kaynağı	Serb. Der.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Bulunan	F Olasılık %5	F Olasılık %1
Linear	1	5256,960	5256,960	270,477 **	5,320	11,260
Quadratic	1	0,569	0,569	0,029 ns	5,320	11,260
HATA	8	155,487	19,436			

ns = Önemsiz

* = Önemli (Alfa %5 seviyesinde)

** = Önemli (Alfa %1 seviyesinde)

Dosya adı: genel.txt

Analiz Tarihi: 27 Temmuz 2006, Perşembe

Analiz edilen karakter: AA_MIK

Kullanılan Değişkenler ve Seviyeleri

YAG 2., seviyesi altında SURE

ORTOGONAL PARÇALANMA ANALİZ TABLOSU

Varyasyon Kaynağı	Serb. Der.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Bulunan	F Olasılık %5	F Olasılık %1
Linear	1	3830,427	3830,427	197,080 **	5,320	11,260
Quadratic	1	37,267	37,267	1,917 ns	5,320	11,260
HATA	8	155,487	19,436			

ns = Önemsiz

* = Önemli (Alfa %5 seviyesinde)

** = Önemli (Alfa %1 seviyesinde)

Dosya adı: genel.txt
 Analiz Tarihi: 27 Temmuz 2006, Perşembe

Analiz edilen karakter: AA_MIK

Kullanılan Değişkenler ve Seviyeleri
 YAG 3., seviyesi altında SURE

ORTOGONAL PARÇALANMA ANALİZ TABLOSU

Varyasyon Kaynağı	Serb. Der.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Bulunan	F Olasılık %5	F Olasılık %1
Linear	1	3533,227	3533,227	181,789 **	5,320	11,260
Quadratic	1	100,347	100,347	5,163 ns	5,320	11,260
HATA	8	155,487	19,436			

ns = Önemsiz

* = Önemli (Alfa %5 seviyesinde)

** = Önemli (Alfa %1 seviyesinde)

Çoklu t - testi

 Test Edilen Karakter =>AA_MIK
 Kullanılan Değişkenler
 SURE 1., seviyesi altında YAG

Orijinal Sıra	Büyükklüğe Göre
1 82,250	1 82,250 A
2 76,950	2 76,950 A
3 55,025	3 55,025 B

HKO = 19,436
LSD = 10,166

Çoklu t - testi

 Test Edilen Karakter =>AA_MIK
 Kullanılan Değişkenler
 SURE 2., seviyesi altında YAG

Orijinal Sıra	Büyükklüğe Göre
1 125,850	1 125,850 A
2 108,375	2 108,375 B
3 102,050	3 102,050 B

HKO = 19,436
LSD = 10,166

Çoklu t - testi

 Test Edilen Karakter =>AA_MIK
 Kullanılan Değişkenler
 SURE 3., seviyesi altında YAG

Orijinal Sıra	Büyükklüğe Göre
1 171,050	1 171,050 A
2 152,750	2 152,750 B
3 127,825	3 127,825 C

HKO = 19,436
LSD = 10,166

Sade ve Yumurtalı Örneklerde Oluşan Akrilamid Miktarları Arasındaki İstatistiksel İlişkiler

Dosya adı: EVRIM2.DBF

Model : İki Faktörlü Tesadüf Blokları.

Analiz Tarihi: 27 Temmuz 2006, Perşembe

Kullanılan Değişkenler

Tekerrür: TEKRAR

Faktör A: SD_/_YMT

Faktör B: YAĞ

Analiz edilen karakter: AA_MIK

VARYANS ANALİZ TABLOSU

Varyasyon Kaynağı	Serb. Der.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Bulunan	F Olasılık %5	F Olasılık %1
TEKRAR	1	21,735	21,735	0,822 ns	6,610	16,260
SD_/_YMT	1	11822,102	11822,102	447,278 **	6,610	16,260
YAĞ	2	1768,070	884,035	33,447 **	5,790	13,270
A * B	2	52,464	26,232	0,992 ns	5,790	13,270
HATA	5	132,156	26,431			
GENEL	11	13796,527				

Varyasyon Katsayısı = %6,37

ns = Önemsiz

* = Önemli (Alfa %5 seviyesinde)

** = Önemli (Alfa %1 seviyesinde)

Çoklu t - testi

Test Edilen Karakter =>AA_MIK
Kullanılan Değişkenler
SD_/_YMT

Orijinal Sıra	Büyüklüğe Göre
1 112,092	1 112,092 A
2 49,317	2 49,317 B

HKO = 26,431

LSD = 7,631

Çoklu t - testi

Test Edilen Karakter =>AA_MIK
Kullanılan Değişkenler

YAĞ

-----		-----	
Orijinal Sıra		Büyükliğe Göre	
-----		-----	
1	97,400	1	97,400 A
2	75,813	2	75,813 B
3	68,900	3	68,900 B

HKO = 26,431

LSD = 9,346

EK 3: Her Enjeksiyon İçin Hesaplanan AA Miktarları,Ortalamaları ve Standart Sapmaları

Örnek	Akrilamid mik. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Ort. akrilamid mik. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Standart sapma
cb1	641,7	662,1	28,85411367
cb2	682,5		
aa1A	98,1	82,3	13,55105329
aa1A	77,9		
aa1B	66,1		
aa1B	86,9		
ao1A	121,7	125,9	2,99013988
ao1A	128,7		
ao1B	126,4		
ao1B	126,6		
ak1A	172,7	171,05	3,278953915
ak1A	168,5		
ak1B	174,8		
ak1B	168,2		
za1A	82,3	77,03	5,584741884
za1A	70,0		
za1B	80,6		
za1B	75,2		

zo1A	110,9	109,01	1,662691407
zo1A	109,7		
zo1B	108,5		
zo1B	107,0		
zk1A	153,4	152,75	8,414753446
zk1A	141,5		
zk1B	161,9		
zk1B	154,2		
ma1A	50,8	55,0	3,723801065
ma1A	54,1		
ma1B	55,4		
ma1B	59,8		
mo1A	101,7	102,0	1,057778897
mo1A	103,5		
mo1B	102,0		
mo1B	101,0		
mk1A	129,4	127,8	2,795596179
mk1A	130,6		
mk1B	124,2		
mk1B	127,1		
ay1A	59,9	68,9	10,52462951
ay1A	61,1		
ay1B	82,2		

ay1B	72,6		
zy1A	42,9	43,3	1,135302439
zy1A	41,8		
zy1B	44,4		
zy1B	43,9		
my1A	35,6	35,8	0,823913905
my1A	34,8		
my1B	36,8		
my1B	35,8		
yufka1	14,7	15,9	0,846042523
yufka1	16,0		
yufka2	16,7		
yufka2	16,1		

cb: Peksimet (standart örnek)

aa: Ayçiçek açık;

za: Zeytinyağı açık

ma: Mısırozü yağı açık

ao: Ayçiçek orta;

zo: Zeytinyağı orta

mo: Mısırozü orta

ak: Ayçiçek koyu

zk: Zeytinyağı koyu

mk: Mısırozü koyu

1: Birinci paralel;

2: İkinci paralel;

A: Birinci enjeksiyon

B: İkinci enjeksiyon

KAYNAKLAR DİZİNİ

Anonymous, 2002a, Risk Assessment of Acrylamide Intake From Foods With Special Emphasis on Cancer Risk, Report from the Scientific Committee of the Norwegian Food Control Authority, 6 June 2002, <http://www.snt.no/nytt/tema/Acrylamid/acrylamide.pdf>

Anonymous, 2002b, Elisabeth Borch, Acrylamide in staple food A summary of the April 2002 alert in Sweden, SIK-The Swedish Institute for Food and Biotechnology, 2002-04-25, http://www.highbeam.com/library/doc0.asp?docid=1G1:80061717&refid=ink_d8&skeyword=&teaser=

Anonymous, 2002c, Food Standards Agency Study of Acrylamide in Food Background Information&Research Findings pres Briefings, 17.05.2002, <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/acrylamideback.pdf>

Anonymous, 2002d, Acrylamide in Food, National Food Administration, updated 03.03.2003, <http://www.slv.se/engdefault.asp>

Anonymous, 2002e, Acrylamide and Food, Questions and Answers, http://www.hcsc.gc.ca/food-aliments/cs-ipc/chha-edpcs/e_aceylemide_and_food.html

Anonymous, 2002f, Who to hold urgent expert consultation on acrylamide in food after findings of Swedish National Food Administration, pres Release WHO/32, 26 April 2002, <http://www.who.int/inf/en/pr-2002-32.html>

Anonymous, 2003a, Acrylamide, U.S. Environmental Protection Agency, February 12 th, 2003, <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/acrylami.htm>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Anonymous, 2003b, Dedection and Quantitation of Acrylamide in Foods/U.S. Department of Health and Human Services (U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition Office of Plant and Dairy Foods and Beverages/February 24, 2003/ www.cfsan.fda.gov

Anonymous, 2003c, Lützow M. (FAO), Moy G.(WHO), FAO/WHO Consultation on Health Implications of Acrylamide in Food, Tanzania, 10.03.2003, <http://www.fao.org/es/ESN/jecfa/acrylamide/program.htm>

Anonymous, 2003d, Acrylamide, U.S. Environmental Protection Agency, February 12 th, 2003, <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/acrylami.html>

Anonymous, 2004a, FDA Action Plan for Acrylamide in Food, March 2004, <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/pestadd.htm1#acrylamide>

Anonymous, 2005a, Summary and conclusions from the 64th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Rome, 8-17 February 2005, <http://www.who.int/foodsafety/chem/chemicals/acrylamide/en>

Anonymous, 2005b, Avrupa Birliği Heatox projesi, National Chemical Laboratory in Athens in Greece.

Anonymous,2006a, www.cfsan.fda.gov/~dms/acryexpo/acryexpo.ppt-06-21-2006.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Adler, I. D.; Schmid, T. E.; Baumgartner, A.** 2002, Induction of aneuploidy in male mouse germ cells detected by the sperm-FISH assay: a review of the presented data base. *Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutagens.* 504, 173-182 (Friedman, 2003'den).
- Andrzejewski, D., Roach, J., Gay, M., and Musser, S.** 2004, Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1996-2000.
- Amrein, T. M.; Bachmann, S.; Noti, A.; Biedennann, M.; Barbosa, M. F.; Biedermann-Brem, S.; Grob, K; Keiser, A.; Realini, P.; Escher, F.; Amado, R.** 2003, Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5556-5560.
- Amrein, T. M.; Schönbiichler, B.; Escher, F.; Amado, R.** 2004, Acrylamide in gingerbread: Critical factors for formation and possible ways for reduction. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4282-4288.
- Becalski, A.; Lau, B. P. Y.; Lewis, D.; Seaman, S. W.** 2003, Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *J. Agric. Food Chem.* 51, 802-808.
- Becalski, A.; Lau, B. P. Y.; Lewis, D.; Seaman, S. W.; Hayward, S.; Saligian, M.; Ramesh, M.; Leeler, Y.** 2004, Acrylamide in french fries: influence of free amino acids and sugars. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3801-3806.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Biedermann, M.; Biedermann-Brem, S.; Noti, A.; Grob, K.** 2002, Methods for determining the potential formation and its elimination in raw materials for food preparation, such as potatoes. *Mill. Geb. Lebensm. Un/ers. Hyg.* 93, 653-667.
- Biedermann, M., and Grob, K.** 2003, Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch; ways to reduce acrylamide contents in bakery ware. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 94, 406-422.
- Brathen, E.; Knutsen, S. H.** 2005, Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in a starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chem.* in press.
- Calleman, C. J.; Bergmark, E.; Stern, L. G.; Costa, I. G. A** 1993, nonlinear dosimetric model for hemoglobin adduct formation by the neurotoxic agent acrylamide and its genotoxic metabolite glycidamide. *Environ. Health Perspect*, 99, 221-223. (Friedman, 2003'den).
- Chapin, R. E.; Fail, P. A.; George, J. D.; Grizzle, T. B.; Heindel, J. J.; Harry, G. J.; Collins, B. J.; Teague, J.** 1995, The reproductive and neural toxicities of acrylamide and three analogues in Swiss mice, evaluated using the continuous breeding protocol. *Fundam. Appl. Toxicol.* 27, 9-24
- Claeys, W. L.; Vleeschouwer, K. D.; Hendrickx, M. E.** 2005 Quantifying the formation of carcinogens during food processing: acrylamide. *Trends in Food Science & Technology* 16 181-193

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Costa, L. G.** 1996, Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations. *Environ. Health Perspect*, 104 (Suppl. 1, 55-67 (Friedman, 2003'den).
- Dybing E. And Sanner T.** 2003, Risk Assesment of Acrylamide in Foods, *Toxicological Sciences*, Vol. 75, 7-15 Oxford University Press.
- Elmore, J.S.; Koutsidis, G.; Dodson, A. T.; Mottram, D. S.; Wedzicha, B. L.** 2005, Measurement of acrylamide and its precursors in potato, wheat and rye model systems. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1286-1293.
- Friedman M.**, 2003, Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4504-4526.
- Gertz, C. And Klostermann, S.** 2002, Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104:762-771.
- Granby, K. And Fagt, S.** 2004, Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee. *Analytica Chimica Acta*, 520, 177-182.
- Gutierrez-Esplata, G. A.; Hughes, L. A.; Piegorsch, W. W.; Shelby, M. D.; Generoso, W. M.** 1992, Acrylamide: dermal exposure produces genetic damage in male mouse germ cells. *Fundam. Appl. Toxicol.* 18, 189-192.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- He, F. S.; Zhang, S. L.; Wang, H. L.; Li, G.; Zhang, Z. M.; Li, F. L.; Dong, X. M.; Hu, F. 1989**, Neurological and electroneuromyographic assesment of the adverse effects of acrylamide on occupational exposed workwers. Scand. J. Work Environ. Health 15, 125-129.
- Honicke, K.; Gatermann, R.; Harder, W.; Hartig, L. 2004**, Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 520 207-215.
- IARC. 1994**, Acrylamide. In Some Industrial / Chemicals; IARC Monographs on the Evaluation of Careinogenic Risks to Humans; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, Vol. 60, pp 389-433.
- Jung, M. Y; D. S.; Ju, J. W. 2003**, A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in french fries. J.Food Sci. 68, 1287-1290.
- Kita, A.; Bnithen, E.; Knutsen, S.; Wicklund. T. 2004**, Effective ways of decreasing acrylaniide content in potato erisps during processing. J. Agric. Food Chem. 52,7011-7016.
- Lado, B. H.; Yousef, A. E., 2002**, Alternative food-preservation Technologies: efficacy and mechanisms. Microb. Infect. 4, 433-440.
- Leufvén, A., Lingnert, H. 2003**, Factors influencing acrylamide formation in food processing-introductory model experiments performed at SIK. (Public report of the Swedish Institute for Food and Biotechnology). [http://www.bi.se/document/news/nyheter/030331-Acrylamid-Projektrapport . pdf](http://www.bi.se/document/news/nyheter/030331-Acrylamid-Projektrapport.pdf)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lingnert, H., Grivas, S., Jägerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M., and Åman, P.** 2002, Acrylamide in food- Mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scand. J. Nutr.*, 46:159-172.
- Mestdagh, F.; Meulenaer, B. D.; Peteghem, C. V.** 2006, Influence of oil degradation on the amounts of acrylamide generated in a model system and in French fries. *Food Chemistry*. Article in press.
- Miller Jones, J.**, 1992. How food processing affects nutritional quality and food safety. In: Miller Jones, J., *Food Safety*, Eagan Pres, St. Paul, Minnesota, Chapter 9. (Tritscher, 2004'den).
- Mottram, D. S.; Wedzicha, B. L.; Dodson, A. T.** 2002, Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*. 419,449.
- Mucci, L.; Dickman, P.; Steineck, G.; Adami, H.; Augustsson, K.** 2003, Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney and bladder: Absence of an association in a population-based study in Sweden, *British Journal of Cancer*. 88, 84-89.
- Mucci, L.; Lindblad, P.; Steineck, G.; Adami, H.** 2004, Dietary Acrylamide and Risk of Renal Cell Cancer. *Int. J. Cancer*: 109, 774-776.
- Olsson, K; Svensson, R.; Roslund, C. A.** 2004, Tuber components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: variation by variety, year, storage temperature and storage time. *J. Sci. Food Agric.* 84, 447-458.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Pedreschi, F.; Kaack, K.; Granby, K. 2004, Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. *Food Sci. Technol.* 37, 679-685.

Pedreschi, F.; Moyano, P., Kaack, K.; Granby, K. 2005, Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International*. 38, 1-9.

Pelucci, C.; Francheschi, S.; Levi, F.; Tricholopoulos, D.; Bosetti, C. 2003, Fried Potatoes and Human Cancer. *Int. J. Cancer*: 105, 558-560.

Pittet, A.; Perisset, A.; Oberson, J. 2004, Trace level determination of acrylamide cereal-based foods by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1035 123-130.

Robert, F.; Vuataz, G.; Polien, P.; Saucy, F.; Alonso, M. I.; Bauwens, I.; Blank, I. 2004, Acrylamide formation from asparagine under low-moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. *J. Agric. Food Chemical*. 52, 6837-6842.

Rydberg, P.; Eriksson, S.; Tareke, E.; Karlsson, P.; Ehrenberg, L.; Törnqvist, M. 2003, Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem*. 51, 7012-7018.

Sakamoto, J.; Hashimoto, K. 1986, Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice-effects on fertility and sperm morphology. *Arch. Toxicol*. 59, 201-205 (Friedman, 2003'den).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shelby, M. D.; Cain, K.T.; Cornett, C.V.; Generoso, W. M.** 1987, Acrylamide: induction of heritable translocations in male mice. *Environ. Mutagen.* 9, 363-368.
- Stadler, R. H.; Blank, I.; Varga, N.; Robert, F.; Hau, J.; Guy, P. A. ; Robert, M. C.; Riediker, S.** 2002, Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature* 419, 449-450.
- Stadler, R.H.** 2003, Understanding the formation of acrylamide and other Maillard-derived vinylogous compounds in foods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 105: 199-200.
- Stadler, R.; Scholz, G.** 2004, Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation and potential strategies of control. *Nutrition Reviews*, Vol. 62, No. 12, 449-467.
- Surdyk, N.; Rosen, J.; Andersson, R.; Aman, P.** 2004, Effects of asparagine, fructose, and baking conditions on acrylamide content in yeast-leavened wheat bread. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2047-2051.
- Taeymans, D.; Wood, J.; Ashby, P.; Blank, I.; Studer, A.; Starller, R. H.; Gonde, P.; Van Eijck, P.; Lalijie, S.; Lingnert, H.; Lindblom, M.; Matissek, R.; Müller, D.; Talimadge, D.; O'Brien, J.; Thornpson, S.; Silvani, D.; Whitnore, T.** 2004, A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation and control. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 323-347.
- Tareke, E., Ryderberg, P., Eriksson, S., and Törnqvist, M.** 2000, Acrylamide: A cooking carcinogen? *Chem. Res. Toxicol.*, 13:517-522.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Tareke, E.; Rydberg, P.; Karisson, P.; Eriksson, S.; Tömqvist, M. . 2002, Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem*50,4998-5006.

Tareke, E. 2003. Identification and origin of potential background carcinogens: Endogenous isoprene and oxiranes, dietary acrylamide. PhD Thesis. Department of Environmental Chemistry. Stockholm University. (Taeymans et al. 2004'den)

Taubert, D.; Harlfinger, S.; Henkes, L.; Berkels, R.; Schomig, E. 2004, Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes. 1. *Agric. Food Chem.* 52,27352739.

Tritscher, A. 2004, Human health risk assessment of processing-related compounds in food. *Toxicology Letters.* 149 177-186.

Tyl, R. W; Marr, M. C; Myers, C. B.; Ross, W. P.; Friedman, M. A. 2000, Relationship between acrylamide reproductive and neurotoxicity in male rats. *Reprod. Toxicol.* 14, 147-157

Tyl, R. W; Friedman, M. A. 2003, Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. *Reprod. Toxicol.* 17, 1-13

Wenzl, T.; Beatriz de la Calle, M.; Anklam, E. 2003, Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. *Food Additives and Contaminants*, Vol 20, No. 10 885-902

Williams, J. S. E. 2005, Influence of variety and processing conditions on acrylamide levels in fried potato crisps. *Food Chemistry* 90 875-881

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wise, L. D.; Gordon, L. R.; Soper, K. A.; Duchai, D. M.; Morissey, R. E.** 1995, Developmental neurotoxicity evaluation of acrylamide in Sprague-Dawley rats. *Neurotoxicol. Teratol.*, 17, 189-198 (Friedman, 2003'den).
- Vattem, D. A.; Shetty, K.** 2003, Acrylamide in food: a model for mechanism of formation and its reduction. *Innovations Food Sci. Emerging Technol.*, 4, 331-338
- Yaylayan, V.; Wnorowski, A.; Locas, C.** 2003, Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1753-1757
- Zhang, Y.; Dong, Y.; Ren, Y.; Zhang, Y.** 2006, Rapid determination of acrylamide contaminant in conventional fried foods by gas chromatography with electron capture detector. *Journal of Chromatography* ., Article in press
- Zyzak, D., Sanders, R.A., Stojanovic. M., Tallmadge, D., Eberhart, B.L., Ewald, D.K., Gruber, D.C., Morsch. T.R., Strothers, M.A., Rizzi, G.P., and Villagran, M.D.** 2003, Acrylamide formation in heated foods. *J. Agric. Food Chem.*, 51:4782-4787.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Konya'nın Seydişehir ilçesinde doğmuştur. İlk, orta ve lise öğrenimini Konya'da yapmış, Konya Süper Lisesi'nden 1998 yılında mezun olmuştur. Aynı yıl Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümüne girmiştir. 2003 yılında mezun olduktan sonra 2004 yılında E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gıda Bilimleri Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başlamıştır. 2005-2006 bahar döneminde Socrates öğrenci değişimi programı ile Yunanistan'da bulunmuş; Selanik'te Aristotle Üniversitesi'nde GC-MS ile ilgili ve Atina'da National Chemical Laboratory'de akrilamid analizi ile ilgili eğitimler almıştır.

