

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**İZMİR GEVREĞİNDE AKRİLAMİD DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ VE PIŞIRMA KOŞULLARININ
AKRİLAMİD OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Esra ALPÖZEN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali ÜREN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 614.01.00

Sunuş Tarihi: 17.01.2012

Bornova-İZMİR

2012

Esra ALPÖZEN tarafından Doktora tezi olarak sunulan “İzmir Gevreğinde Akrilamid Düzeylerinin Belirlenmesi ve Pişirme Koşullarının Akrilamid Oluşumu Üzerine Etkileri” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:**İmza**

Jüri Başkanı :

Raportör Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

ÖZET**İZMİR GEVREĞİNDE AKRİLAMİD DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ VE PIŞİRME KOŞULLARININ AKRİLAMİD
OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ**

ALPÖZEN, Esra

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali ÜREN

Ocak 2012, 147 sayfa

Bu araştırmada LC-MS/MS cihazında, pratik ve doğru yeni bir akrilamid analiz yöntemi geliştirilerek, İzmir gevreği örneklerine uygulanmıştır. Oluşturulan yöntemin saptama sınırı (LOD) 1,48 µg/kg, ölçme sınırı (LOQ) 4,93 µg/kg olarak bulunmuştur. Otuz farklı üretim yerinden alınan İzmir gevreği örneklerinde akrilamid analizi ilk kez gerçekleştirilmiştir. İzmir gevreği örneklerinde, yöntemin geri kazanım değeri %99,66 olarak tespit edilmiştir. İzmir gevreği örneklerinin ortalama akrilamid düzeyi 68,63 µg/kg olarak bulunmuştur. Ayrıca, İzmir gevreği örneklerinde toplam indirgen şeker, protein, HMF, pH, nem, renk parametreleri (L*, a*, b*) analizleri de yapılmış ve akrilamid miktarı ile bu parametreler arasındaki korelasyonlar araştırılmıştır.

Tez projesinin ikinci kısmında İzmir gevrekleri laboratuvar koşullarda pişirilmiştir. İzmir gevrekleri 280°C, 285°C ve 290°C'da 3 farklı sürede pişirilerek, akrilamid düzeyleri belirlenmiştir. Pişirme sıcaklığı ve süresinin artması ile akrilamid oluşumunun arttığı gözlenmiştir. Daha sonra farklı sürelerde kaynatılan üzüm pekmezi, dut pekmezi ve yanık şeker çözeltilerine daldırılan İzmir gevrekleri 290°C'da 9 dk pişirilmiştir. Üzüm pekmezi ve dut pekmezi kullanılarak pişirilen İzmir gevreklerinin akrilamid düzeyleri arasında farklılık bulunmamıştır. Yanık şeker çözeltisi kullanılarak pişirilen İzmir gevreklerinin akrilamid düzeyleri pekmezde pişirilenlerden daha düşük bulunmuştur. İzmir gevreği üretiminde kullanılan pekmez ve yanık şeker çözeltilerinin kaynama süresinin artması ile akrilamid oluşumunun arttığı gözlenmiştir. İzmir gevreği hamuruna KCl ilavesinin akrilamid oluşumunu azalttığı istatistiksel olarak görülmüştür. Ayrıca, MgCl₂ ilavesinin akrilamid oluşumunu azaltmada etkili olmadığı belirlenmiştir. Pişirilen tüm gevreklerde toplam indirgen şeker, HMF, protein, pH, nem, L*, a*, b* renk parametrelerinin ölçümleri yapılmıştır.

Anahtar sözcükler: Akrilamid, İzmir gevreği, LC-MS/MS.

ABSTRACT**DETERMINATION OF ACRYLAMIDE LEVELS OF İZMİR GEVREĞİ AND EFFECTS OF COOKING PARAMETERS ON ACRYLAMIDE FORMATION**

ALPÖZEN, Esra

PhD Thesis in Food Engineering Department

Supervisor: Prof. Dr. Ali ÜREN

January 2012, 147 pages

In this research, a new practical and accurate acrylamide analysis method was developed by using LC-MS/MS and applied to “İzmir gevreği” samples. Limit of detection and limit of quantification of this method for “İzmir gevreği” are 1.48 µg/kg and 4.93 µg/kg respectively. Thirty samples of “İzmir gevreği” supplied from bakeries were analyzed to determine acrylamide levels for the first time. Recovery rate was found as %99.66 in “İzmir gevreği” samples. Average acrylamide level of “İzmir gevreği” samples was found as 68.63 µg/kg. Total reducing sugar, protein, HMF, pH, moisture content, L*, a*, b* colour parameters of “İzmir gevreği” samples were also determined and correlation between acrylamide level and these parameters were investigated.

In the second part of this thesis project, “İzmir gevreği” samples were cooked in laboratory conditions. “İzmir gevreği” samples were cooked for 3 different time intervals at 280°C, 285°C and 290°C and then acrylamide analyses were performed. It was seen that acrylamide formation increased by cooking temperature and time. After that “İzmir gevreği” samples were cooked for 9 min. at 290°C after immersing grape molasses, mulberry molasses and caramelised sugar solutions boiled for different time. No significant difference was detected between acrylamide contents of “İzmir gevreği” samples cooked by using grape and mulberry molasses. Acrylamide levels of “İzmir gevreği” samples cooked by caramelised sugar were found lower than those of samples cooked by molasses. It was observed that acrylamide formation increased by boiling time of molasses and caramelised sugar solutions used in “İzmir gevreği” production. Acrylamide formation was statistically decreased by the addition of KCl to “İzmir gevreği” dough. However, addition of MgCl₂ to the dough did not cause a decrease in acrylamide formation. Reducing sugar, protein, HMF, pH, moisture content, L*, a*, b* parameters were also determined in “İzmir gevreği” samples.

Keywords: Acrylamide, İzmir gevreği, LC-MS/MS.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam süresince bana değerli görüş ve katkılarıyla yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ali ÜREN'e,

Doktora eğitim süresince verdikleri desteklerden dolayı, rahmetli Müdürümüz Sayın İbrahim ÖZGENÇ'e, Müdürümüz Sayın Veysel Baki OKHAN'a, Eski Teknik Müdür Yardımcımız Sayın Ruhi RAMİS'e, kurumumuz Teknik Birim Yetkilisi Sayın Gökhan DİNÇER'e ve kurumumuz İdari Birim Yetkilisi Sayın Dr. İsmail GÖVERCİN'e,

Tez projeme maddi destekte bulunan; İstanbul Halk Ekmek A.Ş., Unmaş Unlu Mamuller Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Uno), Ege Bölgesi Sanayi Odası (Unlu Mamuller Sanayi Destek Komitesi), Kareksan A.Ş., Velioğlu Ekmek Gıda San. Ltd. Şti., ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'ne,

Proje arkadaşım Gıda Yüksek Mühendisi Gönül GÜVEN'e,

Doktora eğitimim süresince gerek teknik, gerek manevi açıdan bana destek olan Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İzmir Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğündeki tüm personele,

Hayatımın her anında desteklerini ve sevgilerini hissettiğim değerli aileme,

Çok teşekkür ederim.

Esra ALPÖZEN

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| ÖZET | v |
| ABSTRACT ... | vii |
| TEŞEKKÜR | ix |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xvii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xix |
| KISALTMALAR DİZİNİ | xxi |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR | 4 |
| 2.1. Akrilamid | 4 |
| 2.2. Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkisi | 5 |
| 2.2.1. Nörotoksik etkileri | 6 |
| 2.2.2. Üreme toksisitesi ve gelişim üzerine etkileri | 6 |
| 2.2.3. Kanserojenik etkileri | 8 |
| 2.3. Gıdalarda Akrilamid Oluşumu | 9 |
| 2.3.1. Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu | 10 |
| 2.3.2. “3-APA” bileşiği üzerinden akrilamid oluşumu..... | 15 |
| 2.3.3. Akrolein bileşiği üzerinden akrilamid oluşumu | 16 |

İÇİNDEKİLER (devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 2.3.4. Azotlu bileşikler üzerinden akrilamid oluşumu | 16 |
| 2.3.5. Okside olmuş lipidler üzerinden akrilamid oluşumu | 16 |
| 2.4. Akrilamidin Oluştığı Gıdalar | 16 |
| 2.4.1. Patates | 19 |
| 2.4.2. Tahıl | 20 |
| 2.4.3. Ekmek | 20 |
| 2.4.4. Badem | 21 |
| 2.4.5. Kahve | 22 |
| 2.5. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler | 22 |
| 2.5.1. İndirgen şekerler | 22 |
| 2.5.2. Amino asitler | 24 |
| 2.5.3. Yağlar | 25 |
| 2.5.4. Karbonhidratça ve proteince zengin matrisler | 26 |
| 2.5.5. Gıdanın pH'sı | 27 |
| 2.5.6. Gıdanın nemi | 27 |
| 2.5.7. Agronomik ve genetik faktörler | 27 |
| 2.6. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Azaltma Yolları | 28 |

İÇİNDEKİLER (devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 2.6.1. Proses parametreleri | 28 |
| 2.6.2. Reaktantlar | 32 |
| 2.6.3. Ön işlemler | 34 |
| 2.6.4. Katkı maddeleri | 38 |
| 2.7. Akrilamid Analiz Yöntemleri | 40 |
| 2.7.1. HPLC, LC-MS, LC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi | 43 |
| 2.7.2. GC, GC-MS, GC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi | 60 |
| 2.7.3. Türevlendirme yapılmadan GC-MS yöntemi ile akrilamid analizi | 62 |
| 2.7.4. Elektrokinetik kapiler kromatografi yöntemi ile akrilamid analizi | 69 |
| 2.7.5. Biyosensör kit yöntemi ile akrilamid analizi | 69 |
| 2.7.6. NIR yöntemi ile akrilamid analizi | 69 |
| 2.7.7. ELISA yöntemi ile akrilamid analizi | 69 |
| 2.8. Gıdalarda Akrilamid Alımı | 70 |
| 2.9. Akrilamid İle İlgili Yasal Mevzuat | 70 |
| 2.10. İzmir Gevreği | 71 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 72 |
| 3.1. Materyal | 72 |

İÇİNDEKİLER (devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 3.2. Yöntem | 74 |
| 3.2.1. Akrilamid analizi | 74 |
| 3.2.2. Gerçekleştirilen diğer analizler | 77 |
| 3.2.3. İzmir gevreğinin laboratuvar koşullarında yapılması | 79 |
| 3.2.4. İstatistiksel Analiz | 82 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA | 83 |
| 4.1. LC/MS-MS’de Akrilamid Analiz Yönteminin Validasyonu | 83 |
| 4.1.1. Geri kazanım yüzdesinin belirlenmesi | 84 |
| 4.1.2. Yöntemin saptama sınırı ve ölçme sınırının belirlenmesi | 84 |
| 4.1.3. Doğrusallığın belirlenmesi | 84 |
| 4.2. İzmir Gevreği Analiz Sonuçları | 84 |
| 4.2.1. İzmir gevreği örneklerinde protein | 84 |
| 4.2.2. İzmir gevreği örneklerinde toplam indirgen şeker | 87 |
| 4.2.3. İzmir gevreği örneklerinde HMF | 88 |
| 4.2.4. İzmir gevreği örneklerinde nem | 89 |
| 4.2.5. İzmir gevreği örneklerinde renk parametreleri | 89 |
| 4.2.6. İzmir gevreği örneklerinde pH | 89 |

İÇİNDEKİLER (devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 4.2.7. İzmir gevreği örneklerinde akrilamid | 90 |
| 4.3. Pişirme Koşullarının Akrilamid Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesi | 94 |
| 4.3.1.Laboratuvarda farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreklerinde yapılan analizlerin sonuçları | 94 |
| 4.3.2.Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen gevreklerin analiz sonuçları | 101 |
| 4.3.3. Akrilamid oluşumunun önlenmesine yönelik çalışmalar | 108 |
| 4.3.4. Akrilamid oluşumunun önlenmesine yönelik diğer çalışmalar | 114 |
| 5. SONUÇ | 115 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ | 118 |
| ÖZGEÇMİŞ | 147 |
| EKLER | |
| Ek 1A Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevrekleri | |
| Ek 1B Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çeşitlerine daldırılarak pişirilen İzmir gevrekleri analizlerin sonuçları | |
| Ek 1C KCl ilave edilerek pişirilen İzmir gevrekleri | |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 2.1. Akrilamidin yapısı | 4 |
| 2.2. Akrilamidin glisidamide dönüşümü | 7 |
| 2.3. Farklı mekanizmalar üzerinden akrilamid oluşumu | 10 |
| 2.4. Maillard reaksiyonunun oluşum mekanizması | 11 |
| 2.5. Dekarboksile amadori bileşiğinden ya da asparaginindikarbonillerinden akrilamid oluşum mekanizması | 14 |
| 2.6. Akrilamidin direk olarak asparaginin deaminasyonu/dekarboksilasyonu akrolein oluşumu | 15 |
| 2.7. Gliserolden akrolein oluşumu | 16 |
| 2.8. Akrilamidin türevlerine ait spektrumlar a) 2-bromopropenamid, b) 2-propiyonamid | 62 |
| 2.9. İzmir gevreği üretim akış şeması | 71 |
| 4.1. Akrilamid standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon grafiği | 83 |
| 4.2. Früktoz ve Glikoz standartlarına ait HPLC kromatogramı | 87 |
| 4.3. 8 kod numaralı gevreğe ait toplam indirgen şeker kromatogramı | 87 |
| 4.4. HMF standardına ait HPLC kromatogramı | 88 |
| 4.5. İzmir gevreği numunesine ait HMF kromatogramı | 88 |
| 4.6. Akrilamid standardı ve D ₃ Akrilamide ait LC-MS/MS kromatogramı ve spektrumu | 91 |

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

| <u>Şekil</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 4.7. 13 kod numaralı İzmir gevreğine ait LC-MS/MS kromatogramı | 91 |
| 4.8. 14 kod numaralı İzmir gevreğine ait LC-MS/MS kromatogramı | 91 |
| 4.9. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevrekleri; a.280°C’da pişirilen İzmir gevrekleri | 95 |
| 4.9b. 285°C’da pişirilen İzmir gevrekleri | 95 |
| 4.9c. 290°C’da pişirilen İzmir gevrekleri | 95 |
| 4.10. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevrekleri | 96 |
| 4.11. Farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevrekleri; a. Üzüm pekmezi çözeltisi | 103 |
| 4.11b. Dut pekmezi çözeltisi | 103 |
| 4.11c. Yanık şeker çözeltisi | 103 |
| 4.12. KCl ilavesi ile İzmir gevreklerinde akrilamid oluşumunun azaltılması | 109 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>Çizelge</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 2.1. Akrilamidin farklı çözümlerdeki çözünürlüğü | 4 |
| 2.2. Farklı gıdaların ortalama akrilamid düzeyleri | 18 |
| 2.3. Avrupa'da resmi ve özel laboratuvarlarda uygulanan akrilamid analiz yöntemleri | 40 |
| 2.4. Akrilamid analizlerinde kullanılan kartuşlar ve özellikleri | 42 |
| 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları | 44 |
| 2.6. Farklı gıdalarda GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları | 63 |
| 3.1. Akrilamid standartlarının hazırlanmasında kullanılan stok standart çözeltiler miktarları ve standartların konsantrasyonları | 74 |
| 3.2. LC-MS/MS cihazında akrilamidden ve D3 akrilamidden oluşan iyonlar . | 77 |
| 3.3. İzmir gevreğinin pişirildiği sıcaklık-süre değerleri | 80 |
| 3.4. Tez çalışmasının deneme planı | 82 |
| 4.1. İzmir gevreğinde belirlenen akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem, L*, a*,b* değerleri ve standart sapmaları | 85 |
| 4.2. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları | 94 |
| 4.3. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem, L*, a*, b* değerleri ve standart sapmaları | 97 |

ÇİZELGELER DİZİNİ (Devam)

| <u>Çizelge</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 4.4. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırılarak pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları ... | 102 |
| 4.5. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırılarak pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem, L*, a*,b* değerleri ve standart sapmaları | 107 |
| 4.6. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları | 108 |
| 4.7. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve L*, a*, b* değerleri ve standart sapmaları | 113 |
| 4.8. Hamuruna MgCl ₂ ilave edilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları | 114 |

KISALTMALAR DİZİNİ

| <u>Kısaltmalar</u> | <u>Açıklama</u> |
|---------------------------|---|
| ABD | Amerika Birleşik Devletleri |
| WHO | Dünya Sağlık Örgütü |
| FAO | Gıda ve Tarım Örgütü |
| DAD | Diode array dedektör |
| RID | Refractive Index dedektörü |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay |
| NOAEL | Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz |
| UPLC-MS/MS | Ultra performans sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi |
| NIR | Near infrared spektroskopi |
| P | Güven seviyesi |
| r | Korelasyon katsayısı |
| RP | Zıt faz |
| SPE | Katı faz ekstraksiyonu |
| TS | Türk Standartları |
| v/v | Hacim/Hacim |
| w/w | Ağırlık/Ağırlık |

1. GİRİŞ

Gıdaların işlenmesi geçmişten bu yana gıdanın raf ömrünü uzatmak amacı ile yapılmaktadır. Kurutma, tuzlama, fermantasyon en eski işleme teknikleridir. Zamanla gelişen teknolojiyle pastörizasyon, sterilizasyon, ışınlama gibi gıda işleme teknikleri ortaya çıkmıştır (Lado and Yousef, 2002).

Gıdaların mikrobiyolojik güvenliği kadar kimyasal güvenliği de önemlidir. Gıdaların işlenmeleri veya dayanıklı hale getirilmeleri sırasında 90-200°C arasında değişen ısı işlemlere (pişirme, fırınlama, kızartma, kavurma, sterilizasyon) sıklıkla başvurulmaktadır. Ancak uygulanan böylesi yüksek sıcaklıklar gıdada toksik bileşiklerin oluşmasına yol açabilmektedir. Gıdalara uygulanan ısı işlemler sonucunda oluşan kanserojenik/mutajenik bileşiklerin en önemlileri ve en iyi bilinenleri; heterosiklik aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-alkil-N-nitrozamin bileşikleri ve 2002’de İsveç Ulusal Gıda Örgütünün yaptığı çalışmayla toksik olduğu bildirilen akrilamiddir (Tritscher, 2004; Claeys et al., 2005a).

Akrilamid (2-propenamid-CH₂CHCONH₂) yapısında vinil grubu bulunan, erime noktası 84,5°C ve kaynama noktası 192,6°C, molekül ağırlığı 71,08 g/mol olan beyaz renkli kristal yapılı katı bir madde olup, hafif asidiktir (Friedman, 2003; Rice, 2005; Eriksson, 2005; Girma et al., 2005; Burdurlu ve Karadeniz, 2006; Govaert et al., 2006; Zhang and Zhang, 2007; Zhou et al., 2007b; Ötleş, 2007).

Akrilamid yapıştırıcı, boya, kağıt, tekstil endüstrisi ve kozmetik ürünleri yapımında kullanılan poliakrilamidin monomeridir (Lingnert et al., 2002; Vatter and Shetty, 2003; Muhlendahl and Otto, 2003; Ötleş and Ötleş, 2004a; Girma et al., 2005; Galesa et al., 2008). Poliakrilamid malzemeler çok az miktarda akrilamid içermekte ve bu monomerler suya ve gıdaya temas yoluyla bulaşabilmektedir (Tritscher, 2004; Burdurlu ve Karadeniz, 2006).

Akrilamid 1994 yılında Uluslararası Kanseri Araştırma Enstitüsü (IARC) tarafından, “Grup 2A” yani insanda kanserojenik etki yapma olasılığı bulunan bileşikler grubuna konulmuştur (IARC, 1994).

2002 yılına kadar çevresel bir kontaminant olarak değerlendirilen akrilamidin aynı yıl İsveç Ulusal Gıda Örgütü (Swedish National Food Administration) ve Stockholm Üniversitesinin Upsala’da birlikte yaptıkları çalışmada ısıtılma işlem görmüş nişasta bazlı gıdalarda kendiliğinden oluştuğu görülmüştür (Tareke et al., 2002; Ren et al., 2006; Doğan ve Meral, 2006; Özkaynak ve Ova, 2006; Göbel and Kliemant, 2007; Capuano and Fogliano, 2011; Keramat et al., 2011a).

Akrilamidin, Maillard reaksiyonunun yanı sıra 3-aminopropiyonamid (3-APA) bileşiği, akrolein bileşiği, azotlu bileşikler ve okside olmuş lipidler üzerinden de oluştuğu ifade edilmektedir (Taeymans et al., 2004, Ciesarova et al., 2006; Knol et al., 2009; Halford et al., 2011).

Akrilamidin patates cipsi, kızartılmış parmak patates, kızartılmış ekmek, kahvaltılık tahıllar, unlu mamuller, bisküvi, kraker, kavrulmuş kuruyemişler, şerbetli tatlılar, patlamış mısır ve kahvede oluştuğu belirtilmektedir (Surdyk et al., 2004; Zhang and Zhang, 2007; Eerola et al., 2007; Ölmez et al., 2008; Gökmen and Palazoğlu 2008; Chen et al., 2008).

Gıdalarda oluşan akrilamid miktarını etkileyen faktörler; gıdadaki indirgen şekerler, gıdadaki amino asitler, yağlar, karbonhidratça ve proteince zengin matriksler, pH, gıdanın nemi, agronomik ve genetik faktörlerdir (Claeys et al. 2005a; De Vleeschouwer et al., 2009a; Friedman and Levin 2008).

Literatür taraması yapıldığında akrilamid analizlerinin GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS, Elektrokromatografi yöntemi, biyosensör kit yöntemi, NIR yöntemi, ELISA yöntemi ile yapıldığı ifade edilmektedir (Gianni et al., 2007; Zhou et al., 2007a; Pedreschi et al., 2010b; Quan et al., 2011).

Akrilamid analizi için en yaygın kullanılan yöntemler Gaz Kromatografisi (GC), Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS), Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (LC-MS/MS)’dir (Wenzl et al., 2003).

Literatür taraması yapıldığında 2002 yılından bu yana akrilamid oluşumu, akrilamid analiz yöntemleri, pişmiş gıdalarda akrilamid oluşumunu azaltma, akrilamidin potansiyel toksisitesi konularında çok sayıda çalışmaya rastlanmaktadır (Zamora et al., 2011).

Bu çalışmada akrilamid düzeyleri ilk kez belirlenen İzmir gevreği, 450 yıl önce Kırım'dan gelip, Osmanlı Padişahı tarafından İzmir'in Konak İlçesi Değirmendağı Mevkii'ne yerleştirilen Tatar Türklerinin geleneksel bir ürünüdür. İzmir gevreği un, su, tuz ve yaş maya ile hamurun yapılması, hamurun 30-45 dakika süreyle fermente edilmesi ve şekil verilmesi, şekillendirilen gevreklerin kaynayan su-pekmez karışımına 10-15 saniye süre ile daldırılması, daldırma sonrasında beyaz susam ile kaplanması ve fırında 7-8 dakika pişirilmesi ile yapılmaktadır (Alpözen vd., 2009).

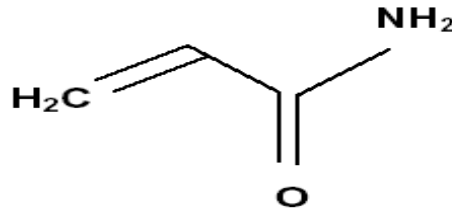
Bu tez çalışmasının ilk kısmında LC-MS/MS cihazında akrilamid analizleri için pratik, güvenilir bir yöntem geliştirilerek validasyonunun yapılması, geliştirilen yöntem ile İzmir'de üretim yapan 30 fırından temin edilen İzmir gevreği örneklerindeki akrilamid düzeylerinin belirlenmesi, aynı gevreklerde toplam indirgen şeker, protein, Hidroksi metil furfural (HMF), pH, nem, renk parametreleri (L^* , a^* , b^*) analizlerinin yapılması, bu parametreler ile akrilamid arasındaki ilişkilerin SPSS 16.0 paket programı ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışmasının ikinci kısmında, İzmir gevreği örneklerinin laboratuvar koşullarında fırın koşullarına benzer şekilde üretiminin yapılması, 3 farklı sıcaklık ve 3 farklı süre uygulamasının akrilamid oluşumu üzerine etkisinin belirlenmesi, farklı pekmez çözeltileri (üzüm pekmezi, dut pekmezi ve yanık şeker) kullanımının ve bu pekmez çözeltilerinin farklı sürelerde kaynatılmasının akrilamid oluşumu üzerine etkisinin belirlenmesi, İzmir gevreği hamuruna NaCl yerine farklı oranlarda KCl ve MgCl₂ ilavesinin akrilamid oluşumunu azaltıp azaltmadığının ortaya konması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Akrilamid

Akrilamid (2-propenamid-CH₂CHCONH₂) yapısında vinil grubu bulunan, erime noktası 84,5°C ve kaynama noktası 192,6°C, molekül ağırlığı 71,08 g/mol olan beyaz renkli kristal yapılu katı bir madde olup, hafif asidiktir (Friedman, 2003; Rice, 2005; Eriksson, 2005; Girma et al., 2005; Burdurlu ve Karadeniz, 2006; Govaert et al., 2006; Zhang and Zhang, 2007; Zhou et al., 2007b; Ötleş, 2007). α , β doymamış amiddir (Adams et al., 2010). Akrilamidin molekül yapısı Şekil 2.1’de görülmektedir.



Şekil 2.1. Akrilamidin yapısı (Ötleş and Ötleş, 2004a).

Suda, etanolde ve asetonda çözünebilmektedir. Sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir (215,5 g/l) (Friedman, 2003; Rice, 2005; Eriksson, 2005; Zhang and Zhang, 2007; Zhou et al., 2007a). Akrilamidin farklı çözügenlerdeki çözünürlüğü Çizelge 2.1.’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Akrilamidin farklı çözügenlerdeki çözünürlüğü (Eriksson, 2005).

| Çözgen | g/100 mL (30°C’da) | Çözgen | g/100 mL (30°C’da) |
|---------|--------------------|-------------|--------------------|
| Su | 215,5 | Asetonitril | 39,6 |
| Metanol | 155 | Etil asetat | 12,6 |
| Etanol | 86,2 | Kloroform | 2,66 |
| Aseton | 63,1 | Benzen | 0,35 |
| Pridin | 61,9 | Heptan | 0,0068 |

Akrilamid yapıştırıcı, boya, kağıt, tekstil endüstrisi ve kozmetik ürünleri yapımında kullanılan poliakrilamidin monomeridir (Lingnert et al., 2002; Vattam and Shetty, 2003; Muhlendahl and Otto, 2003; Ötleş and Ötleş, 2004a; Girma et al., 2005; Galesa et al., 2008). Poliakrilamid malzemeler çok az miktarda akrilamid içermekte ve bu monomerler suya ve gıdaya temas yoluyla bulaşabilmektedir (Tritscher, 2004; Burdurlu ve Karadeniz, 2006). Akrilamid ayrıca sigara dumanının da bir bileşenidir (Özkaynak ve Ova, 2006).

2.2. Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkisi

2002 yılına kadar çevresel bir kontaminant olarak değerlendirilen akrilamidin aynı yıl İsveç Ulusal Gıda Örgütü (Swedish National Food Administration) ve Stockholm Üniversitesinin Upsala’da birlikte yaptıkları çalışmada ısıtılma işlem görmüş nişasta bazlı gıdalarda kendiliğinden oluştuğu görülmüştür (Tareke et al., 2002; Ren et al., 2006; Doğan ve Meral, 2006; Özkaynak ve Ova, 2006; Göbel and Kliemant, 2007; Keramat et al., 2011a; Capuano and Fogliano, 2011).

2005 yılında WHO ve FAO işlenmiş ya da yüksek sıcaklıkta pişirilmiş özellikle nişasta bazlı gıdaların önemli düzeylerde akrilamid içerdiklerini ve bu gıdaların insan sağlığı için önemli riskler taşıyabileceğini bildirmiştir (Jiao et al., 2005; Zhang et al., 2006).

1994 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü (IARC) tarafından, “Grup 2A” yani insanda kanserojenik etki yapma olasılığı bulunan bileşikler grubuna konulan akrilamidin, daha sonraki yıllarda yapılan hayvan denemelerinde kanserojen etkisinin olduğu saptanmıştır (IARC, 1994; Mucci et al., 2003; Sharp, 2003; Tsutsumiuchi et al., 2004; Dabrio et al., 2008; Wakaizumi et al., 2009; Halford et al., 2011).

Akrilamidin insan vücudunda enzimatik bir reaksiyonla, mutajenik ve kanserojenik olduğu düşünülen glisidamide dönüştüğü belirtilmektedir (Claeys et al., 2005a; Rommens et al., 2008; Wakaizumi et al., 2009). Yine yapılan hayvan denemeleriyle yüksek dozlardaki akrilamidin üreme ve sinir sistemini etkilediği, metabolik ürünü olan glisidamidin DNA’yı bağlayarak genetik hasara yol açtığı yani genomu etkilediği bulunmuştur (Paulsson et al., 2001; Dybing and Sanner, 2003; Baardseth et al., 2006a).

Akrilamid suda yüksek çözünürlüğü nedeni ile vücutta (süt ve plasenta dahil) çok geniş bir alana dağılmaktadır (Tritscher, 2004; Granby and Fagt, 2004; Friedman and Levin, 2008). Ağız yolu ile alınan yüksek dozda akrilamidin laboratuvar hayvanlarında kansere yol açtığı bu nedenle, insanlar için potansiyel kanserojen olduğu düşünülmektedir. Kağıt fabrikalarında ve suda çözünen polimerlerin üretildiği işletmelerde çalışan işçilerin solunum ve temas ile akrilamide maruz kaldığı belirtilmektedir (Galesa et al., 2008).

Tardiff et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada; akrilamidin tolere edilebilir günlük alım miktarları araştırılmıştır. Akrilamidin nerotoksisite açısından, tolere edilebilir günlük alım düzeyi 40 µg/kg-gün olarak belirlenmiştir. Kanser riski açısından tolere edilebilir düzey akrilamid için 2,6 µg/kg-gün, glisidamid için 16 µg/kg-gün olarak saptanmıştır.

Kurabiyelerde ve bisküvilerde akrilamid için risk sınır değeri ortalama 200 µg/kg olarak belirtilmiştir (Wenzl and Anklam, 2007; Açar and Gökmen, 2010).

Akrilamidin nörotoksik etkileri, üreme toksisitesi ve gelişim üzerine etkileri ve kanserojenik etkileri bulunduğu saptanmıştır (Ötleş ve Ötleş, 2004c; Quayson and Ayernor, 2007; Mottram and Friedman, 2008; Yuan et al., 2008; Chen et al., 2008; Hedegaard et al., 2008; Knol et al., 2009; Barlow and Schlatter, 2010).

2.2.1. Nörotoksik etkileri

Çin’de akrilamid üreten küçük fabrikalarda çalışan işçilerin işleri gereği kısa süreliğine akrilamide maruz kalmaları sonucu zayıf bacaklar, ayak parmaklarının refleksini ve duyarlılıklarını kaybetmesi, uyuşmuş eller gibi belirtilerin gözlemlendiği belirtilmektedir (He et al., 1989).

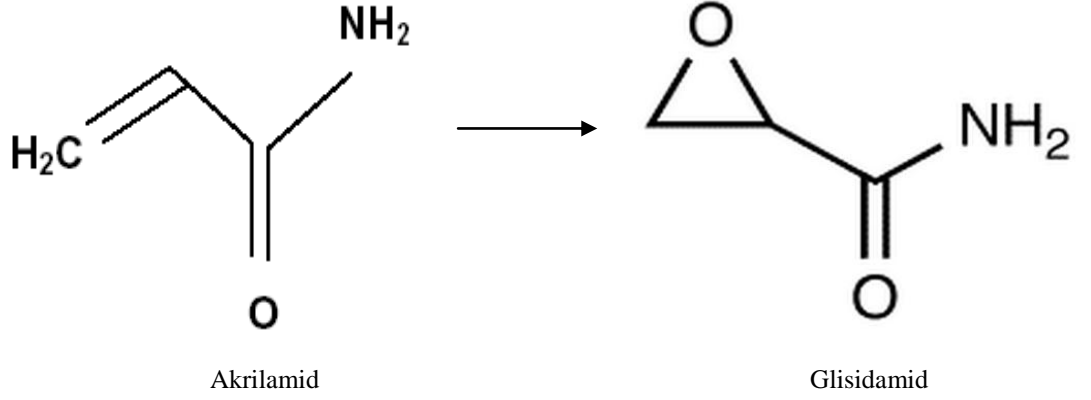
Akrilamide maruz kalan işçilerin, periferik nöropati (his bozukluğu) belirtileri sergilemesi bu bileşiğin insan üzerinde nörotoksik etkisinin olduğunu göstermektedir (Calleman et al., 1993; Costa, 1996; Gerrad, 2006).

Akrilamide daha uzun süreli maruz kalma durumunda nöropatiyi takiben serebellar disfonksiyon (beyincik ile ilgili dengesiz bozukluk) içeren daha ciddi belirtiler gözlemlendiği ifade edilmektedir (He et al., 1989). Sıçanlarla yapılan içme suyu çalışmasında periferik nöropati (his bozukluğu) oluşumu için NOAEL (Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz, No Observed Adverse Effect Level) değeri günlük 0,5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş olup daha yüksek düzeylerde merkezi sinir sistemi nöropatisi de gözlemlenmiştir (Tritscher, 2004).

2.2.2. Üreme toksisitesi ve gelişim üzerine etkileri

Akrilamidin metabolik ürünü olan glisidamid DNA’yı bağlayarak, hücrelerde genetik hasara yol açmaktadır (Dybing and Sanner, 2003; Motwani and Törnqvist, 2011). Glisidamidin hücre içinde ve hücre dışında genotoksik etkileri

bulunmaktadır. Akrilamidin glisidamide dönüşümü Şekil 2.2’de gösterilmiştir (Rice, 2005).



Şekil 2.2. Akrilamidin glisidamide dönüşümü (Tareke et al., 2000; Motwani and Törnqvist, 2011).

Ayrıca, hem akrilamid hem de glisidamid hemoglobin gibi makro moleküllerdeki nükleofilik kısımlar ile reaksiyona girmekte ve stabil bileşikler oluşturmaktadır. Hemoglobindeki nükleofilik kısım, N-terminal valin’dir. Oluşan stabil bileşiklerin miktarından günlük alınan akrilamid miktarı hesaplanabilmektedir (Tareke et al., 2008). Tareke et al. (2000) ve Mucci et al. (2003) tarafından yapılan çalışmalarda kızartılmış yiyeceklerle beslenen hayvanlarda, kızartılmış yiyecek tüketmeyen hayvanlara kıyasla yüksek düzeylerde hemoglobin bağlayıcı ve DNA bağlayıcı özellikler ve hayvan hücrelerinde kromozom anomali görülmüştür. Sıçanların kanında akrilamidin hemoglobini bağlanarak N-valin (2-karbometil) oluşturduğu belirlenmiştir (Tareke et al., 2000).

Akrilamidin farelerin ve sıçanların spermatidlerinde akrilamidin mutasyonlara neden olduğu rapor edilmiştir. 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 düzeyinde akrilamid içeren gıdalarla beslenmeleri sonucu, nörolojik belirtiler ortaya çıktığı ve bununla beraber hamile dişilerde yavru büyüklüğünün düştüğü ve erkeklerde sperm sayısının azaldığı ifade edilmektedir (Sakamoto and Hashimoto, 1986; Chapin et al., 1995; Wise et al., 1995). Sıçanlarla yapılan diğer bir çalışmada üreme toksisitesinin NOAEL değeri günlük 0,5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (Tritscher, 2004).

2.2.3. Kanserojenik etkileri

Fareler ve sıçanlar üzerinde yapılan toksikolojik çalışmalarda, hayvanların gıda yolu ile belirli dozlarda akrilamide maruz kalmaları sonucu, akciğer, meme bezi, ağız boşluğu ve bağırsakta kanser riski olabileceği tespit edilmiştir (Mucci et al., 2003; Rice, 2005; Galesa et al., 2008). Akrilamidin cilde temasında cilt kanseri, solunduğunda ise, akciğer kanseri riskini arttırabileceği belirtilmektedir (Rice, 2005).

İnsanların beslenme sırasında aldığı akrilamid miktarının, deney hayvanlarının maruz kaldığı dozdan birkaç kat daha az olduğu ve insanların gıda yolu ile aldığı akrilamidin etkili bir şekilde vücuttan uzaklaştırılabileceği belirtilmektedir (Mucci et al., 2003; Claus et al., 2008b). Akrilamid vücuda alındıktan sonra, hızla kana karışmaktadır. Akrilamid suda kolay çözünmekte ve bağırsakta hızlı bir şekilde emilmektedir. Üre yolu ile atılımı hızlı olup, akrilamidin yarısı birkaç saat içerisinde vücuttan uzaklaştırılmaktadır (Claus et al., 2008b).

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).

Pelucci et al. (2003) İtalya ve İsviçre'de (79 yaş altı insanlarla 1991-2000 yıllarında hastanede yatan) kızartılmış 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 bulunamamış, ancak kızartılmış patates tüketimi ile kalın bağırsak kanseri arasında net bir ilişkinin olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, elde edilen sonuçlar üzerinde bazı sınırlayıcı faktörlerin etkisinin bulunduğu ifade edilmektedir. Birincisi, seçilen popülasyonda fırınlanmış patates tüketiminin ABD'ye göre oldukça az olması, ikincisi ise bu çalışmada incelenen Güney Avrupa popülasyonunun ABD'ye göre farklı pişirme teknikleri kullanmasıdır.

Mucci et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada İsveç'te kalın bağırsak, böbrek ve mesane kanseri ile gıda tüketimiyle akrilamid alımı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Yeterli istatistiksel veri olmadığından teşhis edilebilir düzeyde akrilamid içeren gıda tüketimi ile kanser riski arasında yüksek bir ilişki

saptanamadığı ifade edilmektedir. Ancak kolon kanseri ile gıda yoluyla akrilamide maruz kalma arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir.

İsveç doğumlu 20-79 yaşları arasındaki insanlarla yapılan diğer bir vaka-kontrol çalışmasında gıda tüketimi ile akrilamid alımı ve böbrek kanseri arasındaki ilişki incelenmiş ve günlük gıda tüketimi ile böbrek kanseri arasında pozitif bir ilişki bulunamamıştır. Ancak, bu çalışmada da veri eksikliğinin olduğu belirtilmiştir (Mucci et al., 2004).

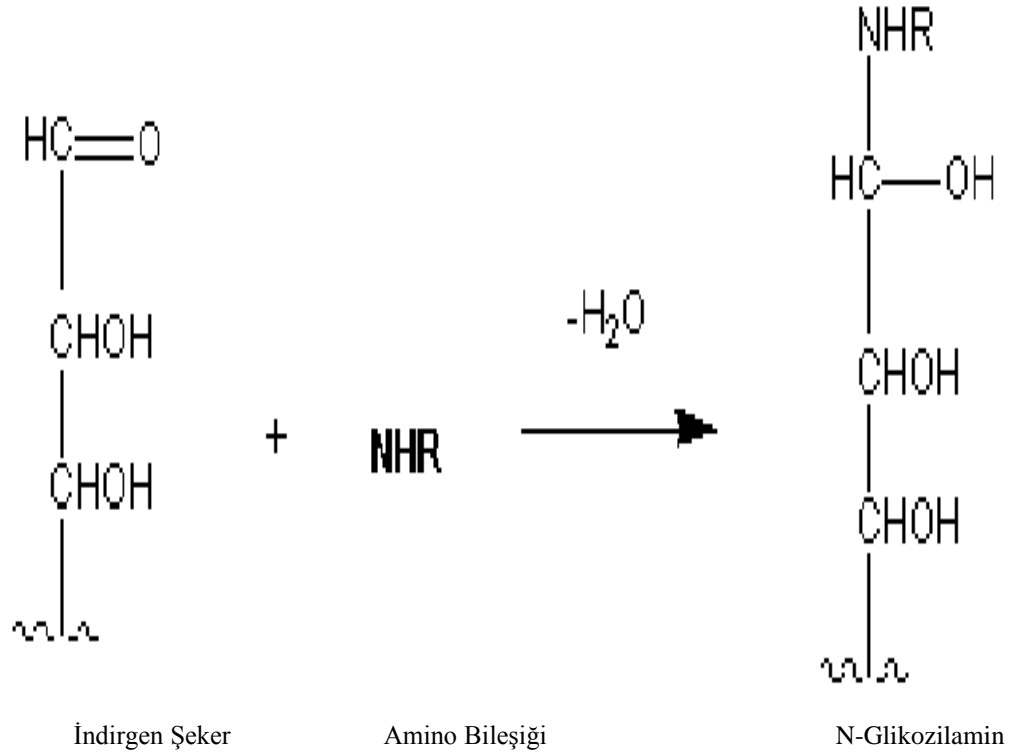
İsviçre’de yapılan başka bir çalışmada, kahvenin günlük akrilamid alımının %36’sını karşıladığı belirlenmiştir. Hem kahve hem de birkaç tane kızartılmış patates tüketen bir insan, haftada 2 porsiyon kızartılmış patates tüketen bir insandan çok daha fazla akrilamid almaktadır. Derin yağda kızartılan patateslerdeki akrilamid miktarı 20-1000 µg/kg aralığındadır. Akrilamid oluşum aralığının bu kadar geniş olmasının, kanser riskinin hesaplanması sırasında hatalara neden olduğu ifade edilmektedir (Rice, 2005).

2.3. Gıdalarda Akrilamid Oluşumu

Gıdalarda akrilamid Maillard reaksiyonu, akrolein, azotlu bileşikler, 3-aminopropiyonamide, okside olmuş lipidler üzerinden oluştuğu düşünülmektedir (Gökmen and Şenyuva, 2006b; Doğan ve Meral, 2006). Şekil 2.3’te farklı mekanizmalar üzerinden akrilamid oluşumu görülmektedir.

bulunmaktadır. İndirgen şekerler ve serbest amino asitler aynı zamanda aroma bileşiklerinin de öncü maddeleridir.

İndirgen şekerler, bir protein ya da amino asidin serbest amino grubu ile reaksiyona girerek, bir kondensasyon ürünü olan N-glikozilamin oluşturmaktadır. Maillard reaksiyonunun oluşum mekanizması Şekil 2.4'de gösterilmiştir (Ötleş and Ötleş 2004b; Gökmen et al., 2006b; Zhang and Zhang 2007; Santis et al., 2007; Ahrne et al., 2007; Quayson and Ayernor 2007; Morales and Arribas-Lorenzo, 2008; Sanny et al., 2010).



Şekil 2.4. Maillard reaksiyonunun oluşum mekanizması (Ötleş and Ötleş, 2004b).

N-glikozilaminin tekrar düzenlenmesi sonucu Amadori bileşiği oluşmaktadır. Amadorinin bir sonraki parçalanma ürünü pH'ya bağlı olarak değişmektedir. pH 7 ya da altında, 1,2-enolizasyon reaksiyonu ile pentozlardan furfural, hegzozlardan hidroksimetilfurfural oluşmaktadır. pH 7'den büyük olduğunda, Amadori bileşiğinden 2,3-enolizasyon reaksiyonu ile 4-hidroksi-5-metil-2,3-dihidrofuran-3-one (HMF_{one}), asetol, diasetil oluşmaktadır. Bu bileşiklerin hepsi reaktif olup, daha ileri reaksiyonlarda da görev almaktadır. Dikarbonil bileşikleri amino asitlerle reaksiyona girerek aldehit ve α -aminoketon oluşturmaktadır. Bu reaksiyonlar, Stecker degradasyon reaksiyonu olarak bilinmektedir. Enolizasyon reaksiyonları, Amadori düzenlenmeleri,

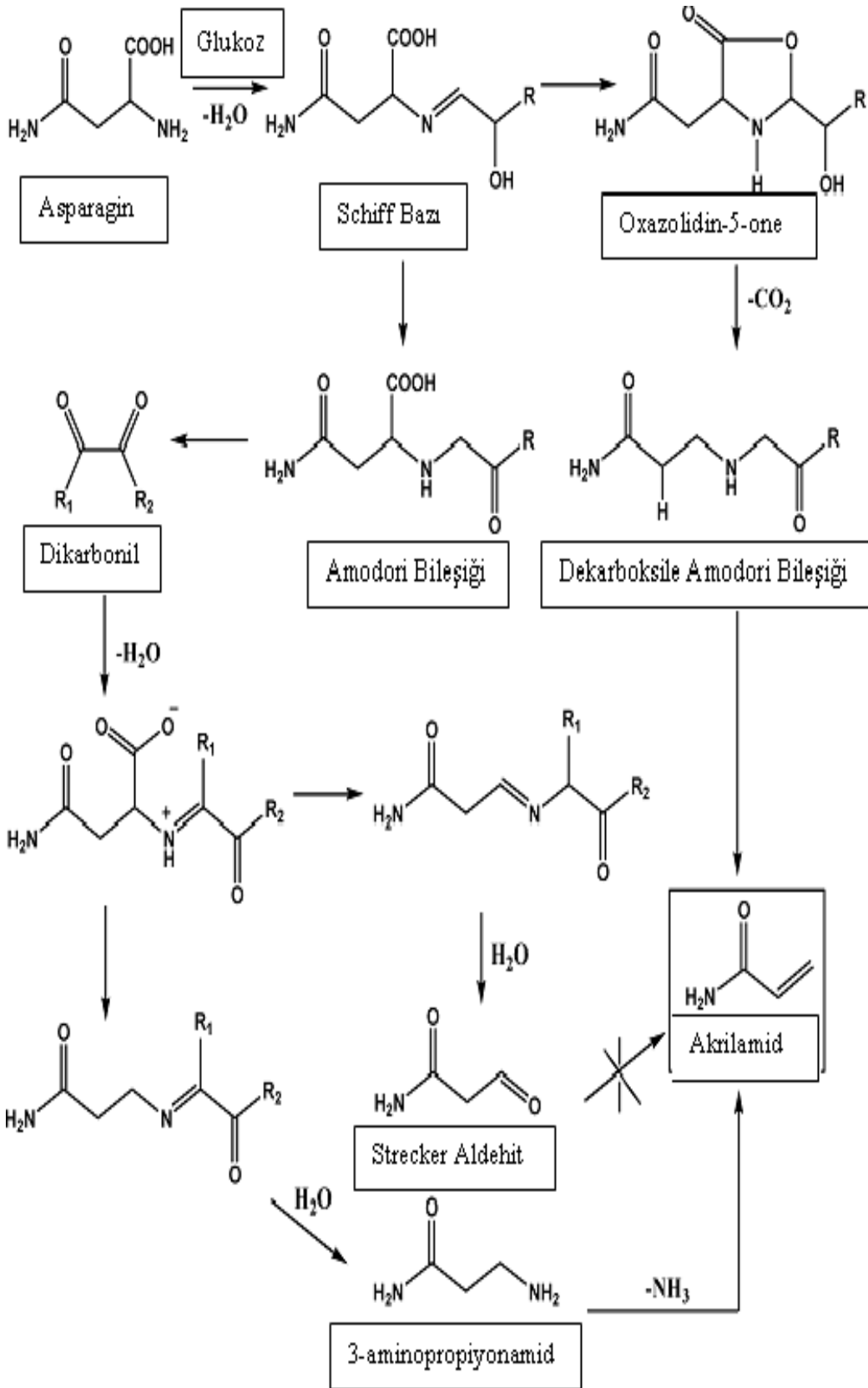
izomerizasyon ve ileri kondensasyon reaksiyonları sonucunda, melanoidin olarak bilinen kahverengi azotlu polimer ve ko-polimerler oluşmaktadır (Elmore et al., 2005; Zhang and Zhang, 2007).

Maillard reaksiyonunun ileriki aşamalarında oluşan hidroksimetilfurfural; 1-2 enolizasyon, dehidrasyon reaksiyonları sonrasında şekerin karamelizasyonundan ve Amodori degradasyonundan oluşmaktadır (Gökmen et al., 2008a; Morales and Arribas-Lorenzo, 2008).

Sonuç olarak; Maillard reaksiyonunda, akrilamid oluşum mekanizmasında bir karbonil kaynağı ile asparaginin amino grubu arasında Schiff bazı olduğu ve sonrasında Schiff bazının ısı etkisi ile dekarboksile olarak akrilamide dönüştüğü düşünülmektedir (Yaylayan et al., 2003; Zyzak et al., 2003; Blank, 2005; Hasewaga et al., 2007; Dabrio et al., 2008; Geng et al., 2008; Mottram and Friedman, 2008; Pedreschi et al., 2008; Yuan et al., 2008; Arribas-Lorenzo and Morales, 2009).

Yuan et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada früktoz/asparagin model sisteminde akrilamid oluşumu ile metilglioksal arasındaki korelasyon araştırılmıştır. α -dikarbonil bileşikleri Maillard reaksiyonunda oluşan yüksek reaktivite gösteren bileşiklerdir. O-fenilindiamin (OPD) α -dikarbonil bileşikleri içinde en çok kullanılandır. Hem früktoz/asparagin'den oluşan model sistem, hem de früktoz/asparagin/O-fenilindiamin'den oluşan model sistem 150°C'da 30 dakika ısıtılmıştır. Metilglioksal Maillard reaksiyonunda oluşan ana bileşik olduğundan, α -dikarbonil bileşiklerinin temsilcisi olarak seçilmiştir. HPLC yöntemi ile akrilamid, metilglioksal ve asparagin miktarları tespit edilmiştir. Araştırmanın sonucunda, akrilamid oluşumunun ısıtma süresinin uzaması ile arttığı ve oluşan akrilamidin yaklaşık %75'inin α -dikarbonil bileşikleri üzerinden olduğu saptanmıştır. Metilglioksal oluşumu ve tüketiminin ısıtma süresinin uzaması ile arttığı, Maillard reaksiyonunda oluşan metilglioksalın %62,1-90,3'ünün akrilamid oluşumu sırasında harcandığı belirtilmiştir. 150°C'daki metilglioksal/asparagin model sisteminde metilglioksal konsantrasyonu azaldıkça, akrilamid oluşum miktarının arttığı ve akrilamid oluşumu ile metilglioksalın harcanması arasında korelasyon katsayısı 0,931 olarak saptandığı ifade edilmektedir. Ayrıca, früktoz/asparagin ve früktoz/asparagin/O-fenilindiamin model sistemlerinde asparaginin ısıtma ile azaldığı belirtilmektedir.

Ayrıca, dekarboksile amadori bileşiginden ya da asparaginin dikarbonillerinden akrilamid oluşum mekanizması Şekil 2.5'de gösterilmiştir. Şekil 2.5'de de görüleceği gibi, asparagin ve karbonil grubu (indirgen şeker) arasındaki amino-karbonil reaksiyonundaki kritik aşama, yüksek sıcaklıkta dehidrasyon sonrasında N-glikozil ve Schiff bazı oluşumudur. Düşük nemli koşullarda hem N-glikozil, hem de Schiff bazı bileşikleri stabildir. Sulu sistemlerde Schiff bazı öncü maddelere hidroliz olmakta ya da Amodori bileşigini oluşturmaktadır. Amodori bileşigi akrilamid oluşumunda etkili bir öncü madde değildir. Schiff bazı oxazolidine-5-one üzerinden dekarboksile olarak dekarboksile amodori bileşigini oluşturmaktadır (Zhang and Zhang, 2007; Claus et al., 2008b).

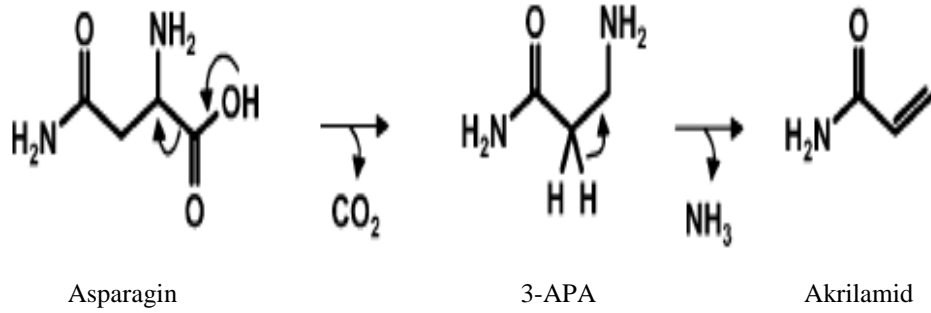


Şekil 2.5. Dekarboksile amadori bileşiğinden ya da asparagin dikarbonillerinden akrilamid oluşum mekanizması (Zhang and Zhang, 2007).

2.3.2. “3-APA” bileşiği üzerinden akrilamid oluşumu

Ayrıca indirgen şekerlerin yokluğunda, dekarboksile olmuş asparagin yani 3-APA bileşiği akrilamidi oluşturmaktadır (Zhang et al., 2005; Goldmann et al., 2006; Amrein et al., 2007; Guenther et al., 2007; Locas and Yaylayan, 2008).

Biyojen amin olan 3-propiyonamid ısıtma ile deaminasyona uğrayarak, akrilamid oluşumuna neden olmaktadır. Bu reaksiyonun, asparagin ve indirgen şekerler arasında gerçekleşen reaksiyondan 10 kat daha güçlü olduğu belirtilmiştir (Granvogl and Schieberle, 2006; Bagdonaite et al., 2006; Serpen and Gökmen, 2007; Wenzl et al., 2007; Knutsen et al., 2009). Asparaginin deaminasyonu/dekarboksilasyonundan direk olarak akrilamid oluşumu Şekil 2.7’ de gösterilmiştir.



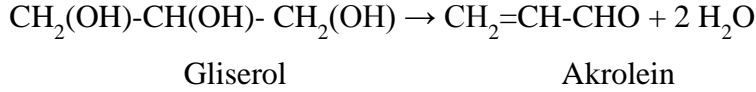
Şekil 2.6. Akrilamidin direk olarak asparaginin deaminasyonu/dekarboksilasyonu ile oluşumu (Granvogl and Schieberle, 2006).

Channell et al. (2008) tarafından nişasta bazlı gıdalarda yapılan çalışmada akrilamid ile 3-propiyonamid arasında güçlü bir korelasyon tespit edilmiştir. Locas and Yaylayan (2008) tarafından yapılan çalışmada, N-glikozil-3-aminopropiyonamidin akrilamid oluşumunda önemli rol oynadığı tespit edilmiştir.

Bagdonaite et al. (2006) tarafından yapılan çalışmada, çiğ patates, yeşil ve kavrulmuş kahvede akrilamidin öncü maddesi olduğu düşünölen 3-aminopropionamid (3-APA) LC-MS/MS’de araştırılmıştır. 3-APA miktarının patatesin cinsine göre değiştii belirtilmiştir. Kahvede ise 3-APA tespit edilmemiştir.

2.3.3. Akrolein bileşiği üzerinden akrilamid oluşumu

Akrilamidin öncü maddelerinden biri olan akrolein ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$), aynı zamanda lipidlerin transformasyonu ya da amino asitlerin, proteinlerin ve karbonhidratların degradasyonu sonucu da oluşabilmektedir (Grivas et al., 2002; Friedman, 2003; Claeys et al., 2005a; Gerrad 2006; Shaikh et al., 2009). Gliserolden akrolein oluşumu Şekil 2.6'da görülmektedir. Akrolein okside olarak, akrilik aside yükseltgenmekte ve amonyak ile reaksiyona girerek akrilamidi oluşturmaktadır (Taeyman et al., 2004; Wenzl et al., 2007; Claus et al., 2008b; Shaikh et al., 2009). Amino asitlerin termolizisi sırasında açığa çıkan amonyanın akrilik asit ile reaksiyona girerek, amino-dehidroksilasyon ile akrilamidi oluşturduğu ifade edilmektedir (Guenther et al., 2007).



Şekil 2.7. Gliserolden akrolein oluşumu (Grivas et al., 2002).

2.3.4. Azotlu bileşikler üzerinden akrilamid oluşumu

Akrilamid oluşumunda diğer bir yol ise, akrolein oluşmadan azot içeren bileşiklerin tekrar düzenlenmesi sonucu oluşmasıdır (Claeys et al., 2005a).

2.3.5. Okside olmuş lipidler üzerinden akrilamid oluşumu

Son yıllarda yapılan çalışmalar, okside olmuş lipidlerin amino asitleri degrade ettiği ve böylelikle akrilamid oluşumunun başladığı belirtilmektedir. Okside olmuş lipidlerden 2,4-dekadienal'in, diğer okside lipidlere göre asparagini akrilamide dönüştürmede daha etkili olduğu bulunmuştur (Hidalgo et al., 2009).

2.4. Akrilamidin Oluştuğu Gıdalar

100-120°C'ın üzerinde gerçekleştirilen ısıtma işleminden sonra en yüksek akrilamid miktarı karbonhidratça zengin gıdalarda (100-4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ve en düşük akrilamid miktarı proteince zengin gıdalarda (<100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) bulunmuştur (Tareke et al., 2002; Mestagh et al., 2007).

Akrilamidin oluştuğu gıdalar; patates cipsi, kızartılmış parmak patates, kızartılmış ekmek, kahvaltılık tahıllar, unlu mamuller, bisküvi, kraker, kavrulmuş kuruyemişler, şerbetli tatlılar, patlamış mısır ve kahve olarak belirtilmektedir (Surdyk et al., 2004; Zhang and Zhang, 2007; Eerola et al., 2007; Ölmez et al., 2008; Gökmen and Palazoğu 2008; Chen et al., 2008; Purlis, 2010; Anese et al., 2010; Keramat et al., 2011a).

Murkovic (2004) tarafından yapılan çalışmada Avusturya'daki gıdaların akrilamid düzeyleri HPLC-MS cihazında araştırılmıştır. Akrilamidin patates cipslerinde 499 ng/g, kurabiyelerde 99 ng/g, pirinç ve mısır ürünlerinde 97 ng/g, kahvede 169 ng/g olarak tespit edildiği belirtilmiştir.

Tateo et al. (2007) tarafından yapılan çalışmada İtalyan pazarındaki pişirilmış pirinç, domates sosu ve ayak üştü tüketilen gıdalardaki akrilamid düzeyleri GC-MS metodu ile araştırılmıştır. Araştırma sonucunda pirinç ve domates sosu için akrilamid düzeyleri 50 µg/kg'ın altında bulunurken, her iki üründe de ortamda başka bileşenlerin varlığında akrilamid düzeylerinin sırasıyla, 113 ve 124 µg/kg'a kadar yükseldiği, fast foodlarda ise pişirme yöntemine bağlı olarak, 294 µg/kg'a kadar yükseldiği belirtilmiştir.

Ölmez et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada Türkiye' deki farklı gıda gruplarına ait farklı markalarda, akrilamid düzeyleri GC-MS ile belirlenmiştir. Bisküvi, kraker, bebek bisküvisi, ekmek, tost ekmeği, fındık füresi, kırmızıbiber, hamburger, pide, kakao, kahve, patates cipsi, zeytin, tavuk şnitzel, omlet, pilav, mısır, hazır çorba, bebek maması, tulumba tatlısı, kadayıf, Kemalpaşa tatlısı, helva, pekmez, tahin, çikolata, ilek reelinde çalışılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, gıda grupları ve aynı gıda gruplarındaki farklı markalar arasında büyük farklılıklar saptanmıştır. Patates cipsinde 834 µg/kg, kızartılmış patateste 403 µg/kg, Kemalpaşa tatlısında 512 µg/kg, tulumba tatlısında 241 µg/kg, pekmezde 95 µg/kg, helvada 93 µg/kg, tahinde 69 µg/kg, zeytinde 82 µg/kg, ekmekte 38 µg/kg, kırmızı biber, ilek reçeli, kakao, omlet, bebek maması, pide, kadayıf ve pilavda 10 µg/kg'dan düşük akrilamid düzeyleri belirlenmiştir. İlave olarak, 6 ay depolama sonrasında akrilamid analizleri yapılarak, depolama sırasında akrilamid düzeylerinin değişmediği bulunmuştur.

Farklı gıdalarda yapılan çalışmalarda elde edilen akrilamid düzeyleri izelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Farklı gıdaların ortalama akrilamid düzeyleri.

| Gıdanın Adı | Ort. (µg/kg) | Medyan (µg/kg) | Aralık | Örnek sayısı | Kaynak |
|--|-----------------|-------------------|------------|-----------------|-------------------------------|
| Patates kızartması (evde yapılan) | 63 | 63 | 60-66 | 2 | Ölmez et al., 2008 |
| Patates kızartması (restoranda yapılan) | 403 | 414 | 355-436 | 9 | Ölmez et al., 2008 |
| Türk kahvesi | 266 | 264 | 200-336 | 4 | Ölmez et al., 2008 |
| Kahve (Orta kavrulmuş) | 25 | 25 | 25 | 2 | Svensson et al., 2003 |
| Kavrulmuş kahve | --- | 174 | 202 (Mak.) | 3 | Arisseto et al., 2009 |
| Kavrulmuş kahve | 221 | 286 | 79-975 | --- | Gökmen ve Palazoğlu, 2008 |
| Bisküvi | 198 | 82 | <10-648 | 16 | Ölmez et al., 2008 |
| Diyabetik bisküvi | 270 | 186 | 10-1695 | 125 | Göbel and Kliemant, 2007 |
| Büsküvi/Kurabiye | 300 | 230 | <30-640 | 11 | Svensson et al., 2003 |
| Tatlı bisküvi | 443 | 310 | <68-1150 | 15 | Eerola et al., 2007 |
| Tuzlu bisküvi | 179 | | 134-224 | 2 | Eerola et al., 2007 |
| Bebek bisküvisi | 106 | 108 | 5-432 | 130 | Göbel and Kliemant, 2007 |
| Bademli bisküvi | 356 | 230 | 5-2110 | 81 | Göbel and Kliemant, 2007 |
| Kraker | 247 | 213 | 26-587 | 18 | Ölmez et al., 2008 |
| Ekmek | 50 | 40 | <30-160 | 21 | Svensson et al., 2003 |
| Ekmek | 38 | 24 | 10-133 | 10 | Chen et al., 2008 |
| Tost ekmeği | 164 | 58 | 41-474 | 5 | Ölmez et al., 2008 |
| Ekmek kırıntısı (Bread crisp) | 95 | 73 | <10-226 | 5 | Ölmez et al., 2008 |
| Patates cipsi | 834 | 818 | 59-2336 | 8 | Ölmez et al., 2008 |
| Patates cipsi | 1360 | 980 | 330-2300 | 11 | Svensson et al., 2003 |
| Patates cipsi (Potato crisps) | 831 | 528 | 5-4215 | --- | Gökmen and Palazoğlu, 2008 |
| Patates cipsi (Potato chips) | 1377 | 186 | 5-4653 | --- | Gökmen and Palazoğlu, 2008 |
| Patates cipsi | 539 | 440 | 100-1470 | 15 | Eerola et al., 2007 |
| Patates kızartması | 540 | 410 | 300-1100 | 7 | Svensson et al., 2003 |
| Patates kızartması | --- | 264 | 2528(Mak) | 7 | Arisseto et al., 2009 |
| Patates kızartması | 310 | 300 | 34-688 | 8 | Svensson et al., 2003 |
| Haşlanmış patates | <30 | --- | --- | --- | Svensson et al., 2003 |
| Kahvaltılık tahıllar | 220 | 100 | <30-1400 | 14 | Svensson et al., 2003 |
| Kahvaltılık tahıllar | 84 | 50 | 5-545 | 47 | Göbel and Kliemant, 2007 |
| Popcorn | 500 | 390 | 365-715 | 3 | Svensson et al., 2003 |
| Popcorn | 300 | 290 | 260-350 | 3 | Eerola et al., 2007 |
| Mısır cipsi | 425 | 371 | 109-835 | 9 | Ölmez et al., 2008 |
| Mısır gevreği | --- | 30 | 49 (Mak.) | 8 | Arisseto et al., 2009 |
| Fırıncılık ürünleri | 120 | 19 | <10-441 | 4 | Ölmez et al., 2008 |
| Kek | 68 | 65 | 43-89 | 9 | Chen et al., 2008 |
| Kavrulmuş fındık | 128 | 42 | <10-421 | 5 | Ölmez et al., 2008 |
| Kavrulmuş badem | 260 | 260 | 207-313 | 2 | Ölmez et al., 2008 |
| Çikolata | 75 | 78 | 37-100 | 5 | Ölmez et al., 2008 |
| Helva | 93 | 86 | <10-229 | 7 | Ölmez et al., 2008 |
| Zeytin | 82 | 70 | <10-216 | 8 | Ölmez et al., 2008 |
| Tulumba tatlısı | 241 | 50 | 10-701 | 5 | Ölmez et al., 2008 |
| Kemalpaşa tatlısı | 512 | 512 | 445-578 | 2 | Ölmez et al., 2008 |
| Pekmez | 95 | 42 | <10-297 | 4 | Ölmez et al., 2008 |
| Kakao | <10 | <10 | --- | 3 | Ölmez et al., 2008 |

Akrilamidin yüksek düzeyde olduğu gıdalar patates, tahıl, ekmek, badem ve kahvede yapılan çalışmalar ise aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. Patates

Çiğ patates asparagin, glikoz, früktoz gibi akrilamid öncü maddelerini önemli miktarlarda içermektedir. Patatesteki serbest asparagin miktarı, indirgen şeker miktarından çok daha fazladır. Bu nedenle, patates ürünlerinde akrilamid düzeyleri çok yüksek tespit edilmektedir. Patatesteki asparagin miktarının 2010-4250 mg/kg, indirgen şeker miktarının ise 92-2550 mg/kg olduğu ifade edilmektedir (Mulla et al., 2011a).

Cummins et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada İrlanda'da patates cipsi tüketimi ile ne kadar akrilamid alındığı hesaplanmıştır. Araştırmanın sonucunda, patates cipslerinde akrilamidin ortalama 720 µg/kg olarak bulunduğu belirtilmiştir. İrlanda'da patates cipslerinden kadınların 0,052 µg/kg vücut ağırlığı/gün, erkeklerin ise 0,064 µg/kg vücut ağırlığı/gün akrilamid aldığı tespit edilmiştir. İlave olarak, gıdanın başlangıçtaki indirgen şeker miktarının çok önemli bir parametre olduğu belirtilmiştir. Akrilamid oluşumu ile başlangıçtaki glikoz miktarı arasındaki korelasyon katsayısı 0,58, früktoz miktarı için ise 0,57 olarak bulunduğu ifade edilmektedir.

Zhu et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, 16 ticari patates çeşidinde indirgen şeker, amino asit, asparagin, fenolik bileşen düzeyleri belirlenerek akrilamid oluşumu ile bu parametreler arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Akrilamid dışındaki parametreler için analizler çiğ patatesteki gerçekleştirilmiştir. Un haline getirilmiş patates örnekleri 185°C'daki fırında pişirilmiştir. Früktoz, glikoz, asparagin ile akrilamid oluşumu arasında pozitif korelasyon, fenolik bileşikler ile akrilamid oluşumu arasında ise negatif korelasyon bulunmuştur. Düşük früktoz, glikoz, asparagin ve yüksek düzeyde fenolik bileşik içeren patates çeşitlerinin tercih edilmesi önerilmektedir.

Gökmen and Palazoğlu (2009) tarafından yapılan çalışmada patateslerin kızartılması sırasında su buharı ile kaybolan akrilamid miktarı araştırılmıştır. Su buharı kondense edilerek akrilamid içeriği belirlenmiştir. 150-180°C'da yapılan kızartma sonrasında, buharlaşma ile kaybolan akrilamid miktarının %0,7-1,8 olduğu, bu miktarın oluşan akrilamid içeriğinin yanında önemsiz kaldığı, ancak

buharlaşma sırasında solunum ile önemli ölçüde akrilamid alındığı ifade edilmektedir.

Serpen and Gökmen (2009) tarafından yapılan çalışmada patates cipslerinde toplam antioksidan kapasite ile akrilamid oluşumu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Patates cipslerinin toplam antioksidan kapasitesinin, şeker konsantrasyonu ve kızartma koşullarına bağılı olarak 13 ve 68 mmol Trolox Eşdeğeri/kg olarak bulunduğu belirtilmiştir. Patates cipslerinin akrilamid içeriğı ve toplam antioksidan kapasitesi arasında anlamlı bir pozitif korelasyon ($r=0,8322$) bulunduğu belirtilmiştir.

2.4.2. Tahıl

Tahıl bazlı gıdalar pişirme işlemi sonrasında, önemli bir akrilamid kaynağı haline gelmektedir. Sitrik asit ilavesi ile pH'nın düşürülmesi sonucu, akrilamid oluşumunun azaldığı tespit edilmiştir (Zhang and Zhang, 2007). Ayrıca, kahvaltılık tahıllara glisin ilavesinin, akrilamid oluşumunu üçte birine indirdiğı belirtilmektedir (Konings et al., 2007).

2.4.3. Ekmek

Ekmekte akrilamid düşük düzeyde oluşmasına rağmen, tüketim miktarı göz önüne alındığında, günlük akrilamid alımının %10-20'sini oluşturduğu belirtilmektedir (Grob, 2007). Ekmekte bulunan akrilamid öncül maddeleri pişirme koşullarına bağılı olarak farklı düzeylerde akrilamid oluşturmaktadır (Zhang and Zhang, 2007). Akrilamid oluşumu unlu mamullerin kabuğunda gerçekleşmektedir (Studler et al., 2004; Purlis, 2010).

Tahıl ürünlerinde akrilamid oluşumunun azaltılması için, indirgen şeker yerine sakkaroz kullanımı önerilmektedir. Ancak, bu işlem gıdada istenilen esmerleşmeyi sağlayamamaktadır. Asparagin 6 saatlik fazladan fermantasyon ile %96 oranında azaldığından, maya fermantasyonu akrilamid oluşumunun azaltılması için önerilmektedir (Fredriksson et al., 2004; Mustafa et al., 2009).

Mustafa et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada, fermantasyon süresinin ve hamura asparagin ve indirgen şeker ilavesinin buğday ekmeğinde akrilamid oluşumuna etkileri incelenmiştir. Düşük ve yüksek asparagin düzeylerinde (0-0,044 ve 0,071-0,476 g/100 g un) çalışılmıştır. Yüksek asparaginli denemeye

(0,042-0,380 g/100 g un) düzeyinde glisin ilave edilmiştir. Her 2 grup ekmekte de, 13 ve 164 dakika arasında değişen fermantasyon süresinin, akrilamid öncül maddeleri üzerinde azaltıcı yönde etkisinin olduğu saptanmıştır. İlave edilen asparaginin, ekmekteki akrilamid düzeyini arttırdığı, glisin ilavesinin ise, akrilamid oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir.

Ahrne et al. (2007) tarafından yapılan çalışmada buğday ekmeğinde kabuk sıcaklığının ve su içeriğinin akrilamid oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Çalışmada pişirilmiş ekmeklerin kabuğu ayrılmıştır. Kabuk iç ve dış kabuk olmak üzere iki kısma ayrılmıştır. Dış kabuktaki nem içeriği daha düşük, akrilamid içeriği ise daha yüksek bulunmuştur. Ancak, ekmek renginin tüketilemeyecek kadar koyu olduğu çok yüksek sıcaklıklarda ve çok düşük nem düzeylerinde, oluşan akrilamid miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Surdyk et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada ekmekte akrilamid oluşumunun %99'unun kabukta olduğu belirlenmiştir.

Granby et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada pişirilmiş ve tost yapılmış buğday ve çavdar ekmeğinde akrilamid ve asparagin; unda, hamurda asparagin düzeyleri araştırılmıştır. Tost yapılmış buğday ve çavdar ekmeği dilimlerinde sırasıyla akrilamidin 11-161 µg/kg ve 27-205 µg/kg, tost yapılmamış buğday ve çavdar ekmeği dilimlerinde sırasıyla akrilamidin <5 µg/kg ve 7-23 µg/kg olarak bulunduğu ifade edilmektedir. Buğday ekmeğinde fermantasyon ve pişirme işlemleri sonrasında başlangıçtaki asparaginin %12'sinin, çavdar ekmeğinde ise fermantasyon ve pişirme işlemleri sonrasında başlangıçtaki asparaginin %82'sinin bozunmadan kaldığı ifade edilmiştir.

2.4.4. Badem

Badem hem asparagin hem de indirgen şeker içermektedir. Bademde serbest asparagin 2000-3000 mg/kg, glikoz ve früktoz 500-1300 mg/kg, sakkarozun ise 2500-5300 mg/kg düzeyinde olduğu ifade edilmektedir. Belcaski et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada bademdeki akrilamid konsantrasyonu 260-1530 mg/kg olarak bulunmuştur. Amrein et al. (2005) tarafından yapılan çalışmada kavrulmuş bademlerin oda sıcaklığında depolanması ile akrilamid miktarının azaldığı belirtilmiştir.

2.4.5. Kahve

Kahve 220-250°C'da kavrulduğundan, akrilamidin yüksek oranda oluştuğu belirtilmektedir (Bagdonaite and Murkovic, 2004; Studler et al., 2004). Kavurma süresi ve kavurma hızı kahvenin lezzet, aroma, renk gibi duyuşal özelliklerini etkilemektedir. Yeşil kahvede asparagin konsantrasyonu 30-90 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, Taeymans et al.'a (2004) göre oda sıcaklığında depolanan öğütölmüş kahvede %40-60 oranında akrilamid kayıpları tespit edilmiştir. Diğer taraftan, kavurma sırasında akrilamidin degrade olduğu saptanmıştır. Kahvede akrilamid kavurma işleminin başlangıcında oluşmakta ve 7 mg/kg'ın üzerine çıkabildiği belirtilmektedir (Zhang and Zhang, 2007).

2.5. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Gıdalarda akrilamid oluşumunu etkileyen faktörler aşağıda verilmiştir.

- Gıdadaki indirgen şekerler
- Gıdadaki amino asitler
- Yağlar
- Karbonhidratça zengin ve proteince zengin matriksler
- pH
- Gıdanın nemi
- Agronomik ve genetik faktörler

(Claeys et al. 2005a; Gökmen and Şenyuva, 2006a; De Vleeschouwer et al., 2008; Friedman and Levin 2008).

2.5.1. İndirgen şekerler

Nişasta ve şekerler 100°C'in üzerindeki sıcaklıklarda hafif asidik pH'da parçalanmaktadır. Bu nedenle, ısıl işlem sırasında çoğu zaman kompleks karbonhidratlardan monosakkaritler oluşmaktadır. Gıdaların pişirilmesi sırasında oluşan bu şekerler, asparagin ile tepkimeye girerek akrilamidi oluşturmaktadır.

Şekerlerin zincir uzunluğu kısaltıldıkça, oluşan akrilamid miktarı artmaktadır. Şekerlerin zincir uzunluğunun kısalması ile molekülün halkalı hemiasetal yapı kazanması zorlaşmaktadır. Bu nedenle, karbonil kolaylıkla, asparagin α -amini ile reaksiyona girmektedir. Akrilamid oluşumunun gıdadaki glikoz ve früktoz düzeyi ile orantılı olduğu rapor edilmiştir (Claeys et al., 2005a). Gıdalardaki früktoz ve glikozun sakkaroz ile yer değiştirmesi akrilamid oluşumunu azaltmaktadır (Amrein et al., 2004; Amrein et al., 2007). Claeys et al. (2005b) tarafından yapılan çalışmada asparagin, glikoz, früktoz ve sakkarozdan oluşan 140°C ve 200°C'daki model sistemde akrilamid oluşumu araştırılmıştır. Asparagin-glikoz model sisteminde akrilamidin asparagin-früktoz model sistemine göre daha hızlı oluştuğu, en az akrilamidin asparagin-sakkaroz sisteminde oluştuğu tespit edilmiştir.

Biederman and Grob (2003) tarafından yapılan çalışmada, ısıtılmış patatese %3 oranına kadar glikoz ya da früktoz ilavesinin akrilamid oluşumunu arttırdığı, %3'den daha yüksek şeker ilavesinin ise, akrilamid oluşumunu azalttığı ya da oluşum hızını azalttığı belirtilmiştir. Unda ya da kurutulmuş patatese früktozun glikoza göre, akrilamid oluşumunu daha çok arttırdığı saptanmıştır. Yine, Knol et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada; asparagin ve früktozdan oluşan model sistemde, früktoz oranının arttırılmasıyla akrilamid oluşumunun arttığı tespit edilmiştir.

Sakkaroz gibi indirgen olmayan şekerler de, gıdaların pişirilmesi ile hidroliz olduğu zaman, indirgen şekerler ortaya çıkmakta ve asparagin α -NH₂ grubu ile reaksiyona girerek akrilamidi oluşturmaktadır (Taeymans et al., 2004).

Curtis et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada; şekerlerin çavdar unundan yapılan unlu mamullerde akrilamid oluşumuna etkileri araştırılmıştır. 180°C'da 20 dakika pişirilen ürünlerde, akrilamid oluşumu ile sakkaroz miktarı ve toplam şeker arasında yüksek korelasyon saptanmıştır. Akrilamid ile sakkaroz arasında korelasyon katsayısı $r=0,911$ ($p<0,001$), akrilamid ile toplam şeker arasında korelasyon katsayısı $r=0,838$ ($p=0,001$) olarak saptandığı belirtilmektedir. Akrilamid ile früktoz arasında ise, daha düşük bir korelasyon ($r = 0,672$, $p = 0,024$) saptandığı ifade edilmektedir.

De Wilde et al. (2005) tarafından yapılan çalışmada patatesleri soğukta depolamanın kızartılmış patatese akrilamid oluşumunu arttırdığı, bu artışın ise,

soğukta depolama sırasında patatestte şekerin artmasından kaynaklandığı belirtilmiştir.

De Vleeschouwer et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada asparagin-glikozdan oluşan 120 ve 200°C'daki model sistemde akrilamid oluşum ve eliminasyon reaksiyonlarına reaktantların başlangıç konsantrasyonlarının etkisi araştırılmıştır. Reaktant konsantrasyonlarının değiştirilmesi akrilamidin oluşum reaksiyonunun kinetik parametrelerini etkilememiştir. Akrilamid eliminasyon reaksiyonu hız sabitinin reaktant konsantrasyonunun artması ile arttığı ifade edilmektedir.

De Vleeschouwer et al. (2009a) tarafından yapılan çalışmada düşük nemli koşullarda eşit molardaki asparagin-şekerden oluşan 120°C ve 200°C'daki model sistemde akrilamid oluşum ve eliminasyon reaksiyonlarına şekerin etkisi araştırılmıştır. Monosakkaritlerden glikoz ve früktoz ve disakkaritlerden sakkaroz ile çalışılmıştır. Akrilamid oluşumu için hesaplanan kinetik parametreleri, şekerin monosakkarit ya da disakkarit olmasının akrilamid oluşum reaksiyonuna etkisinin olmadığını göstermiştir. Sakkaroz içeren sistemde akrilamid oluşumu için gerekli aktivasyon enerjisi çok düşüktür. Ancak, akrilamid eliminasyon hızı sabiti sakkaroz içeren sistemde daha yüksek bulunmuştur. Yani, akrilamid oluşum ve eliminasyon reaksiyonlarında şeker tipinin akrilamid oluşum kinetik parametreleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

2.5.2. Amino asitler

Gıdalarda bulunan amino asitlerden asparagin, tüm bitkilerde hem çimlenme, azot taşınımı gibi genel fizyolojik prosesler sırasında, hem de kuraklık, mineral azlığı, patojen saldırısı, gibi dış stresler durumunda oluşmaktadır (Hamlet et al., 2008). Gıdada bulunan serbest asparagin miktarının artması akrilamid oluşumunu artırmaktadır. Asparaginın akrilamid oluşumunda indirgen şekerlere göre daha etkili olduğu saptanmıştır (Zyzak et al., 2003; Shih et al., 2004; Hamlet et al., 2008; Keramat et al., 2011b).

Patatestte asparagin toplam amino asit miktarının %40'ını, unda %14'ünü, yüksek proteinli çavdarda %18'ini oluşturmaktadır. Asparagin/glikoz oranının 0,5 olması akrilamid oluşumu için en uygun ortamı oluşturduğu ifade edilmektedir. Yapılan çalışmalarda düşük asparagin ve früktoz içeren una, früktoz ilavesinin akrilamid oluşumunu etkilemediği, ama asparagin ilavesinin akrilamid oluşumunu

arttırdığı görülmüştür (Claeys et al., 2005a). Undaki asparagin, akrilamid oluşumunda patatesteki indirgen şeker gibi belirleyici faktördür (Claeys et al., 2005a; Vicklund et al., 2006; Fiselier et al., 2006; Hamlet et al., 2008).

Asparagin dışındaki amino asitlerden akrilamid oluşumu henüz tam olarak belirlenmemiştir. Glutamin, metiyonin, sistein, aspartik asit ya da serin, alanin, prolin ve fenilalenin ile glikozdan oluşan sistemde çok az akrilamid oluştuğu tespit edilmiştir (Claeys et al., 2005a). Claeys et al. (2005c) tarafından yapılan çalışmada 140°C ve 200°C'daki asparagin-glikoz model sisteminde asparagin dışındaki amino asitlerin akrilamid oluşumuna etkileri incelenmiştir. Model sisteme sistein ya da lisin ilavesinin akrilamid oluşumunu azalttığı, glutamin ilavesinin ise akrilamid oluşumunu arttırdığı, alaninin etkisinin ise nötr olduğu tespit edilmiştir. Curtis et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada; çavdardan yapılan unlu mamullerde asparagin düzeyleri ile akrilamid oluşumu arasında çok yüksek korelasyon ($r=0,958$, $p<0,001$) bulunduğu belirtilmiştir.

De Vleeschouwer et al. (2009b) tarafından yapılan çalışmada düşük nemli koşullarda eşit molardeki asparagin-glikozdan oluşan 120 ve 200°C'daki model sistemde akrilamid oluşum ve eliminasyon reaksiyonlarına glutamin ve sisteinin etkisi araştırılmıştır. Glutamin ilavesinin akrilamid oluşumunu çok az arttırdığı, akrilamid oluşum ve eliminasyon reaksiyonlarının hız sabitini ise anlamlı ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Sisteinin ise tam tersine akrilamid oluşumunu azalttığı belirtilmiştir.

2.5.3. Yağlar

Akrilamidin oluştuğu düşünülen yollardan biri, gliserolün parçalanmasından oluşan akrolein üzerinden oluşması ya da çoklu doymamış yağ asitlerinin ve onların bozuma ürünlerinin oksidasyonu sonucu oluşmasıdır. Yağlar dumanlanma noktasının üzerindeki sıcaklıklara ısıtıldığında, gliserol akroleine parçalanmaktadır. Yağdaki doymamışlık düzeyinin artması ile akrolein oluşumu artmaktadır. Diğer taraftan, yağın cinsi de akrilamid oluşum hızını etkileyebilmektedir (Taeymans et al., 2004; Claeys et al., 2005a).

Capuano et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, ayçiçek yağından oluşan model sistemde, palm yağından oluşan model sisteme göre oksidasyona hassasiyetten dolayı daha yüksek düzeyde akrilamid oluştuğu, lipid oksidasyonu ile akrilamid oluşumu arasında pozitif korelasyon olduğu ifade edilmektedir. İlave

olarak, kateşinlerin lipid oksidasyonunu önleyerek, akrilamid oluşumunu azalttığı belirtilmiştir. Sonuç olarak düşük karbonhidrat içeren ya da karbonhidrat içermeyen yani lipidlerin tek karbonil kaynağı olduğu gıdalarda lipid oksidasyonunun akrilamid oluşumunda önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir.

2.5.4. Karbonhidratça ve proteince zengin matriksler

Kızartılmış ya da ızgara et ve balık ürünleri, patates ve tahıl ürünlerine göre düşük miktarda akrilamid içermektedir (Studer et al., 2004). Asparagin ve glikoz karışımları patates nişastasını matrikslerine ilave edildiğinde, tam buğday unu ya da et matrikslerine göre daha fazla akrilamid oluşumuna neden olmaktadır. Gıda matriksinin akrilamid oluşumunu artırma, azaltma gibi etkilerinin olduğu ifade edilmektedir. Ancak, hangi faktörlerin nasıl etkiledikleri henüz tam olarak belirlenemediği belirtilmektedir. Öncül maddeler olmadığı zaman, matriksin etkisi akrilamid oluşumunda yeterli olmamaktadır. Mısır ve buğday unu patatesteki konsantrasyona kadar asparagin ile zenginleştirildiğinde, patatestekinin ancak beşte biri kadar akrilamid oluşabileceği aynı zamanda akrilamidin mısır ve buğday ununda patatese göre daha yavaş parçalandığı belirtilmiştir (Claeys et al., 2005a).

Proteince zengin bir gıda ile nişasta bakımından zengin bir gıda karşılaştırıldığında, akrilamid degradasyonun, proteince zengin gıdada daha fazla olduğu bildirilmektedir. Bunun da akrilamidin proteinlerdeki amino asitlerle reaksiyona girmesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir. Glikoz-asparagin model sistemine lizin ilavesi ya da patateslerin homojenize edilmesi akrilamid oluşumunu azaltmaktadır. Bu azalmanın nedeni, Maillard reaksiyonunda lizin yüksek aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Glikoz-asparagin model sistemine sistein ilavesi, akrilamid oluşumunu azaltmaktadır. Buradaki azalma da 2 şekilde açıklanabilmektedir. İlki, sisteinin akrilamid oluşum reaksiyonlarını etkilemesi, ikincisi ise akrilamidin sistein ile reaksiyona girmesidir. Gıda matriksindeki partiküllerin boyutları da akrilamid oluşumunu etkileyebilmektedir. Patateste yapılan çalışmada patatesi toz haline getirme akrilamid oluşumunu etkilemezken, unda yapılan çalışmada partikül boyutunun akrilamid oluşumunu etkilediği belirtilmiştir. Çünkü, undaki partiküllerin boyutu tahılın nişasta ve protein miktarını etkilemektedir. Öğütme süresinin uzaması hem asparagin, hem de indirgen şeker miktarını etkilemektedir. Yani, daha az öğütülen unlarda akrilamid miktarının düştüğü ifade edilmektedir (Claeys et al., 2005a).

2.5.5. Gıdanın pH'sı

pH hem şeker grubunun, hem de amino grubunun reaktivitesini etkilemektedir (Claeys et al., 2005a). Akrilamid oluşumu için optimum pH 7-8 dir. Asparagin ve glikoz içeren bir model sistemin pH'sının 7'den 4'e düşürülmesi ile akrilamid oluşumunun %99 azaltılabildiği belirtilmiştir (Jung et al., 2003). pH'nın düşürülmesi ile asparaginin protonlanmamış serbest α -amino grubu protonlanmış amin grubuna ($-\text{NH}_3^+$) dönüşmektedir. Böylelikle, schiff bazının oluşumu bloke olmaktadır. Schiff bazının oluşumu akrilamid oluşumunda en temel basamaktır. Bu nedenle, akrilamid oluşumu pH'nın düşmesi ile azalmaktadır. Yapılan çalışmalarda, mısır cipslerinin kızartma işlemi öncesinde %0,1-0,2 ya da %1-2'lik sitrik asitli çözeltiliye daldırılmasının, akrilamid oluşumunu azalttığı görülmüştür (Claeys et al., 2005a, Foot et al., 2007; Mestagh et al., 2008b; Keramat et al., 2011b). Sadd et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada, unlu mamullerde pH'nın düşürülmesi ile akrilamid oluşumunun azaldığı bulunmuştur.

2.5.6. Gıdanın nemi

Gıdanın nemi %10-20 arasında olduğu zaman, akrilamid oluşumu ve eliminasyonu aynı anda gerçekleşmektedir. Maillard reaksiyonları ise, %12-18 nem düzeyinde etkin olarak gerçekleşmektedir. Nem içeriği azaldıkça oluşacak akrilamid miktarının arttığı belirtilmektedir (Claeys et al., 2005a; Vicklund et al., 2006). Sadd et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada, ekme ve bisküvilerde nemin artması ile akrilamid oluşumunun azaldığı tespit edilmiştir. Ancak, Curtis et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada; çavdardan yapılan unlu mamullerde nem düzeyleri ile akrilamid oluşumu arasında korelasyon bulunamamıştır.

2.5.7. Agronomik ve genetik faktörler

İşlenmemiş ürünün genetik yapısı, ürünün işlenmesi sırasında oluşacak akrilamid miktarını etkilemektedir. Örneğin ekmeğin akrilamid içeriği kullanılan buğdaya bağlıdır. Gübrelemenin çok yapıldığı toprakta yetişen buğdayın azot dolayısıyla protein ve asparagin miktarı da yüksek olacaktır. Bu ürünün işlenerek pişirilmesi sonrasında daha yüksek akrilamid oluşacaktır (De Wilde et al., 2004; Friedman and Levin, 2008).

2.6. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Azaltma Yolları

Literatür taraması yapıldığında, gıdalarda akrilamid oluşumunun aşağıdaki yollarla azaltıldığı görülmektedir.

- Proses parametreleri
- Reaktantlar
- Ön işlemler
- Katkı maddeleri

2.6.1. Proses parametreleri

Yapılan çalışmalarda, proses sıcaklığı ve süresinin uzaması ile akrilamid oluşumunun arttığı belirlenmiştir. Ancak, akrilamid düzeyi maksimum değere ulaştıktan sonra, aşırı pişirme sonrasında akrilamidin azaldığı saptanmıştır (Becalski et al., 2004; Olsson et al., 2004; Claeys et al., 2005a; Brathen and Knutsen, 2005; Fiselier and Grob, 2005; Pedreschi et al., 2006; Gökmen et al., 2006a; Zhang and Zhang, 2007; Mestagh et al., 2008a; Mondal and Datta, 2008). Rydberg et al., (2003) tarafından yapılan çalışmada 200°C’da uzun pişirme süresi uygulamalarında gıdalardaki akrilamid miktarının azaldığı, bu azalmanın da akrilamidin degrade olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir.

Uygulanan pişirme tekniği de akrilamid oluşumunu etkilemektedir. Örneğin, kurabiyelerin 140°C’da pişirilmesi sırasında ilk 10 dakikada akrilamid oluşmamakta, 10 dakikadan sonra oluşmaya başlamaktadır. Diğer taraftan, patates cipsleri 120°C’da kızartılırken, akrilamid oluşumu ilk 20 saniye içinde başlamaktadır (Franke et al., 2009). Ayrıca, patateslerin kızartılması sırasında, 170°C’da 2 dakika+150°C’da 2 dakika, 170°C’da 1 dakika+150°C’da 3 dakika, 190°C’da 1 dakika+150°C’da 3 dakika şeklinde farklı sıcaklık programlarının yapılması ile de akrilamid oluşumunun azaltılabildiği bulunmuştur (Palazoğlu and Gökmen, 2008).

Gökmen and Palazoğlu’na (2008) göre akrilamid oluşumunun, kurumanın fazla olması nedeni ile kızartılan gıdalarda gıdanın yüzeyinde ve yüzeye yakın yerlerde oluştuğu belirtilmektedir.

Palazoğlu et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, 170°C, 180°C ve 190°C'da kızartılarak ve pişirilerek hazırlanan 1,4 mm kalınlığındaki patates cipslerinde akrilamid oluşum düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çiğ patatesten indirgen şeker ve asparagin analizleri yapılmıştır. Akrilamid analizleri LC/MS'de yapılmıştır. 170°C, 180°C, 190°C'da kızartılan patates cipslerindeki akrilamid düzeyleri sırasıyla 19,6 ng/g, 39ng/g ve 95ng/g; pişirilen patates cipslerinde akrilamid düzeyleri ise sırasıyla, 47,8 ng/g, 19,3 ng/g ve 29,7 ng/g olarak tespit edildiği ifade edilmektedir. 170°C'da pişirme ile aynı sıcaklıkta kızartmaya göre 2 katından daha fazla akrilamid oluşumu saptanırken, 180°C ve 190°C'da ise kızartma işlemlerinde pişirmeye göre daha yüksek akrilamid düzeyleri belirlenmiştir.

Barutçu et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada, farklı unlarla (soya, nohut ve pirinç) kaplanarak mikrodalgada ve yağda kızartılan tavuklarda akrilamid oluşumu LC-MS'de araştırılmıştır. Farklı un tipleri ile kaplanarak kızartılan tavukların akrilamid düzeylerinin birbirine yakın olduğu ve mikrodalgada kızartılanlarda yağda kızartılanlara göre daha düşük akrilamid düzeyleri bulunmuştur.

Claus et al. (2008a) tarafından LC-MS/MS'de yapılan çalışmada fermantasyon süresinin artması ile akrilamid oluşumunun azaldığı belirtilmektedir. Ayrıca, akrilamid oluşumunu azaltmak için, düşük pişirme sıcaklığında uzun pişirme süresi önerilmektedir.

Gökmen et al. (2007) tarafından yapılan çalışmada hamur formülasyonunun ve pişirme koşullarının, kurabiyelerde akrilamid ve hidroksimetilfurfural oluşumuna etkileri araştırılmıştır. 205°C'da 11 dakika pişirilen kurabiyelerin hamur formülasyonundaki şeker miktarının artması akrilamid oluşumunu arttırmıştır. Ayrıca, sakkaroz içeren hamura sitrik asit ilavesi ile akrilamid oluşumunun arttığı, glikoz içeren hamurda sitrik asit ilavesinin ise akrilamid miktarını azalttığı ve hamur pH' sını düşürmenin HMF oluşumunu arttırdığı bulunmuştur. Kurabiyelerde, arzu edilen doku ve rengin elde edilmesi ve 150 ng/g`ın altında akrilamid oluşması için, pişirme sıcaklığının düşürülmesi ve indirgen şeker kullanılmaması önerilmektedir.

Karasek et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada kompozisyonu patatese çok benzeyen kestanenin akrilamid düzeyi LC-MS/MS ile araştırılmıştır. Kestane'nin nem düzeyi %49-60 arasında değişmektedir. Diğer besin öğelerinin

ise, kuru madde bazında nişasta %56-82, sakkaroz %10-30, protein %3-9 ve lipid %1,3-6 düzeyinde olduğu yani besin ögesi kompozisyonu açısından patatese çok benzediği belirtilmektedir. Kavrulmuş kestanelerin akrilamid içeriği 8-1278 µg/kg olarak bulunduğu ve kavurma süresinin akrilamid oluşumunu arttırdığı ifade edilmektedir.

Morales et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada kurabiyelerin pişirilmesi sonucu oluşan akrilamid ve hidroksimetilfurfuralın antioksidan aktivite açısından “risk/fayda” değerleri, akrilamid (µg/kg) ya da hidroksimetilfurfural (mg/kg) miktarı/antioksidan aktivite şeklinde hesaplanmıştır. “Risk/fayda” değerleri, pişirmenin değerlendirilerek, formülasyonun değiştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Akrilamid ve hidroksimetilfurfural için “risk/fayda” değerlerinin, pişirme süresi ve sıcaklığının artması ile arttığı belirtilmiştir.

Shaikh et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada, alevde kavrulmuş, kızartılmış ve mikrodalga da pişirilmiş papadlarda (tahıllardan yapılan geleneksel bir Hint yemeği) alkali tuzu olarak kullanılan “papad khar” ın (papad yapımında kullanılan alkali tuz) ve onun yerine 2:1 oranında kullanılan sodyum karbonat:sodyum bikarbonatın akrilamid oluşumuna etkileri LC-MS/MS’ de incelenmiştir. “Papad khar” ve sodyum karbonat-sodyum bikarbonat ilavesinin ürünü alkali yaptığı ve bunun da akrilamid oluşumuna yardımcı olduğu belirtilmiştir. Akrilamid içeriği ile pH arasında kızartılmış ve kavrulmuş örneklerde pozitif korelasyon bulunduğu ifade edilmektedir. Mikrodalgada pişirilen papadlarda alkali tuzlarının tüm konsantrasyonlarında akrilamid oluşumu gözlenmemiştir. Alevde kavurma, kızartmaya göre daha yüksek akrilamid düzeylerinin oluşumuna neden olduğu ve mikrodalga yönteminin tüketicilere önerilebilecek güvenli bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

Zhang et al. (2007a) tarafından yapılan çalışmada düşük nemli asparagin-şeker sistemlerinde akrilamid oluşumu araştırılmıştır. Akrilamid analizleri UPLC-MS/MS’de yapılmıştır. Asparagin-glikoz sistemi 199°C’da 18 dakika ısıtıldığında akrilamid oluşumunun en yüksek düzeye ulaştığı; asparagin-früktozdan oluşan model sistemde, sıcaklığın artırılarak sürenin kısalması (>200°C, <15 dakika) ve sıcaklığın düşürülerek sürenin uzatılması (<150°C, >35 dakika) ile akrilamid oluşumunun arttığı; asparagin-sakkaroz model sisteminde ise, akrilamid oluşumunun sıcaklığın artırılıp sürenin kısaltılması ile artarken, sıcaklığın düşürülüp ısıtma süresinin uzaması ile azaldığı ifade edilmektedir.

Yuan et al. (2007) tarafından yapılan çalışmada, mikrodalga, haşlama, kızartma ve geleneksel yöntemle pişirme yöntemlerinin asparagin/früktoz ve asparagin/glikoz model sisteminde ve patates cipslerinde akrilamid oluşumuna etkileri karşılaştırılmıştır. Akrilamid analizlerinin, HPLC’de yapıldığı, doğrulamasının ise HPLC/MS-MS’de yapıldığı belirtilmektedir. 2 model sistemde de; mikrodalga (600 W) ve haşlama (120°C) yöntemlerinde, pH’nın akrilamid oluşumunda etkili olduğu bulunmuştur. pH 8,0’ın altında, akrilamid içeriği pH değerinin artması ile arttığı, pH 8,0’da maksimum düzeye ulaştığı, pH 8,0’ın üstünde pH’nın artması ile akrilamid düzeyinin düştüğü belirtilmektedir. pH değeri ve pişirme yöntemi ne olursa olsun, pişirme süresinin uzaması ile akrilamid oluşumunun arttığı ifade edilmektedir. Literatürdeki benzer çalışmalardan farklı olarak 2 model sistemde de, mikrodalga ile pişirme yönteminin akrilamid oluşumunu arttırdığı ve belirli pH, belirli pişirme süresinde haşlama yöntemine göre daha fazla akrilamid oluşumuna neden olduğu belirtilmektedir. pH 4.0, 8.0 ve 10.0’daki model sistemlerde, mikrodalğanın gücü arttıkça akrilamid oluşumunun arttığı ifade edilmiştir. Patates cipslerinin 2,5-3,5 dakika 550-750 W’da mikrodalga ile pişirilmesi sonucunda, model sistemdekilerle benzer akrilamid düzeyleri elde edilmiştir. En yüksek akrilamid düzeyi 750 W’lık uygulamada $0,897 \pm 0,099$ mg/kg olarak elde edilmiştir. Geleneksel yöntemle 182°C’da pişirilen patates cipslerinden ($0,645 \pm 0,035$ mg/kg) daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir.

De Vleeschouwer et al. (2010) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, yüksek sıcaklık-basınç uygulamasının eşit molaritedeki asparagin-glikoz model sistemlerinde akrilamid oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu model sistemlere yüksek basınç, yüksek sıcaklık (100-115°C, 400-700 Mpa, 0-60 dakika) uygulandığı, karşılaştırma amacı ile model sistem ortam basıncında da ısıtıldığı, son üründe akrilamid, reaktant, hidroksimetilfurfural, organik asit, melanoidin, pH ve işlem görmemiş model sistemde pH düzeylerinin belirlendiği, fosfat ve MES olmak üzere 2 tamponla çalışıldığı belirtilmiştir. Yüksek basınç uygulamasının akrilamid oluşumunu geciktirdiği, 400 ve 700 MPa arasında akrilamid düzeyleri açısından farklılık olmadığı, akrilamid oluşumunun MES tamponda daha yüksek konsantrasyonda oluştuğu ve yüksek basınçta yüksek sıcaklık uygulanmış ürünlerde akrilamid düzeyinin düşük olduğu belirtilmiştir.

Baardseth et al. (2006b) tarafından yapılan çalışmada haşlanmış ve haşlanmamış patatesler *Lactobacillus plantarum* ile 37°C’da 45 ve 120 dakika fermente edilmiştir. Patatesler 170°C’da 3 dakika ön kızartma yapıp,

soğutulduktan sonra, 135 saniye derin yağda kızartılmıştır. Haşlanmamış patateslerin 45 dakikalık laktik asit fermantasyonu akrilamid oluşumunu %48 oranında azaltırken, 120 dakikalık laktik asit fermantasyonu akrilamid oluşumunu %71 oranında azaltılmıştır. Haşlanmış patateslerin 45 dakikalık laktik asit fermantasyonu akrilamid oluşumunu %79 oranında azaltırken, 120 dakikalık laktik asit fermantasyonu akrilamid oluşumunu %94 oranında azaldığı ifade edilmektedir.

Özkaynak (2006) tarafından yapılan çalışmada, kızartma yağı çeşidinin, kızartma süresinin ve yumurtayla kaplamanın sigara böreklerinin yağda kızartılması sırasında akrilamid oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Sigara börekleri 175°C’da ayçiçeği yağında, zeytinyağında ve mısırözü yağında 5, 10 ve 20 dakika kızartılarak, yağ çeşidine göre akrilamid oluşumu incelendiğinde; en yüksek akrilamid miktarının (171,1 µg/kg) ayçiçek yağında; en düşük akrilamid miktarının (55,1 µg/kg) ise mısırözü yağında saptandığı belirtilmiştir. Kaplanmamış sigara böreklerinin 10 dakika ayçiçeği yağında, zeytinyağında ve mısırözü yağında kızartılması sonucunda oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 125,9; 110,3; 102,1 µg/kg iken, yumurtayla kaplanarak 10 dakika kızartılan sigara böreklerinde oluşan akrilamid miktarlarının ise 77,4; 43,3; 35,8 µg/kg olduğu ve aralarındaki bu farkın istatistiksel açıdan önemli bulunduğu belirtilmektedir ($p<0,01$). Kaplanmamış örneklerde her üç yağ çeşidi için de kızartma süresine bağlı olarak gelişen renk koyulaşması sonucunda akrilamid oluşum miktarları artarken L (aydınlık) değerlerinin azaldığı ifade edilmektedir.

2.6.2. Reaktantlar

Akrilamid düzeyi indirgen şeker miktarı ile ilgili olduğundan, indirgen şekerlerin miktarının azalması, akrilamid oluşumunu azaltmaktadır. İndirgen şeker miktarını azaltma yerine akrilamid oluşumunda reaktif olan şekerler daha az reaktif olanlar ile yer değiştirebilmektedir. Örneğin, akrilamid oluşumu früktozun glikoz ile yer değiştirmesi ile azaltılabilmektedir. Graf et al. (2006) tarafından yapılan çalışmada, yarı bitmiş bisküvi üretiminde indirgen şeker yerine sakkaroz çözeltisinin kullanımının akrilamid oluşumunu %70 oranında azalttığı ifade edilmektedir. Asparagin içeriği daha düşük ham maddelerin seçilmesi ya da ısıl işlem öncesinde asparaginin bloke edilmesi ile akrilamid oluşumu azaltılabilmektedir. Asparaginin aspartik aside ve amonyağa parçalanması kimyasal ya da enzimatik yollarla gerçekleşmektedir. Enzimatik hidrolizde asparaginaz enzimi kullanılmaktadır. Asparaginaz enzimi ile muamele sonrasında,

asparagin miktarı %88, akrilamid oluşumu ise %99 azaltılabilmektedir. Bu yöntemin dezavantajı, asparaginin asparaginaz enzimi ile temas edebilmesi için, asparaginin hücreden tamamen salınmasının gerekliliğidir. Ayrıca, gıdada asparaginaz enzimi uygulamalarının güvenliği ile ilgili daha çok çalışmanın yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Asparaginin etkisini azaltmanın diğer bir yolu ise, asparaginin amin grubunu bloke etmektir. Böylece, akrilamid oluşumunda ara ürün olan N- glikozid oluşumu engellenmiş olmaktadır (Claeys et al., 2005a; Konings et al., 2007; Guenther et al., 2007; Palazoğlu and Gökmen, 2008; Jaeger et al., 2010; Anese et al., 2011). Vass et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada hamura asparagin enziminin ilavesinin krakerlerde akrilamid oluşumunu %70 oranında azalttığı saptanmıştır. Benzer sonuçlar Anese et al. (2011) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Pedreschi et al. (2008) tarafından yapılan bir başka çalışmada, patatesler kızartma öncesinde 10000 ASNU/l lik asparaginaz çözeltisinde 40°C'da 20 dakika bekletildiğinde, akrilamid oluşumunun %30 oranında azaldığı ifade edilmektedir.

Pedreschi et al. (2011) tarafından yapılan çalışmada, 40 mm çapındaki patates dilimleri NaCl çözeltisine daldırıldıktan sonra 170°C'da 5 dakika kızartılmıştır. Birinci grup; sadece suya daldırılmıştır (1. kontrol örnekleri). İkinci grup; 85°C'da 3,5 dakika haşlanan patates dilimleri, üçüncü grup; 50°C'da 20 dakika 10000 ASNU/l'lik asparaginaz çözeltisinde bekletilen patates dilimleri, 4. grup; 85°C'da 3,5 dakika haşlandıktan sonra 10000 ASNU/l'lik asparaginaz çözeltisinde bekletilen patates dilimleri, beşinci grup; 85°C'da 3,5 dakika haşlandıktan sonra 50°C'da 20 dakika suda bekletilen patates dilimleri (2. kontrol örnekleri) oluşturmaktadır. 2. ve 3. grupta yakın akrilamid değerlerinin elde edildiği yani haşlamanın ve asparaginaz enzimi uygulamalarının akrilamid oluşumunu önlemede yaklaşık %83 oranında etkili olduğu; asparaginaz enzimi çözeltisine daldırmadan önce haşlama uygulaması yapıldığında akrilamid oluşumunun %90 oranında azaldığı belirtilmektedir.

Tuncel et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, bezelye orjinli asparaginaz enziminin; buğday, kepek ve tam un ekmeklerinde akrilamid oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır. 2 gün çimlendirilmiş bezelye unu % 0, 1, 3, 5 oranlarında ekmeğe katılmıştır. Beyaz buğday ekmeğinde akrilamid oluşumunda anlamlı bir azalma tespit edilmemiştir. Ancak, kepek ve tam un ekmeklerine %5 oranında bezelye unu ilave edilmesi ile %57 ve %68 oranında azalma tespit edilmiştir.

2.6.3. Ön işlemler

Gıdalara pişirme öncesinde uygulanan ön işlemler ile akrilamid oluşumu azaltılabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, gıdaları pişirmeden önce, haşlama ve suda bekletme gibi ön işlemlerin akrilamid oluşumunu azalttığı belirtilmektedir. İlave olarak, haşlama işlemi yüzeydeki nişastayı jelatinize ettiği için, yağ absorpsiyonunu azaltmaktadır. Aynı zamanda, haşlama asparaginin gıdadan ayrılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle, akrilamid oluşumu azalmaktadır. Soğuk suda bekletme haşlama kadar etkili değildir. Çünkü, haşlama sırasında, sıcaklık hücre zarlarının geçirgenliğini arttırmakta, akrilamidin öncül maddeleri bu sayede ekstrakte olmakta ve akrilamid oluşumu azalmaktadır (Claeys et al., 2005a; Foot et al., 2007).

Mestagh et al. (2008a) tarafından yapılan çalışmada, haşlama süresi ve haşlama sıcaklığının patates dilimlerinden indirgen şekerin ekstraksiyonuna ve kızartma sonrası patates cipsi ve patates kızartmasında akrilamid düzeyine etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, patates cipslerinde patates kızartmasına göre, haşlama sırasında şeker kaybının fazla olması nedeni ile daha düşük akrilamid düzeyleri tespit edilmiştir. Ayrıca, 70°C'daki haşlamanın daha düşük sıcaklıklardaki haşlamaya göre daha etkili bulunduğu belirtilmektedir.

Anese et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada patateslerin kızartma öncesinde, glisin ile muamele edilmesi sonrasında %35-50 oranında, glisin varlığında laktik asit fermantasyonunun ise %70 oranında akrilamid oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Bu işlemlerin patateslerin duyuusal özelliklerini etkilemediği ifade edilmektedir. Low et al. (2006) tarafından yapılan çalışmada da patates model sisteminde glisin ilavesinin akrilamid oluşumunu ilave edilen glisin miktarına göre %30-70 arasında azalttığı ifade edilmiştir. Brathen et al. (2005) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, cipslerin haşlanması sırasında glisin ilavesinin akrilamid oluşumunu %30 oranında azalttığı, ekmeğin pişirilmesi sırasında hamura glisin ilavesinin ise akrilamid oluşumunu %50-90 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada, hamura glisin ilavesinin ekmekte akrilamid oluşumunu azalttığı ifade edilmektedir (Friedman and Levin 2008).

Cheng et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, model sistemde ve kızartılmış patates cipslerinde meyve ekstraktlarının akrilamid oluşumu üzerine etkileri HPLC-UV'de araştırılmıştır. Elma, yaban mersini, mangosteen (Güney Asya'da yetişen tropikal bir meyve), longan (Güney Çin'e ait tropikal bir meyve-

ejderha gözü meyvesi), ejder (dragon) meyvesinden doğal yollarla elde edilen ekstraktlar üzerinde çalışılmıştır. Model sistemlerin eşit molaritede glikoz ve asparagin içermeleri sağlanmıştır. Elma ekstraktı akrilamid oluşumunu önlemede etkili bulunmuştur. Yaban mersini, mangosteen ve longan ekstraktlarının anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. Ejder meyvesi ekstraktlarının ise, akrilamid oluşumunu arttırdığı belirtilmiştir. Proantosiyanidin açısından zengin gıdalar, akrilamid oluşumunu önlemede önemli önleyici etki göstermektedir. Model sistemde saptanan önleyici etki patates cipslerinde de gözlenmiştir.

Shin et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, pH'nın 5,0-8,0 aralığına düşürülmesi ile akrilamid oluşumunun önlendiği belirtilmiştir. Kızartılmış patates cipsi modelinde, 170°C'da 3 dakika kızartma öncesinde patates dilimlerinin %0,1-2'lik taurin çözeltisine 30 dakika daldırılması akrilamid oluşumunda anlamlı azalmalara neden olmuştur. Ancak, akrilamid oluşumundaki azalmalar ile çözelti konsantrasyonu arasında bir ilişki bulunamamıştır. 15-60 dakika arasındaki uygulama süreleri de akrilamid oluşumunu anlamlı ölçüde azaltmıştır. Ancak, uygulama süresi ile akrilamid oluşumu arasında da bir ilişki saptanamamıştır. Seyreltik taurin çözeltisinin kısa süre uygulanması akrilamid oluşumunun azaltılmasında etkili olmaktadır.

Gökmen and Şenyuva (2007) tarafından yapılan çalışmada Maillard reaksiyonu sırasında oluşan akrilamid oluşumunun bir ve iki değerlikli katyonlarla önlenmesi araştırılmıştır. 150 ve 180°C'lardaki früktoz-asparagin model sistemlerinde 1 ve 2 değerlikli katyonlar ilave edilmiştir. Eşit miktarda asparagin ve früktoz içeren model sisteme, 2 değerlikli katyon ilave edildiğinde, akrilamid oluşumunun tamamen önlendiği, 1 değerlikli katyon ilave edildiğinde ise akrilamid oluşumunun yarıya indiği tespit edilmiştir. Patateslerle yapılan denemelerde kızartma öncesinde soydum klorür içeren suda bekletmenin, kızartma sırasında oluşan akrilamidi %95 oranında azalttığı ve patateslerin duyu özelliklerinin bu işlemde olumsuz etkilenmediği belirtilmiştir.

Pedrechi et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada, patates dilimlerinin kızartılması sırasında akrilamid oluşumunun azaltılması HPLC/MS-MS'de araştırılmıştır. Patates dilimleri 150°C, 170°C ve 190°C'da kızartılmıştır. Kızartma öncesinde, patates dilimlerine 3 farklı işlem uygulanmıştır. İlk işlemde; patates dilimleri 0, 40 ve 90 dakika saf suya daldırılmış, ikinci işlemde sıcak suda farklı sıcaklık ve sürelerde (50°C'da 30 ve 70 dakika; 70°C'da 8 ve 40 dakika; 90°C'da 2 ve 9 dakika) haşlanmıştır. Üçüncü işlemde ise, farklı konsantrasyonlarda (10 ve

20 g/l) sitrik asit içeren çözeltilere yarım saat daldırılmıştır. Kızartma öncesinde, patates dilimlerinde glikoz ve asparagin konsantrasyonları belirlenmiştir. 90 dakika suda bekleyen patates dilimlerinde glikoz içeriği, %32 azalmıştır. Suda bekletilen dilimlerde akrilamid oluşumunda 150°C, 170°C ve 190°C’da kızartılan patateslerde kontrol örneğine göre sırasıyla %27, %38 ve %20 azalma saptanmıştır. İkinci işlem olan haşlamada, glikoz ve asparagin miktarlarında kontrol örneğine göre %76 ve %68 oranında azalma saptanmıştır. 50°C’da 70 dakika haşlanıp 3 farklı sıcaklıkta kızartılan patates dilimlerinde çok düşük akrilamid düzeyi (<28 µg/kg) tespit edilmiştir. 10 ve 20 g/l lik sitrik asit çözeltilisine daldırılarak 150°C’da kızartılan patateslerde akrilamid düzeyi %70 azalmıştır. Üç ön işlem uygulanan patateslerde de akrilamid oluşumu kızartma sıcaklığının 150°C’den 190°C’a artması ile artmıştır.

Pedreschi et al. (2007a) tarafından yapılan çalışmada ön kurutma uygulanmış patates dilimlerinde akrilamid içeriği ve renk gelişimi araştırılmıştır. Patates dilimleri (37 mm çapında ve 2,2 mm genişliğinde) kızartma öncesinde 85°C’da 3,5 dakika haşlanıp, konveksiyonlu fırında kurutularak, kontrol örnekleri ise herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler 120, 140, 160 ve 180°C’da kızartılmıştır. Akrilamid analizlerinin HPLC-MS/MS ile yapıldığı araştırma sonuçlarına göre, ön kurutma işleminin patates dilimlerinde rengi etkilemediği, fakat 180°C’da kızartılan örneklerde akrilamid düzeyinin ön kurutma işlemi ile %44 azaldığı belirtilmiştir.

Pedreschi et al. (2007b) tarafından yapılan çalışmada patates cipslerini sodyum klorür çözeltilisine daldırmanın akrilamid oluşumu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Kontrol örnekleri için, patates dilimleri (37 mm çapında ve 2,2 mm genişliğinde) kızartma öncesinde 85°C’da 3,5 dakika haşlanırken, diğer örnekler aynı koşullarda haşlama sonrasında 25°C’da, 0,02 g/l’lik sodyum klorür çözeltilisinde 5 dakika 200 rpm hızla karıştırılmıştır. İki grup örnekte 120, 140, 160 ve 180°C’da kızartılmıştır. Araştırma sonucunda, kızartma öncesinde sodyum klorür çözeltilisinde beklenen patates cipslerindeki akrilamid oluşumunun kontrol örneklerine göre %90 azaldığı saptanmıştır.

Pedreschi et al. (2010a) tarafından yapılan çalışmada, 40 mm çapındaki patates dilimleri NaCl çözeltilisine daldırıldıktan sonra 170°C’da 5 dakika kızartılmıştır. 6 grup örnekte çalışılmıştır. Birinci grup; haşlanmamış kontrol örnekleridir. İkinci grup; 90°C’da 5 dakika haşlanan patates dilimleri, üçüncü grup; 90°C’da 5 dakika haşlandıktan sonra 25°C’da 5 dakika 1 g/100 g’lık NaCl

çözeltisinde bekletilen patates dilimleri, 4. grup; 90°C'da 5 dakika haşlandıktan sonra 25°C'da 5 dakika 3 g/100 g'lık NaCl çözeltisinde bekletilen patates dilimleri, beşinci grup; 90°C'da 5 dakika haşlandıktan sonra 25°C'da 5 dakika suda bekletilen patates dilimleri, altıncı grup; 3 g/100 g'lık NaCl çözeltisinde 90°C'da 5 dakika haşlanan patates dilimlerini oluşturmaktadır. Akrilamid düzeyindeki en etkin düşüşün, 90°C'da 5 dakika haşlandıktan sonra 25°C'da 5 dakika 1 g/100 g'lık NaCl çözeltisinde beklenen patates dilimlerinde gerçekleştiği, akrilamid oluşumunun %62 oranında azaldığı ifade edilmektedir.

Viklund et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, 4°C ve 8°C'da depolanan patateslerde haşlamanın akrilamid oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır. 6, 12, ve 18 hafta depolama sonrasında 80°C'da 3 dakika haşlanan ve derin yağda 3 dakika kızartılan patateslerde akrilamid düzeyleri belirlenmiştir. Haşlama işleminin akrilamid oluşumunu %51-73 oranında azalttığı ifade edilmektedir. Ishihara et al. (2006) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, patateslerin kızartılmadan önce bekletildiği suyun sıcaklığı ve bekleme süresi arttıkça, akrilamid oluşumunun düştüğü ifade edilmektedir. Mestagh et al. (2008c) tarafından yapılan çalışmada, patates cipslerinin 170°C'daki 3 dakikalık kızartma işlemi öncesinde 65°C'da 5 dakika haşlanmıştır. Haşlama suyuna kalsiyum iyonları, sodyum iyonları, sitrik asit ve asetik asit ilavesinin akrilamid oluşumunu azalttığı ifade edilmektedir.

Mulla et al. (2011b) tarafından yapılan çalışmada ışınlamanın patateslerde akrilamid oluşumuna etkisi belirlenmiştir. Işınlanmış patateslerin 14°C ve 4°C'da 6 ay depolanma sonrasında kızartılması ile akrilamid düzeylerinin ışınlanmadan depolanmış patates kızartmalarına göre sırasıyla %8,41 ve %6,95 oranında azaldığı ifade edilmektedir.

Tuta et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, dondurulmuş patates dilimlerine kızartma öncesinde mikrodalgada ön çözünme yapılmasının akrilamid oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Patates dilimleri mikrodalgada çözüldükten sonra 170, 180 ve 190°C'da ayçiçeği yağında kızartılmıştır. Çözündürülmeden kızartılan patates dilimleri kontrol örneği olarak kullanılmıştır. Ön çözündürme işleminin 170, 180 ve 190°C'da kızartılan patateslerin akrilamid düzeylerini kontrol örneklerine göre sırasıyla; %10, %89, %64 oranında azalttığı belirtilmektedir.

2.6.4. Katkı maddeleri

Akrilamid ile ya da onun öncü maddeleri ile reaksiyona girebilen antioksidanların kullanımının, ısıl işlem uygulanmış gıdalarda akrilamid oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir. Ancak, antioksidanların akrilamid oluşumu üzerine etkileri ile ilgili kesin ifadeler söylenememektedir. Örneğin, yağsız ete BHT, susam ve E vitamini gibi antioksidanların pişirme işlemi öncesinde ilave edilmesinin daha yüksek akrilamid oluşumuna neden olduğu, diğer taraftan, flavanoid içeren antioksidanların ise akrilamid düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır (Tareke 2003; Claeys et al., 2005a; Hedegaard et al., 2008). Becalski et al. (2002) tarafından yapılan çalışmada patates dilimlerinin kızartılmasında kullanılan yağa biberiye baharatının ilavesinin akrilamid oluşumunu azalttığı belirtilmiştir. Bu nedenle antioksidanların akrilamid oluşumuna olumlu ya da olumsuz katkıları ile ilgili kesin yargılar söylenmesinin mümkün olmadığı ifade edilmektedir (Taeymans et al., 2004; Hidalgo et al., 2010).

Zhang and Zhang (2008) tarafından yapılan çalışmada asparagin-glikoz model sisteminde doğal antioksidan özellik gösteren bamboo yapraklarının ve yeşil çay yapraklarının akrilamid oluşuma ve eliminasyonuna etkileri araştırılmıştır. Bamboo yapraklarının %74,4, yeşil çay yapraklarının ise %74,3 oranında akrilamid oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Bu farklı etkilerin, katkıların antioksidan özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Patates gibi nişastalı bitkilerde, akrilamid fenolik maddeler varlığında düşmektedir. Kotsiou et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada da, patates nişastasından oluşan model sisteme tyrosol, oleuropein ve p-hidroksifenilasetik asit ilavesinin akrilamid oluşumunu %50 oranında azalttığı ifade edilmektedir.

Askorbik asidin antioksidan olarak kullanımında; askorbik asidin kendisi pişirme sırasında parçalandığından, akrilamidi azaltma açısından etkili bulunmamıştır. Kabartma ajanı olarak kullanılan amonyum bikarbonatın tahıl ürünlerinde akrilamid oluşumunu arttırdığı görülmüştür. Amonyum tuzlarının, sodyum ya da potasyum tuzları ile değiştirilmesinin akrilamid oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir (Claeys et al., 2005a; Amrein et al., 2007; Friedman and Levin, 2008; Grob, 2007). Mestagh et al. (2008b) tarafından yapılan çalışmada patates tozundan yapılan model sistemde sitrik asit, asetik asit ve laktik asit uygulamalarının pH'yı düşürmeleri nedeni ile akrilamid oluşumunun azaldığı saptanmıştır.

Ou et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada glikoz-asparagin model sisteminde ferulik asit, kateşin, CaCl_2 , NaHSO_3 ve L-sisteinin akrilamid oluşumunu önleyici etkileri araştırılmıştır. Bu ajanların hepsinin akrilamid oluşumunu önlediği, CaCl_2 'ün ise akrilamid oluşumunu %85'e kadar azalttığı saptanmıştır. Sadd et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada, unlu mamullerin hamuruna karbonat ve klorür şeklinde ilave edilen kalsiyum metalinin akrilamid oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir.

Ou et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, TBHQ, BHA, BHT, ferulik asit, EGCG ve C vitamini gibi antioksidanların ve bunların oksidasyon ürünlerinin akrilamid oluşumunu önleme üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu araştırmanın sonucunda; antioksidanların akrilamidi etkin bir şekilde parçalayamadığı ya da oluşumunu önleyemediği hatta akrilamid oluşumunu arttırdığı ancak; oksidasyon ürünlerinin akrilamidi ve öncü maddesi olan asparagini parçaladığı ve antioksidanların yağda karbonil bileşiklerinin oluşumunun önleyerek akrilamid oluşumunu önlediği ifade edilmektedir.

Zeng et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada model sistemde ve parmak patatesinde akrilamid oluşumunun 15 farklı vitamin ile önlenmesi araştırılmıştır. Akrilamid analizleri LC/MS-MS de yapılmıştır. Suda çözünen vitaminlerle ilgili çalışmalar asparagin ve glikoz içeren model sistemde ve kızartılmış gıdalarda uygulanmıştır. Yağda çözünen vitaminler ise sadece gıdada incelenmiştir. Biotin, pridoksin, pridoksamin ve L-askorbik asidin model sistemde akrilamid oluşumu üzerinde %50'den fazla önleyici etkisinin olduğu bulunmuştur. Suda çözünen vitaminlerin akrilamid oluşumunu önlemede etkin oldukları bulunmuştur. Yağda çözünen vitaminlerle ilgili çok zayıf bir önleyici etki saptanmıştır. Pridoksal, nikotonik asit ve L-askorbik asitin önleyici etkileri kızartılmış parmak patateslerde de incelenmiştir. Nikotonik asit ve pridoksal kızartılmış parmak patateslerde akrilamid oluşumunu %51 ve %34 oranlarında önlemiştir. Arribas-Lorenzo and Morales (2009) tarafından yapılan başka bir çalışmada düşük nemli 120°C ve 180°C 'lardaki glikoz/asparagin model sisteminde pridoksaminin akrilamid oluşumunu azaltmadaki etkisi araştırılmıştır. Pridoksaminin akrilamid oluşumunu %51'e kadar azalttığı saptanmıştır.

Graf et al. (2006) tarafından yapılan çalışmada, yarı bitmiş bisküvilerde akrilamid oluşumunun azaltılması araştırılmıştır. Akrilamid analizleri GC-MS ile yapılmıştır. Amonyum hidrojen karbonatın sodyum hidrojen karbonat ile yer değiştirmesi akrilamid oluşumunu %70 oranında azaltmıştır. Tartarik asit

ilavesinin akrilamid oluşumunu üçte bir oranında azalttığı bulunmuştur. Gökmen et al. (2011) tarafından yapılan çalışmada, ekmeğe omega-3 yağ asitlerinin eklenmesi ile akrilamid düzeylerinin azaldığı ifade edilmektedir.

2.7. Akrilamid Analiz Yöntemleri

Akrilamid gıda analizcileri için oldukça yeni bir konu olmasına rağmen, 2002’de gıdalarda oluştuğu tespit edildiğinden bu yana akrilamid ile ilgili çok sayıda yöntem geliştirme çalışması yapılmış ve halen bu çalışmalar devam etmektedir.

Literatür taraması yapıldığında akrilamid analizlerinin GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS, Elektrokromatografik kapiler kromatografi yöntemi, biyosensör kit yöntemi, NIR yöntemi, ELISA yöntemi ile yapıldığı ifade edilmektedir (Zhou et al., 2007a; Gianni et al., 2007; Pedreschi et al., 2010b; Quan et al., 2011). Ancak, en yaygın kullanılan yöntemler GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS’dir (Leung et al., 2003; Wenzl et al., 2003; Petersson et al., 2006; Başkan and Erim, 2007; Gökmen and Palazoğlu, 2008). Her iki yöntemde rutin analizlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çizelge 2.3’de Avrupa’da resmi ve özel laboratuvarlarda uygulanan akrilamid analiz yöntemleri görülmektedir.

Çizelge 2.3. Avrupa’da resmi ve özel laboratuvarlarda uygulanan akrilamid analiz yöntemleri.

| Ülke | Resmi Lab. | Özel Lab. | LC-MS ya da LC-MS/MS | LC-UV | GC-MS (EI/CI) | GC-MS (Bromlama) |
|-----------------|------------|-----------|----------------------|-------|---------------|------------------|
| Avusturya | X | | X | | | X |
| Belçika | X | | X | | | |
| İsviçre | X | X | X | | X | X |
| Çek Cumhuriyeti | X | | | | X | |
| Danimarka | X | | X | | | |
| Almanya | X | X | X | X | X | X |
| İspanya | X | | | | | X |
| Fransa | X | | X | | | |
| Finlandiya | | | X | | | |
| Yunanistan | X | | | | X | X |
| İrlanda | X | | | | | X |
| İtalya | | X | | | | X |
| Norveç | X | | X | | | |
| Hollanda | X | | X | | | |
| İngiltere | X | | X | | | X |
| İsveç | X | X | X | | | X |

Akrilamid analizinde örnek hazırlama aşaması önemlidir. Gıdanın yapısına uygun olarak örnek homojenize edilir (Hoenicke et al., 2004). Akrilamid analizi sırasında örnekteki akrilamid miktarında kayıplar olabilmektedir. Bu kayıpları önlemek için, ekstraksiyon işleminin başlangıcında akrilamid izotopu iç standart olarak ilave edilmektedir. Ancak, iç standart sadece MS bazlı cihazlarda yapılan çalışmalarda kullanılabilir. Bu amaçla kullanılan en yaygın iç standartlar izotop etiketli [$^{13}\text{C}_3$] akrilamid, [D_3]-akrilamid, [$^{13}\text{C}_1$] akrilamid'dir (Wenzl et al., 2003; Kim et al., 2007; Zhu et al., 2008).

Yaygın olarak kullanılan analitik yöntemler arasındaki en büyük farklar; akrilamidin ekstraksiyon (ekstraksiyon çözgeninin içeriğindeki değişkenler, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, mekanik uygulamalar) ve temizleme aşamalarından kaynaklandığı belirtilmektedir. Akrilamid suda organik solventlere göre daha fazla çözündüğü için, genellikle ekstraksiyon işlemleri su ile yapılmaktadır. Gökmen et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada tek fazlı ve çok fazlı ekstraksiyon işlemlerinin tahıl ve patates bazlı gıdalarda akrilamid ekstraksiyonu üzerine etkisi incelenmiş olup, akrilamid analizleri LC-MS/MS'de gerçekleştirilmiştir. Tüm gıda materyallerinde tek aşamalı ekstraksiyon işleminin verimliliğinin en düşük olduğu, öğütülen örneklerin formik asit ya da metanol ile ekstrakte edildiği çok fazlı ekstraksiyon sisteminde ise, %90'ın üzerinde geri kazanım elde edildiği ifade edilmektedir.

Temizleme işlemi de örnek hazırlama aşamasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Temizleme işlemi mümkün olduğunca kolay, güvenilir ve farklı gıda çeşitlerine uygulanabilir olmalıdır (Hoenicke et al., 2004). Birçok temizleme aşaması, birkaç katı faz ekstraksiyonunun kombinasyonundan oluşmaktadır. Katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşlarının kullanımı ile akrilamid analizinde daha doğru sonuçlar elde edilmektedir (Wenzl et al., 2003; Şenyuva and Gökmen, 2006; Gökmen and Şenyuva, 2006a; Wenzl et al., 2007). Akrilamid analizlerinde kullanılan SPE kartuşlar ve özellikleri Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çizelge 2.4. Akrilamid analizlerinde kullanılan kartuşlar ve özellikleri.

| Kartuşun Ticari Adı | Kartuşun Özelliği | Kullanıldığı Çalışmalar |
|--------------------------------|---|---|
| Isolute [®] Multimode | Apolar (C ₁₈) özellikte, güçlü kation değiştirici (-SO ₃ ⁻) ve güçlü anyon değiştirici (-NR ₃ ⁺) fonksiyonel gruplarını içermektedir. | Rosén and Hellenäs, 2002; Ahn et al., 2002; Tareke et al., 2002; Ono et al., 2003; Riediker and Stadler, 2003; Rufian-Henares and Morales, 2006; Eerola et al., 2007; Viklund et al., 2007; Arissetto et al., 2008; Karasek et al., 2009; Zeng et al., 2009; Ou et al., 2010; Lasekan and Abbas; 2011 |
| OASIS [®] HLB | Polar ve apolar fazdan [poli(divenilbenzene-co-N-vinil) pirrolidin] oluşmaktadır. | Roach et al., 2003; Andrzejewski et al., 2004; Mestdagh et al., 2004; Mastovska and Lehota, 2006; Ren et al., 2006; Rufian-Henares and Morales, 2006; Yusa et al., 2006; Eerola et al., 2007; Gökmen et al., 2009; Shaikh et al., 2009; Marconi et al., 2010; Mulla et al., 2011a; 2011b. |
| AccuBOND II SCX | Apolar sekonder interaksiyonları olan güçlü benzen-sulfonik asit bazlı sorbent kation değiştirici özelliktedir. | Riediker and Stadler, 2003. |
| Bond Elut AccuCAT | Sulfonik asit ve quaternar aminden oluşan miks-mod sorbent içermektedir. | Leung et al., 2003; Roach et al., 2003; Takatsuki et al., 2003; Andrzejewski et al., 2004; Mestdagh et al., 2004 |
| Bond Elut C ₁₈ | Hidrofobik silika-bazlı sorbent içermektedir. | Takatsuki et al., 2003 |
| Bond Elut Jr-PSA | Asit ile yıkanmış düzensiz şekilli Etilendiamin-N-propil fonksiyonel bağlı silika içermektedir. | Takatsuki et al., 2003 |
| ENVI-Carb | Grafitize karbon içermektedir. | Becalski et al., 2003 |
| OASIS [®] MAX | HLB'nin yüzeyinde güçlü anyon değiştirici dimetilbutilamin grupları vardır. | Becalski et al., 2003 |
| OASIS [®] MCX | HLB'nin yüzeyinde güçlü kation değiştirici sulfonik asit grupları vardır. | Becalski et al., 2003; Rufian-Henares and Morales, 2006; Yusa et al., 2006; Chen et al., 2008; Liu et al., 2008; Gökmen et al., 2009; Serpen and Gökmen, 2009; Palazoğlu et al., 2010 |
| Strata [™] -X-C | Polar ve güçlü kation değiştirici gruplar ile fonksiyone olmuş polimerik reçine vardır. | Bermudo et al., 2008 |

2.7.1. HPLC, LC-MS, LC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi

HPLC uygulamalarının düşük ayırma kalitesi ve girişim yapan bileşiklerin sayısının fazla olması nedenleri ile LC-MS esaslı yöntemler geliştirilmiştir (Gertz and Klostermann, 2002). Bu yöntemlerin avantajı türevlendirme yapmadan akrilamidi tespit edebilmeleridir (Pittet et al., 2004; Taeymans et al., 2004).

Geng et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada nişasta bazlı gıdalarda akrilamid analizleri HPLC-DAD ile gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntemde akrilamid ekstraksiyonu %75'lik metanol-su karışımı ile yapılmıştır. Yöntemin saptama sınırı 30 µg/kg, geri kazanım değerleri ise %92,5-%104 olarak bulunduğu belirtilmiştir. Ancak, akrilamidin molekül ağırlığının düşük olması ve düşük kaliteli iyon parçacıkları vermesinden dolayı akrilamidin teşhisinin doğru yapılabilmesi için ikili kütle spektrometresine (MS-MS) ihtiyaç duyulmaktadır (Wenzl et al., 2003; Pittet et al., 2004; Wenzl et al., 2004; Pedreschi et al., 2006; Eerola et al., 2007).

Literatürde LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle gıdalarda akrilamid düzeylerinin belirlenmesi ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Çizelge 2.5.'de LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleri ile farklı gıdalarda akrilamid düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan analiz koşulları özetlenmiştir.

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları.

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|---|--|--|------------------------------------|---|---|---|---|---|--------------------------|
| Tost ekmeği, ekmekek kırıntısı, patates cipsi | 10 g örnek üzerine iç standart, 100 ml sıcak su eklenip, 80°C'daki su banyosunda 2 saat bekletilip, süzölmüştür. | Metakrilamid, [¹³ C ₁]-akrilamid 2,3,3-[D ₃]-akrilamid | Isolute Multi-Mode Kartuş (300 mg) | Primisphere C ₁₈ -HC, (250*3,2 mm, 5 µm) | Mobil faz: %2,1 asetonitiril ve %0,1 asetik asit içeren su Hız: 0,5 ml/dk Enj: 50 µl (dk: dakika) | MS/MS | İyonizasyon: (+) Mod | AA (akrilamid) için; 72>55 72>44 72>27 Metakrilamid için: 86>58 [¹³ C ₁]-akrilamid için; 73>56 [D ₃]-akrilamid için; 75>58 | Ahn et al., 2002 |
| Çeşitli gıda ürünleri | 2 g örnekten %2 oranında etanol içeren diklorometan ve su ile akrilamid ekstrakte edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | ---- | Snergy Polar-RP Kolon, (150*3 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,1'lik asetik asit içeren su Hız: 0,5 ml/dk | MS/MS | İyonizasyon: (+) Mod Corona akım: 5 µA Kapiler sıcaklık: 150 °C Buharlaşma sıcaklığı: 350°C | AA için: 72>55 (C.E: 9 eV) [D ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: Collision Energy) | Brandl et al., 2002 |
| Ekmekek kırıntısı, tahıllar | 2-4 g örnek üzerine 40 ml su, 800 µl iç standart (2,0 µg/ml) eklenip, 3600 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Isolute Multi-Mode kartuş (300 mg) | Hypercarb, (50*2,1 mm, 5 µm) | Mobil faz: Su Hız: 0,4 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS LOD: 10–30 µg/kg G.K: 90-100 (G.K.: Geri Kazanım) | İyonizasyon (+) Mod Kurutma gazı sıcaklığı: 400°C Kurutma gazı akışı: 600 l/saat Cone gaz akışı: 200 l/saat Collision gaz basıncı: 2,3*10 ⁻³ mbar (Argon) Source sıcaklığı: 125°C Kapiler voltaj: 2 kV | AA için: 72>55 (C.E: 9 eV) 72>54 (C.E: 16 eV) 72>44 (C.E: 20 eV) 72>27 (C.E: 14 eV) [D ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 9 eV) | Rosen and Hellenas, 2002 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|-----------------------------------|---|--|--|--|---|--|---|---|-----------------------|
| Patates cipsi, et, ekmekek | 10 g örnek üzerine 100 ml su, 1 ml iç standart (1 µg/ml) eklenip, 10 dk 14000 rpm'de santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Isolute Multi-Mode kartuş (300 mg) | Hypercarb (50*2,1 mm, 5 µm) ve Hypercarb Guard kolon (10*2 mm) | Mobil faz: Su Hız: 0,2 ml/dk Enj: 20 µl | MS/MS LOD: 10 µg/kg G.K: %91-112 | İyonizasyon: (+) Mod Desolvation sıcaklığı: 350°C Source sıcaklığı: 125°C Collision gaz basıncı: 2,5 mbar (Argon) Cone voltaj: 50V Kapiler voltaj: 3,2 kV Dwell süresi: 0,3 s | AA için; 72>54 (C.E: 16 eV) 72>55 (C.E: 11 eV) [¹³ C ₃]-AA için; 75>58 (C.E: 11eV) | Tareke et al., 2002 |
| Patates cipsi, et, ekmekek, kahve | 16 g örnek üzerine 80 ml su, 16 ml iç standart (250 µg/ml), 10 ml diklorometan eklenip, 15 dakika çalkalanıp, 2 saat 15000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Üst fazın 10 ml'si 3500 rpm'de 4 saat santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Sırasıyla; Oasis MAX (Waters), Oasis MCX ve ENVI-carb kartuş | Hypercarb (150*2,1 mm, 5 µm) | Mobil faz: %15 metanollü amonyum format Hız: 0,175 ml/dk Enj: 5-10 µl | MS/MS LOD: 6 µg/kg G.K: %84-100 | İyonizasyon: (+) Mod Desolvation sıcaklığı: 250°C Source sıcaklığı: 120°C Collision gaz basıncı: 2,6*10 ⁻³ mbar (Argon) Dwell süresi: 0,3 s Cone voltaj: 34V | AA için; 72>55 (C.E: 11 eV) 72>54 (C.E: 11 eV) 72>44 (C.E: 14 eV) 72>27 (C.E: 16 eV) [¹³ C ₃]-AA için; 75>58 (C.E: 11 eV) | Belcaski et al., 2003 |
| Çeşitli gıdalar | 50 g örnek, 300-400 ml su ve iç standart eklenip, 48000 g'de 20 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]- akrilamid | Isolute mixed mode kartuş (500 mg) | Atlantis dC ₁₈ , (150*2,1 mm, 3 µm) | Mobil faz: %10'luk metanol Hız: 0,1 ml/dk Enj: 2 µl | MS LOD: 0.2 ng/ml LOQ: 0.8 ng/ml | İyonizasyon: (+) Mod İyon sprej voltajı: 5200V Turbo gaz sıcaklığı: 450°C Turbo gaz akış hızı: 6 l/dak Dwell time: 95 ms | AA için; 72>55 [D ₃]-akrilamid için; 75>58 | Ono et al., 2003 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|---|---|--|--|---|---|---------------------------------------|---|--|----------------------------|
| Çeşitli gıdalar | 5 g örnek üzerine iç standart ve 50 ml su eklenip, 13800 g'de 15 dk santrifüj edilip, üst faza 4 ml asetonitril eklenip, 13800 g'de 5 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Isolute Multimode (500 mg, 3 ml) ve Accubond II SCX (100 mg, 1 ml) | Shodex RSpak DE-613 polymethacrylate kolon (150*6 mm) | Mobil faz: %0,01'lik (v/v) formik asit:metanol (6:4, v/v) Hız: 0,75 ml/dk Enj: 50 µl | MS/MS LOD:15 µg/kg G.K: %58-76 | Nebulizer gaz (azot) akışı: 90 l/saat Desolvation gaz akışı: 680 l/saat Source sıcaklığı: 100°C Desolvation sıcaklığı: 350°C | AA için; 72>55 (C.E: 11 eV) 72>54 (C.E: 11 eV) 72>27 (C.E: 11 eV) [¹³ C ₃]-AA için; 75>58 (C.E: 11 eV) 75>29 (C.E: 11 eV) | Riedeker and Stadler, 2003 |
| Tahıl, ekmek kabuğu, patates cipsi, kahve | 1 g örneğe 9 ml su eklenip, 9000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Oasis HLB kartuş (3,5 ml) | Hidro RP 80 A kolon (250*2 mm, 4 µm) | Mobil faz: %0,5 metanol ve %0,1 asetik asit içeren su Hız: 0,2 ml/dk Enj: 20µl | MS/MS; LOD:10 µg/kg | Kapiler voltaj: 4,1 kV Cone voltaj: 20 V Source sıcaklığı: 120 °C Desolvation sıcaklığı: 250 °C | AA için; 72>72 (C.E: 5 eV) 72>55 (C.E: 10 eV) 72>27 (C.E: 19 eV) [¹³ C ₃]-AA için; 75>75 (C.E: 5eV) 75>58 (C.E: 10eV) 75>29 (C.E: 19eV) | Roach et al., 2003 |
| Çeşitli gıdalar | 5 g örnek, 20-25 ml su, iç standart, 30 dk karıştırılıp, aseton ilave edilip, süzümüştür. Filtrat konsantre edilip, 2 defa diklorometan ile yıkandıktan sonra, 2700 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₁] akrilamid | Sırasıyla; Bond Elut C ₁₈ kartuş (500 mg) ve Bond Elut Accucat kartuş (600 mg), Bond Elut Jr-PSA kartuş | 1.kolon: Hypercar, (50*2,1 mm, 5 µm) 2.kolon: ShodexMspak GF-310 4B, (50*4,6 mm, 6 µm) 3.kolon: Atlantis d C ₁₈ , (150*2,1 mm, 6 µm) 4.kolon: Develosil RPAUEOUS-AR3, (35*2,0 mm, 3 µm) | Mobil faz: %95 oranında %0,1'lik asetik asitli su, %5 oranında metanol Hız: 0,25 ml/dk Enj: 10 µl | MS LOD: 9 ng/g LOQ: 30 ng/g | ---- | AA için; 72 [¹³ C ₁]-akrilamid için; 73 | Takatsuki et al., 2003 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|----------------------------|---|--|--|---|---|------------------------|---|---|--------------------------|
| Kahve | 1 g örnek üzerine 200 µl iç standart ve 9 ml su ekleyip, 30 saniye vorteks ve 9000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃]-akrilamid | Oasis HLB (6 ml) kartuş ve Bond Elut-Accucut (3 ml) | Hydro-RP 80A kolon (250*2 mm, 4 µm) | Mobil faz: %0,5 metanollü su, Hız: 0,2 ml/dk Enj: 20 µl | MS/MS LOD: 10 µg/kg | Kapiler voltaj: 4,1 kV Cone voltaj: 20 V Source sıcaklığı: 120°C Desolvation sıcaklığı: 250°C | AA için; 72>72 (C.E: 5 eV) 72>55 (C.E: 10 eV) 72>27 (C.E: 19 eV) [¹³ C ₃]-AA için; 75>75 (C.E: 5 eV) 75>58 (C.E: 10 eV) 72>29 (C.E: 19 eV) | Andrzejewski et al. 2004 |
| Karbonhidrat bazlı gıdalar | Homojenize örnek üzerine iç standart ve su eklenip, 30 dk, 2000 rpm'de 10°C'da santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Bond Elut Accucut anyon ve katyon değiştirici kartuş (600 mg, 3 ml) ve 3M Empore ekstraksiyon disk kartuş (C ₁₈ , 3 ml) | Aqua C ₁₈ Kolon (150*2,0 mm, 3 µm) ve C ₁₈ guard kolon (4,0*2,0 mm) | Mobil faz: %93 su, %2 metanol ve %5 oranında %2'lik formik asitli su Hız: 0,25 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS | Source sıcaklığı: 130°C Desolvasyon sıcaklığı: 240°C Collision basıncı: 2,2*10 ³ mbar Cone voltaj: 19 V | AA için: 72>55 (C.E: 10 eV) 72>44 (C.E: 17 eV) 72>27 (C.E: 19 eV) [D ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 10 eV) | Croft et al., 2004 |
| Çikolata, kakao, kahve | 2 g örnek üzerine iç standart, su ve Karez I, Karez II eklenip, vorteks yapıp, 10000 rpm'de, 15 dk santrifüj edilmiştir. 1,8 g NaCl ve 13 ml etil asetat eklenip, vorteks yapıp, 3000 rpm'de, 15 dk santrifüj edildikten sonra, organik faz uçurulup, 13 ml etil asetat eklenip, 3000 rpm'de, 15 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Isolute Multimode kartuş (500 mg) | Shodex RSpak DE-413L (250 *4,6 mm) | Hız: 0,3 ml/dk Enj: 60 µl | MS/MS | ---- | AA için: 72>55 72>54 72>27 [D ₃]-akrilamid için; 75>58 | Delatour et al., 2004 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|---------------------|--|-----------------------------|--|--|--|---|--|---|-----------------------|
| Çeşitli gıdalar | 200 µl iç standart ve su eklenen 2 g örnek ultrasonik su banyosunda 60°C'da 30 dakika bekletilip, 500 µl Karez I ve II ilave edildikten sonra, 4500 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | ---- | LiChrospher 100 CN kolon, (250*4 mm, 5 µm) | Mobil faz: %50 asetonitril içeren %1'lik asetik asitte 5 dakika, %100 asetonitril 5 dakika Hız: 0,7 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS LOD: <10 µg/kg; LOQ:<30 µg/kg | Elektrosprey voltaj: 5,5 kV Source sıcaklığı: 350°C | AA için; 72>72 (C.E: 18 eV) 72>55 (C.E: 18 eV) 72>44 (C.E: 18 eV) [D ₃]-AA için; 75>75 (C.E: 18 eV) 75>58 (C.E: 18 eV) 75>44 (C.E: 18 eV) | Hoenicke et al., 2004 |
| Patates kızartması | 1 g örnek ve iç standart 10 dk hegzan ile çalkalanıp santrifüj edildikten sonra, hegzan uzaklaştırılmıştır. Su ile 20 dk karıştırma sonrasında santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Sırasıyla; Oasis HLB ve Varian Bond Elut Accurate kartuş | Atlantis dC ₁₈ kolon, (150*2,1 mm, 3 µm) | Mobil faz: %92 oranında %0,1 asetik asit içeren su ve % 8 oranında metanol Hız: 0,15ml/dk | MS/MS | ---- | AA için; 72>72 (C.E: 5 eV) 72>55 (C.E: 10 eV) [D ₃]-AA için; 75>58 (C.E: 10 eV) 75>30 (C.E: 20 eV) | Mestagh et al., 2004 |
| Kızartılmış patates | 1 g örnek üzerine 10 ml perklorik asit eklenip, 2000rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra, üst faz 45000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir. | Met-akrilamid | ---- | 5 Hypercarb kolon (50 * 2,1 mm, 5 µm) ve Hypercarb Guard kolon (10 * 2 mm) | Mobil faz: %98 oranında %0,1'lik formik asitli su ve %2 oranında asetonitril Hız: 0,3 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS LOD:1 µg/kg LOQ:3 µg/kg | Sprey voltaj: 4,5 kV Kapiler sıcaklık: 300°C. Nebulizer gaz basıncı (azot): 240 kPa Collision gaz basıncı: 0,2 Pa | AA için; 72>55 (C.E: 14 eV) 72>54 (C.E: 14 eV) 72>44 (C.E: 14 eV) [¹³ C ₃]-AA için; 86>69 (C.E: 16 eV) 86>58 (C.E: 16 eV) 86>41 (C.E: 16 eV) | Taubert et al., 2004 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|--------------------------------|---|--|-----------------------------------|---|--|---|--|--|---------------------------|
| Patates cipsi, kakaolu ürünler | 2 g örnek üzerine 20 ml su, 400 µl iç standart (5 µg/ml) eklenip, 15 dk 60°C'da ultrasonik su banyosunda bekletildikten sonra, 20 ml asetonitril, 0,5 ml karez I ve karez II eklenip, 4500 rpm'de 10 dk, 4°C'da santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | ---- | Lichrospher 100 CN (250*4 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,5 oranında %0,1'lik formik asitli su, %99,5 oranında asetonitril Hız: 0,25 ml/dk Enj: 20 µl | MS/MS LOD: 10 µg/kg LOQ: 30 µg/kg | Kapiler voltaj: 3 kV Cone voltaj: 40 V Source sıcaklığı: 450°C Dwell süresi: 0,15 s | AA için: 72>72 72>52 72>44 [D ₃]-akrilamid için; 75>75 75>58 75>44 | Matissek and Raters, 2005 |
| Türk gıdaları | Örnek üzerine iç standart, karez I, karez II ve 0,2mM asetik asit eklenip, 2 dk vorteks yapıldıktan sonra, 5000 rpm'de 10 dak santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃]-akrilamid | ---- | Inertsil ODS-3 kolon (250*4,6 mm, 5 µm) | Mobil faz: %98 oranında %0,2'lik formik asit içinde 0,01mM asetik asit ve %2 oranında asetonitril içinde %0,2'lik asetik asit Hız: 0,6ml/dk | MS | Kurutma gazı (N ₂) Akışı: 4 l/dak Nebulizer basıncı: 55 psi Kurutma gazı sıcaklığı: 320°C Kapiler voltaj: 3 kV Fragmentor voltajı: 5 eV | AA için: 72>55 [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>58 | Şenyuva and Gökmen, 2005a |
| Çeşitli gıdalar | 2 g örnek su, iç standart eklenip, karıştırıldıktan sonra, 3500 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Diklorometan eklenip, vorteks yapıldıktan sonra, 2000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernetant kısmı, 1:3 oranında etil asetat/asetonitril karışımı ile çalkalanıp, 3000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Süpernetant üzerine 1 ml izooktan eklenip, çözgen uçurulduktan sonra, kalıntı etil asetatla çözülüp, 2 ml siklohegzan eklenmiştir. | [¹³ C ₃]-akrilamid | Aminopropil kartuş (500 mg, 4 ml) | Hypercarb kolon (2,1*150 mm, 5 µm) | Mobil faz: su Hız: 0,35 ml/dk Enj: 20 µl | MS/MS | Vaporizer sıcaklığı: 250°C Kapiler sıcaklığı: 275°C Kapiler gaz akışı: 25 l/saat | AA için: 72>55 (C.E: 10 eV) 72>44 (C.E: 26 eV) [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 10 eV) 75> 45(C.E: 26 eV) | Aguas et al., 2006 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC Parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|-----------------|---|-----------------------------|---|---|--|--|---|--|----------------------------|
| Çeşitli gıdalar | Örnek üzerine, iç standart ve su eklenip, vorteks yapıldıktan sonra, 5°C 'da, 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Oasis HLB ve Bond Elut-Accucat kartuş ayrı ayrı kullanılmıştır. | Bondapak C ₁₈ (300*3,9mm, 10 µm) | Mobil faz: %0,1'lik asetik asit Hız: 0,6 ml/dk | MS/MS | Desolvation gaz akışı: 600 l/saat Cone gaz akışı: 50 l/saat Source sıcaklığı: 120°C Desolvation sıcaklığı: 300°C Cone voltaj: 20V Kapiler voltaj: 3,7 kV | AA için: 72>72 (C.E: 1 eV) 72>55 (C.E: 10 eV) [13C ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 10 eV) | Govaert et al., 2006 |
| Çeşitli gıdalar | 1 g örnek üzerine iç standart, formik asitli su ve hegzan eklenip vorteks yapıldıktan sonra, 4 g susuz sodyum sülfat, 0,5 g NaCl eklenip, 5 dk 5000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernetanttan hegzan uzaklaştırıldıktan sonra, susuz sodyum sülfat eklenip, santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Oasis HLB kartuş | Phenomenex Aqua C ₁₈ kolon (150* 3 mm; 5 µm) ve C ₁₈ 4*3 mm guard kolon | Mobil faz: %99,5 oranında su ve %0,05 oranında metanol Hız: 0,2 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS | ---- | AA için: 72>55 72>44 72>27 [D ₃]-akrilamid için; 75>58 75>44 75>30 | Mastovska and Lehota, 2006 |
| Ekmek | 4 g örneğe iç standart ve 40 ml su eklenip, vorteks yapıldıktan sonra 500 g'de 20 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | LiChroLut RP- C ₁₈ SPE-kartuş (500 mg) | Hypercarb kolon (2,1mm*100 mm, 5 µm) ve guard kolon olarak C ₁₈ ODS (4mm*2 mm) | Mobil faz: %0,1'lik formik asitli su Hız: 0,3 ml/dk Enj:10 µl | MS/MS LOD: 13 µg/kg G.K: %93-112 | Source sıcaklığı: 120°C Desolvation sıcaklığı: 400°C Cone gaz akışı: 150 l/saat Desolvation gaz akışı: 500 l/saat. Collision gaz basıncı: 2,4×10 ⁻³ mbar | AA için: 72>55 (C.E: 14eV) [D ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 16 eV) | Nielsen et al., 2006 |

Çizelge 2. 5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|-----------------|--|--|---|---|---|--------------------|---|--|----------------------------------|
| Çeşitli gıdalar | Örnek üzerine 10 ml siklohegzan eklenip 30 dk çalkalandıktan sonra, 40 ml su ya da %80'lik metanollü su ve iç standart eklenmiştir. 10°C'da 4000'de rpm, 20 dk santrifüj edilmiştir. | akrilamid - ² H ₃ | ENV+ 1 g | Hypercarb (50*2,1 mm, 5 µm) ve guard kolon (10*2,1 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,1 (v/v) asetik asitli su Enj: 20 µl | MS/MS | ---- | AA için: 72>55 [² H ₃]-akrilamid için; 75>58 | Petersson et al., 2006 |
| Çikolata | 1,5 g örnek, 500 µl iç standart (1 mg/ml), hegzan ilave edilip, 10 dk vorteks yapıldıktan sonra, NaCl eklenip, 20 dk ultrasonik çalkalayıcıda bekletilip, 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Oasis HLB kartuş (6 cm ³ , 200 mg) | Atlantis d C ₁₈ (210*1,5 mm, 5 µm) ve Guard kolon (10*2mm) | Mobil faz: %10 oranında metanol, %90 oranında %0,1'lik formik asitli su Hız: 0,2 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS GK:%86-93 | Kapiler voltaj: 3,5 kV Cone voltaj: 50 V Source sıcaklığı: 100°C Desolvation gaz sıcaklığı: 350°C Desolvation gaz akışı: 400 l/saat (azot) Cone gaz akışı: 45 l/saat (azot) Collision gaz basıncı: (argon): 6*10 ⁻³ mbar | AA için: 72>72 (C.E:1 eV) 72>55 (C.E: 6 eV) 72>27 (C.E: 15 eV) [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>75 (C.E: 1 eV) 75>58 (C.E: 6 eV) | Ren et al., 2006 |
| Patates cipsi | 1,0 g örnek üzerine 8 ml sodyum klorür, 200 µl 5000 µg/ml iç standart eklenip, 60°C'daki su banyosunda 30 dk bekletildikten sonra, karez I ve karez II eklenip, 4°C'da 9000g'de 10dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Sırasıyla, Oasis HLB (200 mg, 6 ml) ve Oasis MCX (60 mg, 3 ml) kartuş | ODS1 (20*0,3 cm, 5 µm) | Mobil faz: %0,1 oranında Asetik asit, %1 oranında metanol, %98,9 oranında su Hız:0,4 ml/dk | MS | Needle voltajı:3kV Cone voltajı:100V Nebulizer gaz akışı: 12 l/saat (azot) Source sıcaklığı: 300°C | AA için: 72>72,1 [D ₃]-akrilamid için; 75>75,1 | Rufian-Henares and Morales, 2006 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|--------------------------|---|--|--|--|--|--------------------------------------|---|---|---------------------|
| Model kurabiye sistemi | 3 g örnek üzerine su eklenip, 35°C'daki ultrasonik su banyosunda 30 dk bekletildikten sonra, santrifüj edilmiştir. Ekstrakt üzerine karez I ve karez II eklenmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Sırasıyla, Oasis HLB kartuş (6 ml, 500 mg) ve Isolute Multimode kartuş (3 ml, 500 mg) | Shodex RSpack 624L HPLC kolon | Mobil faz: %0,05'lik formik asit çözeltisi içinde %40 metanol Enj: 100 µl | MS/MS | ---- | AA için: 72>72 72>55 72>44 [D ₃]-akrilamid için; 75>58 75>44 | Summa et al., 2006 |
| Tahıldan yapılan gıdalar | 1 g örneğe iç standart eklenip asetonitril ile ekstraksiyon yapıp, 0,5 ml karez I ve II eklendikten sonra, 15 dk 5000 g'de santrifüj edilmiştir. Süpernetant uçulup, kalıntı 0,5 ml suda çözülmüştür. | [¹³ C ₃]-akrilamid | Sırasıyla, Oasis HLB (6 ml, 200 mg) ve Oasis MCX (3 ml, 60 mg) kartuş | Hypercarb kolon (50*2,1mm, 5 mm) | Mobil faz: %3,75 oranında metanol, %96,25 oranında %0,1'lik formik asitli su Hız: 150 µl/dk Enj: 10 µl | MS/MS LOQ: 5 µg/kg G.K:%93-101 | Spray voltajı: 5000 V Kapiler sıcaklık: 200°C; Collision gaz basıncı: 1,5 mTorr. | AA için: 72>55 (C.E:12 eV) 72>54 (C.E: 43 eV) [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 22 eV) | Yusa et al., 2006 |
| Fin gıdaları | 4 g örnek üzerine, iç standart, 30 ml su ile çalkalayıcıda 1 saat çalkalanıp, 25000g'de, 15 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Sırasıyla, Isolute Multimode (300 mg/6 ml and 300 mg/3 ml); Oasis HLB (200 mg/6 ml) ve Bond Elute Accucat (600 mg) | Hypercarb, (100*2,1 mm, 5 µm) ve guard kolon Hypercarb (10*2,0 mm, 5 µm) | Mobil faz: % 5 oranında metanol, %95 oranında su Hız: 0,2 ml/dk | MS/MS | Source sıcaklığı:120°C Cone sıcaklığı: 25°C Nebulizer gaz akışı: 700 l/saat Cone gaz akışı: 42 l/saat Nebulizer sıcaklığı: 300°C Kapiler voltaj: 3,6 kV Cone voltaj: 30 V Collision gaz basıncı: 2,70*10 ⁻³ mbar (argon) Dwell süresi: 0,2 s | AA için: 72>55 (C.E:15 eV) 72>54 (C.E: 15 eV) [D ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E:15 eV) | Eerola et al., 2007 |

Çizelge 2. 5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC Parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|--|---|--|---|---|--|-------------------------------|---|--|----------------------|
| Pirinç, ekmek, mısır cipsi, patates cipsi, bisküvi, şekerleme, kahve | 10 g örnek üzerine iç standart, su eklenip, 9000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | A C ₁₈ kartuş | Aqua C ₁₈ kolon, (2*250 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,2 asetik asit ve 1% metanol Hız: 0,2ml/dk Enj: 20 µl | MS/MS, LOQ: 2 µg/kg | Kapiler voltaj: 4,2 kV Source sıcaklığı: 120 °C Desolvation sıcaklığı: 240°C Desolvation gaz akışı: 650 l/saat | AA için: 72>55 [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>58 | Kim et al., 2007 |
| Kahve ve çikolata | Örnekler asetonitril ile 35°C'da 5 dk ısıtılıp, 5000 rpm'de 15dk santrifüj edilmiştir. Çöken kısım asetonitril ile 2 kez yıkayıp, süpernetant uçurulup, kalıntı suda çözülmüştür. | [¹³ C ₃] akrilamid | ---- | Atlantis C ₁₈ kolon (150*2,1mm, 5 µm) | Mobil faz: İzokrotik solüsyon Hız: 0,2 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS | Collision gaz basıncı: 1,5 mTorr Kapiler sıcaklık:250°C | AA için: 72>55 (C.E:11 eV) 72>44 (C.E: 24 eV) [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E:11 eV) | Pardo et al., 2007 |
| Patates cipsi | 2 g örnek üzerine, 40 ml su ve iç standart eklenip, santrifüj edilmiştir. | [D ₃]- akrilamid | Sırasıyla; Isolute Multi-Mode (300 mg/3 ml) ve Isolute ENV+ (500 mg/6 ml) | Genesis AQ kolon (50*2,1mm, 4 µm) ve guard kolon (10*2,1mm) | Mobil faz: %0,1'lik asetik asitli su Enj: 10 µl Hız: 0,2 ml/dk | MS/MS LOQ: 160 µg/kg G.K: %95 | Spray voltaj: 4 kV Kapiler sıcaklık: 160°C | AA için: 72>55 [D ₃]-akrilamid için; 75>58 | Viklund et al., 2007 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|-------------------------|--|--|--|--|---|-----------------------------|--|---|-----------------------|
| Çin geleneksel gıdaları | Homojenize örnek üzerine, iç standart eklenip, vorteks yapıldıktan sonra, 20 ml eter ilave edilerek, santrifüj edilmiştir. 7 ml sodyum klorür eklenip, 20 dk çalkalanıp, 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Üst kısım pipetle alınıp, tüp içinde kalan kısım için 8 ml NaCl ile işlem tekrarlanmıştır. | [¹³ C ₃] akrilamid | Oasis HLB SPE kartuş (6 ml, 200 mg) | Atlantis dC ₁₈ kolon (210*1,5mm, 5 µm) | Mobil faz: %10 metanol ve %90 oranında %0,1'lik formik asitli su Hız: 0,2 ml/dk | MS/MS (ESI+) | Kapiler voltaj: 3,5 kV, Cone voltaj: 50V Source sıcaklığı: 100 °C Desolvasyon gaz sıcaklığı: 350 °C Desolvasyon gaz akışı: 400l/h Cone gaz akışı: 45 l/saat Argon collision gaz basıncı: 3x10 ⁻³ mbar | AA için: 72>72 (C.E:1 eV) 72>55 (C.E: 6 eV) 72>44 (C.E: 9 eV) 72>27 (C.E:15 eV) [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>72 (C.E:1 eV) 75>58 (C.E: 6 eV) 75>30 (C.E:15 eV) | Zhang et al., 2007b |
| Kahve ve kahve ürünleri | 1 g örnek üzerine 500 µl iç standart, 9,5 ml su eklenip, vorteks yapıldıktan sonra, 3000 rpm'de 10 dk 5°C'da santrifüj edilmiştir. Karez I ve II eklenip, 5°C'da, 10000 rpm'de 15 dk, etilasetat eklenip, 5°C'da, 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Isolute Multimode (300 mg, 3 ml) ya da; sırasıyla Oasis HLB (200 mg, 6 ml) ve Bond Elut-Accucat (200 mg, 3 ml) | µ-Bondapak C ₁₈ kolon (300*3,9 mm, 10 µm) | Mobil faz: %0,1'lik asetik asit Hız: 0,6 ml/dk Enj: 100 µl | MS/MS LOD:5,5 LOQ:9,6 | Desolvation gaz akışı: 600 l/saat Desolvation gaz sıcaklığı: 300 °C Collision gaz basıncı: 3×10 ⁻³ mbar Source sıcaklığı:120°C Kapiler voltaj:4 kV Cone voltaj: 20 V Dwell süresi: 0,1 s | AA için: 72>55 (C.E: 10 eV) 72>44 72>27 [D ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E:10 eV) | Arisseto et al., 2008 |
| İspanyol gıdaları | 2 g örnek üzerine 93 µl iç standart (10 mg/l), 10 ml su eklenip, 1 saat karıştırıldıktan sonra, 4000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir. 0,5 ml karez I ve karez II eklenip, 4000rpm'de 3 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Sırasıyla; Strata-X-C (200mg,6ml) ve ENV+ (200mg, 3mL) | Hypercarb, (100*2,1mm, 3 µm) | Mobil faz: %5 oranında metanol, %95 oranında su Hız: 0,2 ml/dk | MS/MS | Nebulizer gaz akışı: 6 l/dak Vaporizer sıcaklığı: 250°C Nebulizer akımı: 5 µA | AA için: 72>55 (C.E: 9 eV) 72>54 (C.E: 16 eV) [D ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 9 eV) | Bermudo et al., 2008 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|------------------------|---|---|---|--|--|--|---|--|------------------------|
| Su, çay, patates cipsi | 1g örnek üzerine 1ml iç standart (900 µg/kg), 9ml su eklenip, 20 dk 150 rpm de çalkalama yapıldıktan sonra, 10 ml asetonitril, 4 g susuz magnezyum sülfat ve 0,5 g sodyum klorür eklenip, 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Oasis MCX kartuş | ODS- C ₁₈ kolon (250*4,6 mm, 5 µm) | Mobil faz: %10 oranında asetonitril, %90 oranında %0,1'lik formik asit Hız: 0,4 ml/dk | MS /MS LOD: Su: 0,8 µg/kg Çay: 1 µg/kg Patates cipsi: 10 µg/kg LOQ: Su: 4 µg/kg Çay: 5 µg/kg Patates cipsi: 25 µg/kg | Kapiler voltaj: 1 kV Cone voltaj: 20 V Source sıcaklığı: 110°C Desolvation sıcaklığı: 400°C Desolvation gaz akışı: 600 l/saat Cone gaz akışı: 50 l/saat Collision gaz basıncı: 2*10 ⁻³ mbar Dwell süresi: 0,4 s | AA için; 72>55 (C.E: 13 eV) [¹³ C ₃] akrilamid için, 75>58 (C.E: 13 eV) | Chen et al., 2008 |
| Çay | 1g örnek, 1ml iç standart (900 µg/kg), 9ml su eklenip, 25°C'da 20 dk 150 rpm'de çalkalama yapıldıktan sonra, 10 ml asetonitril, 4 g susuz magnezyum sülfat, 0,5 g sodyum klorür eklenip 1 dk çalkalanıp, 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃]- akrilamid | Oasis MCX kartuş | ODS- C ₁₈ kolon (250*4,6 mm, 5 µm) | Mobil faz: %10 oranında asetonitril %90 oranında %0,1'lik formik asit Hız: 0,4 ml/dk | MS/MS LOD: 1 µg/kg LOQ: 5 µg/kg | Kapiler voltaj: 1 kV Cone voltaj: 20 V Source sıcaklığı: 110°C Desolvation sıcaklığı: 400°C Desolvation gaz akışı: 600 l/saat (azot) Cone gaz akışı: 50 l/saat (argon) Collision gaz basıncı: 2*10 ⁻³ mbar | AA için; 72>55 (C.E: 13 eV) [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 13 eV) | Liu et al., 2008 |
| Patates kızartması | 4 g örnek üzerine 40 ml su, 200 µl 10 µg/ml D3-akrilamid eklenip, 10000-12000 rpm'de 2 dk çalkalama ve 500 g'de 20 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]- akrilamid | LiChroLut Rp- C ₁₈ SPE-kartuş (500 mg) | Hypercarb kolon (2,1*100 mm, 5 µm) ve guard kolon C ₁₈ ODS (4 mm*2 mm). | Mobil faz: %0,1'lik formik asitli su Hız: 0,2 ml/dk | MS/MS | Source sıcaklığı: 120°C Desolvation sıcaklığı: 400°C. Cone gaz akışı: 150 l/saat Desolvation gaz:500 l/saat Collision gaz basıncı: 2,4*10 ⁻³ mbar. | | Pedreschi et al., 2008 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|--|---|--|---|--------------------------------------|--|-----------------------|--|--|-------------------------|
| Kurabiye, patates cipsi ve ekmekek kırıntısı | Örneklerin su ile ekstraksiyonu: Örnek, 9 ml 10 mM formik asit ile vorteks yapılıp, 0,5 ml karez I ve II eklenip, 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek 1. ekstrakt elde edilmiştir. Katı kısmın üzerine 5 ml 10 mM formik asit eklenip, santrifüj edildikten sonra 1. ekstrakt elde edilmiştir. Örneklerin metanol ile ekstraksiyonu: Örnek üzerine 9 ml 10 mM formik asit eklenip, vorteks yapılıp, 0,1 ml karez I ve II eklenip, 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek ilk ekstrakt elde edilmiştir. Katı kısmın üzerine 5 ml of metanol eklenip, santrifüj edilerek, karez I ve II eklenerek ve 2. ekstrakt elde edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Sırasıyla, Oasis MCX ve Oasis HLB kartuş | Atlantis T3 kolon (150*4,6 mm, 3 µm) | Mobil faz: 10 mM formik asit Hız: 0,4 ml/dk | MS | Kurutma gazı: 100 psi Kurutma gazı: 12 l/dk, Nebulizer gaz basıncı: 45 psi Kurutma gazı sıcaklığı: 350°C Kapiler voltaj: 3 kV Fragmenter voltaj: 70 eV | AA için: 72>55 | Gökmen et al., 2009 |
| Kavrulmuş kestane | 2,0 örnek, 40 ml su, 400 µl iç standart ile vorteks yapılıp, 60 dk çalkalandıktan sonra, 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]- akrilamid | Isolute Multimode (6 ml, 500 mg) ve Isolute ENV+ (6 ml, 500 mg) | Hypercarb (50*2,1 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,2'lik formik asitli su Hız: 0,4 ml/dk Enj: 10 µl | MS/MS LOQ: 4 µg/kg | Source sıcaklığı: 125°C Kapiler voltaj: 2,2kV Cone voltaj: 35 V | AA için: 72>55 72>54 72>44 [D ₃]- akrilamid için; 75>58 | Karasek et al., 2009 |
| Patates cipsi | 1 gram örnek, iç standart, 9 ml formik asitli su ile vorteks yapılıp, 0,5 ml karez I ve II eklenip, 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Üstteki yağ tabakası alındıktan sonra, formik asit ile ekstraksiyon tekrarlanmıştır. | [¹³ C ₃] akrilamid | OASIS MCX kartuş (1 ml) | Atlantis T3 kolon (150*4,6 mm, 3 µm) | Mobil faz: 10 mM formik asit Hız: 0,3 ml/dk | MS | Kurutma gazı basıncı: 20 psi Kurutma gazı akışı: 5 l/dk Nebuliser basıncı: 20 psi Kurutma gazı sıcaklığı: 350°C Kapiler voltaj: 2 kV Corona akımı: 5 mA | AA için: 72>55 [¹³ C ₃]- akrilamid için; 75>58 | Serpen and Gökmen, 2009 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|--------------------------------|---|--|--------------------|---|---|--|--|---|-------------------------|
| Papad | Yağı hegzan ile alınmış 2 g örnek üzerine 20 ml su, 10 µg/g'lık iç standarttan 200 µl eklenip 10 dk karıştırılıp, 2200 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃]-akrilamid | Oasis HLB (200 mg) | Aqua C ₁₈ , (150*3 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,5 oranında metanol ve %99,5 oranında %0,1'lik asetik asitli su | MS/MS | Dwell süresi: 0,2 s | AA için: 72>55 (C.E:15 eV) 72>44 (C.E: 22 eV) [¹³ C ₃]-akrilamid için; 75>58 (C.E: 18 eV) | Shaikh et al., 2009 |
| Kızartılmış patates | Örnek üzerine 40 ml su ile çalkalanmış, hegzan, susuz magnezyum sülfat ve NaCl eklenip, 5 dk santrifüj edilmiştir. | ---- | Isolute Multimode | C ₁₈ kolon (250*4,6 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,2'lik formik asitin sulu çözeltisi içinde 0,01 mM asetik asit. Hız: 0,8 ml/dk | MS/MS | Kurutma gazı basıncı: 100 psi Kurutma gazı akış Hızı: 4 l/dak, Nebulizer basıncı: 60 psi Kurutma gazı sıcaklığı: 325°C, Vaporiser sıcaklığı: 425°C Kapiler voltaj: 4 kV Fragmentor voltaj: 55 eV | AA için: 72>55 | Zeng et al., 2009 |
| İran patates ve mısır ürünleri | Hegzan ile yağı uzaklaştırılan örnek üzerine iç standart, asetonitril eklenip, ultrasonik su banyosunda 15 dk, 60°C'da bekletildikten sonra, Karez I ve II eklenip, 4500 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | ---- | Lichrospher 100 CN (250*4 mm, 5 µm) ve guard kolon 5 µm | Mobil faz: %0,5 oranında asetonitril ve %99,5 oranında %0,1'lik formik asitli su Hız: 0,25 ml/dk Enj: 20 µl | MS/MS LOD: <10µg/kg LOQ: <30 µg/kg | Kapiler voltaj: 3 kV Cone voltaj: 40V Source sıcaklığı: 450°C | AA için: 72>72 72>52 72>44 [D ₃]-akrilamid için: 75>75 75>58 75>44 | Boroushaki et al., 2010 |

Cizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

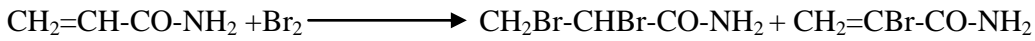
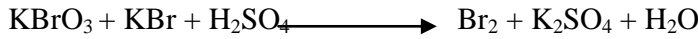
| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|---------------|--|-----------------------------|--------------------------------|--|---|---|--|---|------------------------|
| Ekmek | 2 gram örnek üzerine 20 ml metanol eklenip, 10000 rpm'de 2 dk vorteks yapıldıktan sonra, 12000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Süpernetant üzerine, karez I ve II eklenip, 12000 rpm'de 5 dk santrifüj edilip, 5 ml ekstrakt fitre edilip, susuz sodyum sülfat eklenmiştir. Evaporatörde tamamen kurutulup, 2 ml suda çözünüp, 14000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir. | ---- | OASIS HLB kartuş | C ₁₈ kolon (150*4,6 mm, 5 µm) | Mobil faz: %97,5 oranında 0,01 M sülfürik asitli su ve %2,5 oranında metanol Hız: 0,7 ml/dk. | DAD 200, 226 ve 240 nm'de okumalar yapılmıştır. G.K: %90,5±0,3- % 99.1±1.8 | ---- | ---- | Marconi et al., 2010 |
| Model sistem | 1 ml model sistem çözeltisinden, 10 ml su ile 3 defa ekstraksiyon yapıp, 8000g'de 20 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Isolute Multimode (300 mg) | ODS-AQ C ₁₈ kolon (50*4,6m m, 5 µm) | Mobil faz: %90 oranında %0,1'lik formik asitli su ve %90 oranında %10 oranında asetonyril Hız: 0,1 ml/dk Enj: 20 µl | MS/MS | ---- | AA için: 72>55 [D ₃]-akrilamid için: 75>58 | Ou et al., 2010 |
| Patates Cipsi | 1 g örnek 10 mM formik asit ile 2 dk vorteks yapılarak, karez I ve II eklenip, 5000 rpm'de, 0°C'da 10 dk santrifüj edilmiştir. | ---- | Oasis MCX kartuş (30 mg, 1 ml) | Atlantis T3, (150*4,6 mm, 3 µm) | Mobil faz: 10 mM formik asit Hız: 0,3 ml/dk | MS | Kurutma gazı basıncı: 20 psig Kurutma gazı akışı: 5 l/dak Nebulizer basıncı: 20 psi Kurutma gazı sıcaklığı: 350°C Kapiler voltaj: 2000 V Corona akımı:5 µA. | AA için: 72>55 | Palazoğlu et al., 2010 |

Çizelge 2.5. Farklı gıdalarda LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Temizleme | Kolon | HPLC parametreleri | Dedektör | MS parametreleri | Okunan İyonlar | Kaynak |
|---------------|---|------------------------------|----------------------------------|---|---|---|--|---|-------------------------|
| Patates cipsi | 1,5 g örnek ve 3,5g su vorteks yapıp, 27 ml izopropil alkol eklenip, 2500 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra, 45°C'da vakum altında çözgen uzaklaştırılmıştır. 3 ml asetonitril eklenip, 5 ml hegzan eklenip, çalkalanıp, hegzan uzaklaştırılmıştır. | ---- | ---- | EC2 100-5 C ₁₈ kolon (150*2 mm, 50 µm) | Mobil faz: Dereceli elüsyon (A)10mM asetik asitli su (B)10mM asetik asitli asetonitril | MS/MS LOD: 6 µg/kg LOQ: 18 µg/kg G.K: %90,7-96,3 | ---- | AA: 72>55 (C.E: 16 eV) | Tateo et al., 2010 |
| Badem | 50 g homojenize örnek üzerine iç standart, 300 ml su eklenip, vorteks ve 20000 rpm'de 20 dk santrifüj edilip, ekstrakt -30°C'da bekletilmiştir. Su banyosunda çözündürülen ekstrakt 15000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]- akrilamid | Isolute Multimode (500 mg) | Symmetry C ₁₈ kolon (150*2 mm, 4 µm) | Mobil faz: 10% metanollü su Hız: 0,1 ml/dk Enj: 2 µl | MS LOD: 0,1 ng/ml LOQ:0,9 ng/ml. | İyon sprey voltaj: 5200V Gaz sıcaklığı:450°C Gaz akışı: 6 l/dk | AA için: 72>55 [D ₃]-akrilamid için: 75>58 | Lasekan and Abbas; 2011 |
| Badem | 4 g homojenize örnek üzerine iç standart, su eklenip, 3000 rpm'de 30 dk karıştırılıp, 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edilip, ekstrakt -20°C'da 2 saat bekletilmiştir. Su banyosunda çözündürülen ekstrakt 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]- akrilamid | Strata-X-C kartuş (3 ml, 200 mg) | Prodigy ODS kolon (250*4,6 mm, 5 µm) | Mobil faz: %0,1 formik asitli su:metanol (90:10) Hız: 0,4 ml/dk Enj: 50 µl | MS/MS LOD: 2 µg/kg LOQ: 6 µg/kg. | Kapiler voltaj: 3.0 kV Cone voltaj: 20 V Source sıcaklığı: 145°C Desolvation gaz sıcaklığı: 400°C | AA için: 72>55 (C.E:12 eV) [D ₃]-akrilamid için: 75>58 (C.E:12 eV) | Zhang et al., 2011 |

2.7.2. GC, GC-MS, GC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi

Gaz Kromatografisi yöntemi nişasta bakımından zengin örneklerle çalışırken, nişastanın güçlü jelatinizasyon özelliğinden dolayı başarısız olmaktadır. Bu nedenle, yüksek kaliteli iyonlar sağlamada GC-MS'den yararlanılan yeni bir yöntem geliştirilmiştir (Gertz and Klostermann, 2002). Bu yöntemde, türevlendirme (bromlama) işleminin kullanılması ile daha uçucu bir bileşik oluşturmada ve tanımlama seçiciliği artmaktadır (Wenzl et al., 2003; Pittet et al., 2004; Taeymans et al., 2004; Tsutsumiuchi et al., 2004). Bromlama ile aynı zamanda, ortamdaki interferans yapan maddeler uzaklaşmaktadır (Taeymans et al., 2004). Akrilamidin 2,3-dibromopropionamid bileşiğine dönüştürülmesi daha önceki yıllarda UV ışık altında yapılmıştır (Eriksson, 2005). Bromlama işlemi, son yıllarda hidrojen bromür (HBr) ve doymuş bromlu su (Br₂) ile yapılmaktadır. Bu bromlama basamağının zahmetli ve zaman alıcı olması nedeni ile alternatif bir bromlama tekniği de potasyum bromat (KBrO₃) ve potasyum bromür (KBr) kullanılarak yapılmıştır. Potasyum bromür ve potasyum bromat kullanılmasının nedeni, bu bileşikler arasında gerçekleşen yükseltgenme-indirgenme reaksiyonu ile çok toksik olan element brom yerine brom molekülünün oluşturulmasıdır. Bromlama işlemi sırasında aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleşmektedir.



Akrilamid

2,3-dibromopropionamid

2-bromopropionamid

Yapılan çalışmalarda türevlendirme işleminin 1 ile 15 saat arasında, 4°C ya da 0°C'da buz banyosu içinde gerçekleştirildiği belirtilmektedir (Wenzl et al., 2003; Wenzl et al., 2004; Zhang et al., 2005; Zhu et al., 2008).

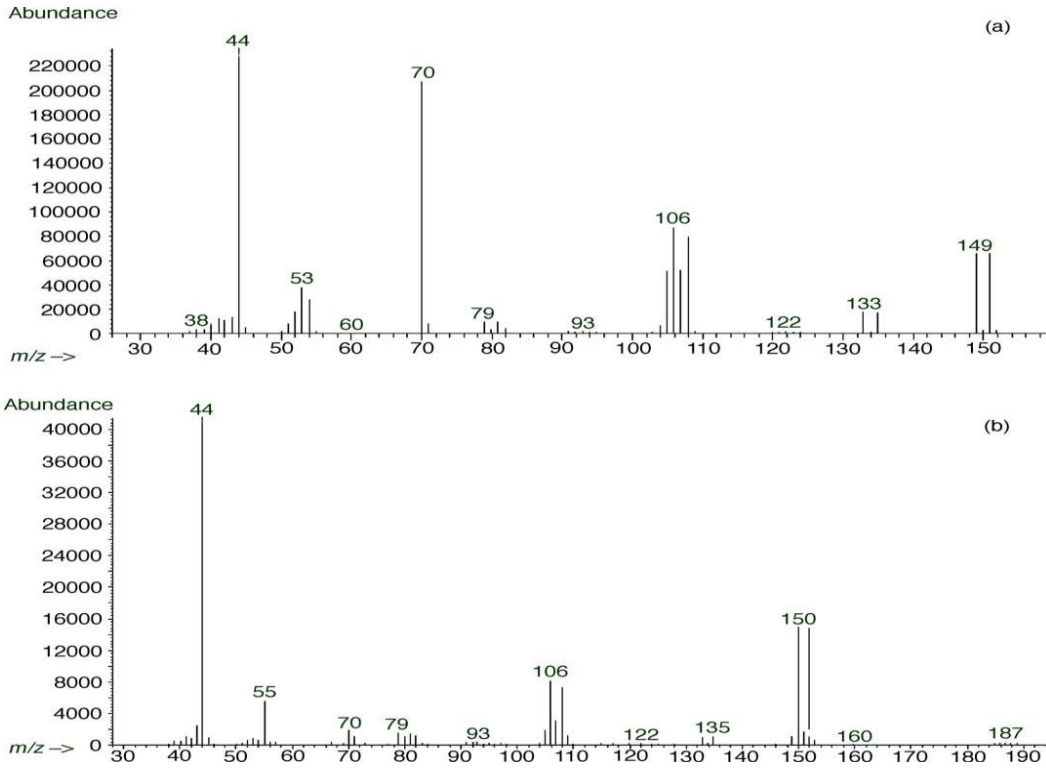
Bu türevlendirme tekniğinin birçok avantajı bulunmaktadır. Güçlü bir asit olan (HBr) ve doymuş bromlu çözelti hazırlamaya gerek bulunmamaktadır. Bu iki solventin hazırlanması zordur ve el ile teması tehlikelidir. KBrO₃ ve KBr birleşiminin kullanımı daha kullanışlı ve güvenilirdir ve reaksiyon soğuk depolama sıcaklığında 30 dakikada mükemmel tekrarlanabilirlik verecek şekilde gerçekleşmektedir. Ayrıca akrilamidin (KBrO₃ ve KBr) ile elde edilen türevi mükemmel gaz kromatografik özellikler sergilemekte, keskin pik şekilleri elde edilmektedir (Zhang et al., 2006). Özellikle 30 µg/kg'ın altındaki akrilamidi tespit

edebilmede, brom ile türevlendirme sonrasında GC-MS kullanımının en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir (Taeymans et al., 2004). Bu türevlendirme basamağının dezavantajları; bu bileşimin karışık kompozisyonlu solvent olması ve bunun da türevlerin reaksiyon ürünlerini etkileyebilmesidir. Bu yüzden enstrümental analiz öncesi son basamak olarak bir temizleme aşaması uygulanmalıdır (Zhang et al., 2006).

Bromlama basamağı ile akrilamid 2,3-dibromopropionamide dönüşmektedir. Fazla brom, çözelti berraklaşınca kadar sodyum tiyosülfat (1N) çözeltisi eklenerek, uzaklaştırılmaktadır (Pittet et al., 2004; Kim et al., 2007). Bromlanmış akrilamidin polarlığı azalmaktadır. Böylelikle polar olmayan organik solventlerde daha kolay çözünmektedir (Wenzl et al., 2003). 2,3-dibromopropionamid etil asetat ile ekstrakte edilmektedir. 2,3-dibromopropionamid bileşiği trietilamin (%10) ilavesi ile daha stabil bir analit olan 2-bromopropionamid bileşiğine dönüştürülebilmektedir (Pittet et al., 2004; Kim et al., 2007).

GC-MS yönteminde daha çok kimyasal iyonizasyon ve impact iyonizasyon içeren kütle spektromeresi kullanarak akrilamid tespit edilmekte ve miktar tayininde de seçilmiş iyon izleme (SIM) metodu tercih edilmektedir (Biedermann et al., 2002). Ayrıca, akrilamid GC-MS/MS ile de tespit edilebilmektedir.

Akrilamid ile ilgili GC-MS'de yapılan çalışmalar incelendiğinde; bazı çalışmaların 2-bromopropenamid (149, 151), bazılarının da 2-bromopropiyonamid (150, 152) üzerinden yapıldığı görülmektedir (Zhu et al., 2008). Şekil 2.8'de bu iyonlara ait kromatogramlar görülmektedir.



Şekil 2.8. Akrilamidin türevlerine ait spektrumlar a)2-bromopropenamid, b)2-propionamid (Zhang et al., 2005).

2.7.3. Türevlendirme yapılmadan GC-MS yöntemi ile akrilamid analizi

Çok fazla uygulanmayan bu yöntemde, akrilamidin ekstraksiyonu su ya da su ile n-propanol gibi organik solventlerin karışımı ile yapıldığı, saflaştırma işlemi için genellikle grafitize karbon kartuş kullanıldığı, 71 ve 55 iyonlarına göre okuma yapıldığı ifade edilmektedir.

Akrilamid bileşiğinin polaritesinden yararlanarak polar kolonlarda çalışıldığı, sıcaklık programı açısından türevlendirerek yapılanlardan pek farkı bulunmadığı belirtilmektedir (Wenzl et al., 2003; Zhang et al., 2005).

Literatürde GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle gıdalarda akrilamid düzeylerinin belirlenmesi ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Çizelge 2.6.'da GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleri ile farklı gıdalarda akrilamid düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan analiz koşulları özetlenmiştir.

Çizelge 2.6. Farklı gıdalarda GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları.

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Türevlendirme | Temizleme | Kolon | GC Parametreleri | Dedektör | Okunan İyonlar | Kaynak |
|---------------------|---|--|---|--|------------------------------------|--|------------------------------------|--|---------------------|
| Domates | 50 g örnek ve iç standart vorteks yapılıp, 2000 g'de 15 dk santrifüj sonrasında 25 ml su ile tekrar ekstraksiyon ve santrifüj edilmiştir. | (1)Metakrilamid ve (2)2,3-dibromo-N,N-dimetilakrilamid | Ekstrakt ile 82 ml bromlama çözeltisi (152 g KBr, 8 ml HBr, 50 ml bromlu su, 600 ml su) 1 gece 0°C'da bekletilmiştir. | 1 M sodyum tiyosülfat ile titrasyon yapılıp, etilasetat ile ekstraksiyon yapılıp, 1500g'de 5 dk santrifüj edildikten sonra, etilasetat (100µl'ye kadar) uzaklaştırılmıştır. Bond-Elut silika jel kolondan geçirilip, iç standart eklenmiştir. | DB 17 (30m*0,2 5mm, 0,2 µm) | 15°C/dk'lık artışla 65°C'dan 250°C'a Enj: 1 µl Splitless | MS LOD: 1 µg/kg, G.K: %26-62 | AA türevi için: 150, 152 Metakrilamid için: 120, 122 2,3-dibromo-N,N-dimetilakrilamid için: 178, 180 | Castle et al., 1991 |
| Mantar | 50 g örnek su karıştırılıp, 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. | 2,3-dibromo-2-Metil propiyonamid | Ekstrakt ile 15 ml bromlama çözeltisi (200 g KBr, 10 ml HBr, 160 ml bromlu su ve su ile 1000ml'ye tamamlanır) 1 gece 0°C'da bekletilmiştir. | 0,7 M sodyum tiyosülfat ile titrasyon yapılıp, etilasetat ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra, 2000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Etilasetat (30µl'ye kadar) uzaklaştırılıp, hegzan eklenip, Bond-Elut silika jel kolondan geçirilip, iç standart eklenmiştir. | DB 17 (30m*0,2 5mm, 0,2 µm) | 15°C/dk'lık artışla 65°C'dan 250°C'a Enj: 1 µl Splitless | MS LOD: 1 µg/kg, | AA türevi için: 106, 108, 150, 152 2,3-dibromo-2-Metilpropiyonamid için: 120, 122 | Castle et al., 1993 |
| Kızartılmış gıdalar | 10 gram örnekten 100 ml su ile karıştırarak ekstraksiyon yapılmıştır. | N,N-dimetilakrilamid | Ekstrakt ile bromlama çözeltisi (7,5 g KBr, pH'yi 1-3 aralığına düşürüne kadar HBr, bromlu su) 4°C'da 18 saat bekletilmiştir. | Ekstrakt glass-fibre filtreden geçirilip, Carbograph 4 kolonda saflaştırma yapılıp, iç standart ilave edilmiştir. Bromlama sonrasında, 1M sodyum tiyosülfat ile bromun fazlası uzaklaştırılıp, 15 g sodyum sülfat eklenip, 2*10ml etilasetat/hegzan:1/4 ile ekstraksiyon yapılmıştır. Elde edilen ekstrakt, etilasetat ve siklohegzan ile Bio-Beads S-X3 jelden geçirilmiştir. | HP PAS 1701 (25m*0,3 2mm, 0,25 µm) | 65°C'da 1 dk, 15°C/dk'lık artışla 250°C, 250°C'da 10 dk Enj: 2 µl splitless | MS LOD: 5 µg/kg GK: %98 | AA türevi için: 106, 108, 150, 152 İç standart için: m/z: 178, 180 | Tareke et al., 2000 |

Çizelge 2.6. Farklı gıdalarda GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Türevlendirme | Temizleme | Kolon | GC Parametreleri | Dedektör | Okunan İyonlar | Kaynak |
|---|---|---|---|--|--------------------------------|---|---|--|---------------------|
| Tost ekmeği kızartılmış patates cipsi | 10 g örnek üzerine 100 ml eklenip, 80°C'daki su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. | Metakrilamid | Ekstrakt ile 15 ml bromlama çözeltisi (200 g KBr, 10 ml HBr, 160 ml bromlu su ve su ile 1000ml'ye tamamlanır) 1 gece 0°C'da bekletilmiştir. | Ekstrakt glass-fibre filtreden geçirilip, türevlendirme sonrasında bromun fazlası uzaklaştırılıp, etilasetat ile ekstraksiyon yapılmıştır. 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edilip, sodyum sülfat eklenip, etilasetat uzaklaştırılmıştır. | DB 17 (30m*0, 25mm, 0,2 µm) | 85°C'da 1 dk, 25°C/dk'lık artışla 175°C'a, 175°C'da 6 dk tutulur.40°C/dk'lık artışla 250°C'a, 250°C'da 5 dk. Enj: 1 µl Splitless | MS | AA türevi için: 106, 108, 150, 152 Metakrilamid için: 120, 122 | Ahn et al., 2002 |
| Çeşitli gıdalar | 2 g örnek, iç standart, 40 ml su ile 2 dak. çalkalanıp, 10 dk 2600 rpm'de 10 dk santrifüj edilip, 2 defa hegzan ile ekstraktın yağı uzaklaştırılmıştır. | [¹³ C ₁] akrilamid | Ekstrakt ile bromlama çözeltisi (10 g KBr, 6ml 0,1M KBrO ₃) 90dak 4-10°C'da türevlendirme yapılmıştır. | Bromun fazlası uzaklaştırılıp, etilasetat ile ekstraksiyon yapılmıştır. Susuz sodyum sülfat ile su uzaklaştırılıp, etilasetat uçurulup, kalıntı aseton/hegzanda çözöldükten sonra florosil kartuştan geçirilmiştir. 20 µl trietilamin eklenmiştir. | DB-WAX (30m*0, 25mm 0,25µm) | 50°C'da 1 dk, 15°C/dk'lık artışla 240°C'a, 240°C'da 11,3 dk. Enj: 2 µl splitless | MS LOD: 9 ng/g LOQ: 30 ng/g G.K: %53,3-105,2 | AA türevi için: 149, 151, 108, 106, 70 [¹³ C ₁] akrilamid için: 150, 152, 108, 106, 71 | Nemato et al., 2002 |
| Proteince zengin gıdalar ve karbonhidratça zengin gıdalar | 10 gram örnekten 100 ml su ile ekstraksiyon yapılmıştır. | N,N-dimetil akrilamid ve [¹³ C ₃] akrilamid | Ekstrakt ile bromlama çözeltisi (7,5 g KBr, pH'yı 1-3 aralığına düşürüne kadar HBr, 10 ml bromlu su) 4°C'da 1 gece bekletilmiştir. | Ekstrakt glass-fibre filtreden geçirilip, Carbograph 4 kolonda saflaştırma yapıp, bromlama yapıp, bromun fazlası uzaklaştırıldıktan sonra, 15 g sodyum sülfat eklenip, 2*10ml etilasetat/hegzan:1/4 ile ekstraksiyon yapılmıştır. | BPX-10, (30m*0, 25mm, 0,25 µm) | 65°C'da 1 dk 15°C/dk'lık artışla 250°C'a, 250°C'da 10 dk Enj: 2 µl splitless | MS LOD: 5 µg/kg GK: %98 | AA türevi için: 106, 150, 152 N,N-dimetil akrilamid için: 172, 180 [¹³ C ₃] akrilamid için: 110, 155 | Tareke et al., 2002 |

Çizelge 2.6. Farklı gıdalarda GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Türevlendirme | Temizleme | Kolon | GC Parametreleri | Dedektör | Okunan İyonlar | Kaynak |
|-----------------------|---|---|---|---|---|---|---|--|------------------------|
| Çeşitli gıdalar | 50 g örnek, iç standart ve su karıştırılıp, 4800g'de 20 dk 20°C'da santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilonitrilden sentezlenen [D ₃]-akrilamid | Ekstrakt ile 82 ml bromlama çözeltisi (152 g KBr, 8 ml HBr, 50 ml bromlu su, 600 ml su) 1 gece 0°C'da bekletilmiştir. | Ekstrakt Isolute M-M (500 mg) kartuştan geçirilip, bromlama sonrasında 1M sodyum tiyosülfat çözeltisi ile bromun fazlası uzaklaştırılıp, etilasetat ile ekstraksiyon yapıp, sodyum sülfat eklenip, etilasetat uzaklaştırılmıştır. | CP-Sil 24 CB Lowbleed/MS, (30m*0,25mm, 25 µm) | 85°C'da 1 dk, 25°C/dk'lık artışla 175°C'a, 175°C'da 6 dk, 40°C/dk'lık artışla 250°C'a, 250°C'da 7,52 dk. Enj: 1 µl splitless | MS, LOD: 12 µg/kg LOQ: 40 µg/kg | AA türevi için: 150, 152 [D ₃]-akrilamid için: 153, 155 | Ono et al., 2003 |
| Unlu mamul | Yağı hegzan ile alınan öğütülmüş örnek, 50 ml metanol ile 15 dk karıştırılıp, 5 dk 2500 rpm'de santrifüj edilmiştir. | ---- | ---- | ---- | Supelcowax (30m*0,25mm, 0,2 µm) | 60°C'da 1 dk., 10°C/dk'lık artışla 240°C'a | MS LOD: 2 µg/kg LOQ: 10 µg/kg G.K: %68-75.4 | AA için: 27, 55, 71 | Tateo and Bononi, 2003 |
| Çeşitli gıda ürünleri | İç standart ilave edilen örnekten önce izo-hegzan sonra su ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yapıp, su banyosunda 60°C'de 30 dk bekletilmiştir. Asetonitril, Karez I ve II ile saflaştırıldıktan sonra 4500 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | ---- | ---- | DB-WAX kolon (30m*0,25mm, 0,25 µm) | 70°C'da 1 dk, 20°C/dk'lık artışla 230°C'a, 230°C'da 10 dk., Enj: 1 µl splitless | MS/MS; LOQ: 30 µg/kg | AA için: 89>72, 55 [D ₃]-akrilamid için: 92>75 | Hoenicke et al., 2004 |

Çizelge 2. 6. Farklı gıdalarda GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Türevlendirme | Temizleme | Kolon | GC Parametreleri | Dedektör | Okunan İyonlar | Kaynak |
|----------------------|--|--|---|---|--|--|----------------------------|--|------------------------|
| Tahıl ürünleri | Örnek üzerine iç standart ve su ilave edilip, karıştırılmıştır. 1 ml asetik asit ile PH 4-5'e ayarlanıp, Karez I ve II eklendikten sonra, 16000g'de 15 dk santrifüj edilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Potasyum bromür (7.5 g) filtratın içinde çözülür, hidrobromik asit ile pH 1-3'e ayarlanır. 10 ml doymuş bromlu su ilave edilir. 1 saat buz banyosunda bekletilir. Bromun fazlası 1M sodyum tiyosülfat ile uzaklaştırılır. | Kalıntı sodyum sülfat ve aktive edilmiş Florosil içeren cam kolondan hegzan ile geçirilerek temizleme işlemi yapılmıştır. | ZB-WAX kapiler kolon (30 m*0,25 mm, 0,25 µm) | 65°C'da 1 dk 15°C/dk'lık artışla 170°C'a, 170°C'da 5 dk., 40°C/dk'lık artışla 250°C'a, 250°C'da 15 dk., Enj: 2 µl splitless | GC-MS; LOD, 2 µg/kg; | AA türevi için: 149, 70 [¹³ C ₃] akrilamid için: 154, 110 | Pittet et al., 2004 |
| Kraker model sistemi | 1 g örnek üzerine iç standart ve su eklenip, 15 dak karıştırıldıktan sonra, yağın uzaklaştırılması için 4 ml hegzan eklenip, 3000g'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Hegzan uzaklaştırılıp, etilasetat eklenmiştir. | [D ₃]- akrilamid | ---- | ---- | DB WAXETR kolon (15 m*0,25 mm, 0,25 µm) | 60°C/dk'lık artışla 160°C'a, 50°C/dk'lık artışla 230°C'a, Enj: 1 µl splitless | GC-MS | AA için: 72 [D ₃]-akrilamid için: 75 | Levine and Smith, 2005 |
| Çeşitli gıdalar | 3 g örnek üzerine iç standart ve su eklenip, 30 dak su banyosunda bekletilmiştir. 24 ml n-proponal eklenip, 5 dk vorteks ve 5 dk santrifüj edilmiştir. Üst faz uçurulduktan sonra, kalıntı hegzanda çözülüp, vorteks, santrifüj edilip, üst faza viala alınmıştır. | [D ₃]- akrilamid | ---- | ---- | An Innowax kolon (30m*0,25mm, 0,25 µm) | 70°C'da 1 dk., 20°C/dk artışla 240°C'a, 240°C'da 10,5 dk, 1,0 ml/dk splitless Enj:1 µl. | GC/MS | AA türevi için: 71, 55 [D ₃]-akrilamid için: m/z: 75, 58 | Dunovska et al., 2006 |

Çizelge 2. 6. Farklı gıdalarda GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Türevlendirme | Temizleme | Kolon | GC Parametreleri | Dedektör | Okunan İyonlar | Kaynak |
|-------------------------|--|--|---|-----------------------------------|--|--|----------|---|-----------------------------|
| Çeşitli gıdalar | 1 g örnek üzerine iç standart, formik asitli su ve hegzan eklenip vorteks yapıldıktan sonra, 4 g susuz sodyum sülfat, 0,5 g NaCl eklenip, çalkalanmıştır. 5 dk, 5000 rpm'de santrifüj edilip, süpernetanttan hegzan uzaklaştırılıp, susuz sodyum sülfat eklenip, santrifüj edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | ---- | ---- | Stabilwax-DB (Restek) (20 m*0,32 mm, 1 µm) | 100°C'da 3,1 dk, 200°C/dk artışla 150°C'a, 150°C'da 3 dk., Split oranı: 50:1 | MS | AA türevi için: 72 [D ₃]-akrilamid için: m/z: 75 | Mastovska and Lehotay, 2006 |
| Çin geleneksel gıdaları | Homojenize örnek ve iç standart vorteks yapıp, 20 ml eter eklenip, santrifüj edilmiştir. Süpernetant kısım uzaklaştırılıp, sodyum klorür eklenip, 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Üst kısım pipetle alınıp, tüp içinde kalan kısım için 8 ml NaCl ile işlem tekrarlanmıştır. | [¹³ C ₃] akrilamid | NaCl'lü ekstraktan 5 ml alınıp, potasyum bromür ve potasyum bromat eklenip, 4°C da 30 dk türevlendirme yapılmıştır. | ---- | HP INNOWax kolon (30m*0,32m m, 0,25 µm) | 110°C'da 1 dk, 10°C/dk artışla 140°C'a, 140°C'da 15 dk, 30°C/dk artışla 240°C'a, 240°C'da 7 dk, 1,0 ml/dk splitless Enj:1 µl. | MECD | ---- | Zhang et al., 2007b |
| Ekspresso kahve | 2,5 ml içecek ya da 0,5 g kahve üzerine 25 µl iç standart eklenip, SPE kolondan geçirilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Ekstrakta 1 g potasyum bromür, 150 µl hidrobromik asit ve 2 ml bromlu su eklenip, karanlıkta buz banyosunda 1 saat türevlendirilmiştir. Sodyum tiyosülfat ile bromun fazlası uzaklaştırılmıştır. NaCl ilavesinden sonra, etilasetat /hegzan da ekstraksiyon yapıp, susuz sodyum sülfat ile su uzaklaştırılmıştır. | Isolute C ₁₈ Multimode | MDN-12 (30 m*0,25 mm, 0,25 µm) | 85°C 1 dk, 15 °C/dk'lık artışla 280°C'a, 280°C'da 10 dk 1 ml/dk Enj: 1 µl splitless | MS | AA türevi için: 106, 150, 152 [¹³ C ₃] akrilamid için: 110, 153, 155 | Alves et al., 2010 |

Çizelge 2. 6. Farklı gıdalarda GC-MS ve GC-MS/MS yöntemleriyle akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan analiz koşulları (devamı).

| Gıda | Ekstraksiyon | İç Standart | Türevlendirme | Temizleme | Kolon | GC Parametreleri | Dedektör | Okunan İyonlar | Kaynak |
|----------------------------|--|--|--|--------------------------------|---|--|--|---|----------------------|
| Çavdar | 0,5 g örnek ve iç standart %25'lik metanolle 2 saat çalkalanıp, ekstrakt filte edildikten sonra, metanol uzaklaştırılıp, ekstrakt kartuştan geçirilmiştir. | [¹³ C ₃] akrilamid | Ekstrakt ile 82 ml bromlama çözeltisi (152 g KBr, 8 ml HBr, 50 ml bromlu su, 600 ml su) 1 gece 0°C'da bekletilmiştir. | Sep-Pak C ₁₈ kartuş | DB-5MS kapiler kolon (30m*0,25m 1 µm) | 85°C'da 1 dk, 8°C/dk'lık artışla 200°C'a, 30°C/dk'lık artışla 280°C'a, 280°C'da 10 dk Enj: 2 µl Splitless | MS İyon Source Sıcaklığı: 180°C | AA türevi için: 150, 152 [¹³ C ₃] akrilamid için: 153, 155 (150 ve 155 iyonlarına göre kantitatif tayin yapılmıştır) | Currtis et al., 2010 |
| Kızartılmış parmak patates | Patateslerin yağı hegzan ile uzaklaştırılıp, 50 ml su ile 60 dk çalkalanarak örnekten akrilamid ekstrakte edilmiştir. | [D ₃]-akrilamid | Ekstrakta 3 g potasyum bromür, 2 ml potasyum bromat çözeltisi (0,1 M), 1,2 ml sülfürik asit eklenip, karanlıkta 4°C'da 1 saat bekletilmiştir. 1 ml sodyum tiyosülfat ile türevlendirme bitirilmiştir. Etil asetat ile ekstraksiyon yapıp, etil asetat 1 ml kalana kadar uçurulmuştur. Trietilamin eklenip, santrifüj edilmiştir. | ---- | DB-Wax kapiler kolon (30 m*0,25 mm, 0,25µm) | 130°C'da 0 dk, 10°C/dk'lık artışla 230°C'a, 230°C'da 5 dk Enj: 2 µl splitless | MS | AA türevi için: 149, 70 [D ₃]-akrilamid için: 153, 72 (149 ve 153 iyonlarına göre kantitatif tayin yapılmıştır) | Zeng et al., 2010 |

Hoenicke et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada ekmek, patates cipsi, pekmez, malt, kakao ve çözümlü kahvede akrilamid düzeylerinin belirlenmesinde GC-MS/MS ve LC-MS/MS yöntemleri karşılaştırılmıştır. Saptama sınırı GC-MS/MS de 5 µg/kg, LC-MS/MS de ise 30 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Ono et al. (2003) tarafından yapılan benzer bir çalışmada Japonya'daki işlenmiş gıdalarda akrilamid düzeylerinin belirlenmesinde GC-MS ve LC-MS/MS yöntemleri karşılaştırılmış, iki yöntemde elde edilen sonuçlar arasında $r=0,946$ gibi anlamlı bir korelasyon bulunduğu ifade edilmektedir.

2.7.4. Elektrokinetik kapiler kromatografi yöntemi ile akrilamid analizi

Zhou et al. (2007a) tarafından yapılan çalışmada micellar elektrokinetik kapiler kromatografi (MEKC) ile patates cipslerindeki akrilamid düzeylerinin belirlenmesine yönelik bir yöntem geliştirmişlerdir. Oluşturulan yöntemin LOD değeri 0,1 µg/ml, LOQ değeri ise 0,33 µg/ml olarak saptanmıştır. Geri kazanım değerlerinin %90,86 ve %99,6 olduğu bulunmuştur.

2.7.5. Biyosensör kit yöntemi ile akrilamid analizi

Gianni et al. (2007) tarafından yapılan çalışmada kahvedeki akrilamid düzeylerinin belirlenmesinde HPLC-MS yöntemi ve biyosensör kiti kullanımı karşılaştırılarak iki yöntem arasında ilişki kurulmuştur. Kit yönteminin pratik ve güvenilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

2.7.6. NIR yöntemi ile akrilamid analizi

Pedreschi et al. (2010b) tarafından yapılan çalışmada NIR yöntemi ile 60 tane patates cipsi örneğinde akrilamid analizi gerçekleştirilmiştir. Ancak, örneklerdeki ortalama 266 g/kg'lık hata olduğu ve gerçek değerlerle bulunan değer arasındaki korelasyonun 0,83 olduğu belirtilmiştir.

2.7.7. ELISA yöntemi ile akrilamid analizi

Quan et al. (2011) tarafından yapılan çalışmada gıdalarda akrilamid düzeylerinin tespiti için ELISA yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemin saptama sınırı 18,6 ng/ml, geri kazanım oranları ise %74,4-98,1 olarak belirtilmiştir. Oluşturulan yöntemde elde edilen sonuçların HPLC yöntemi ile doğrulaması yapılmıştır.

2.8. Gıdalarla Akrilamid Alımı

Akrilamid diyetimizde tükettiğimiz gıdaların birçoğunun içinde pişirme sırasında kendiliğinden oluştuğundan, vücudumuza günlük akrilamid alımı yüksek olmaktadır. WHO gelişmiş ülkelerde uzun süreli diyetle akrilamide maruz kalınan miktarı, günlük 0,3-0,8 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir (Mucci et al., 2004).

Arisseto et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada Brezilya'da 11-17 yaş arası gençlerin en sık tükettikleri gıdaların akrilamid düzeyleri LC-MS/MS ile belirlenmiştir. Ayrıca, 578 genç üzerinde yapılan çalışmada günlük akrilamid alım miktarları da hesaplanmıştır. Çalışmanın sonucunda, ortalama akrilamid alımı 0,12 mg/kg vücut ağırlığı/gün, maksimum akrilamid alımı ise 1,92 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak saptanmıştır. İlave olarak, kızların erkeklere göre ve (11-14) yaş grubunun da (15-17) yaş grubuna göre gıdalardan daha fazla akrilamid aldığı tespit edilmiştir.

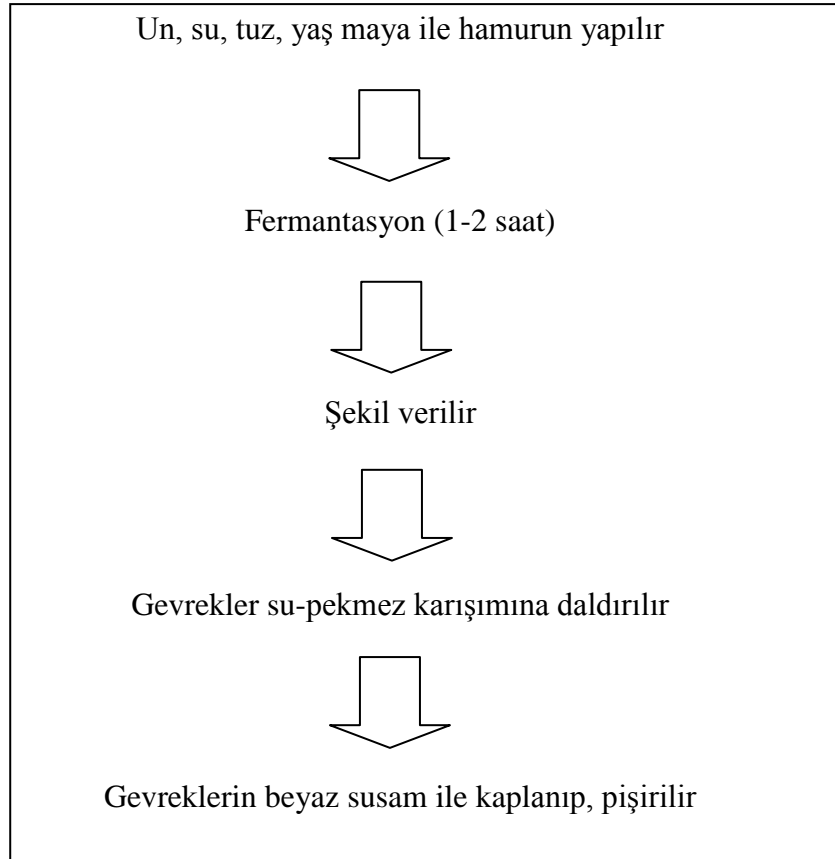
Biedermann et al. (2010) tarafından yapılan başka çalışmada, İsviçre'de 2007-2009 yılları arasında tüketilen gıdalardan akrilamid alımı incelenmiştir. Vücuda akrilamid alımının büyük oranda patates kızartmasından kaynaklandığı belirtilmektedir. İsviçrelilerin her 3 günde 200 gramlık 2 porsiyon patates kızartması tüketmeleri sonucu, günlük 84 µg akrilamid aldıkları ifade edilmektedir.

2.9. Akrilamid İle İlgili Yasal Mevzuat

Gıdalardaki akrilamid düzeyleri ile ilgili Avrupa Birliği ve Ülkemiz mevzuatında belirlenmiş limit değerleri bulunmamaktadır. Ancak sularda Avrupa Birliği'nde 98/83/EC direktif ve ülkemizde "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik" gereği 0,1 µg/l sınır değer olarak belirlenmiştir (Anon, 2011a, 2011b). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından farklı gıdalarda akrilamid düzeylerinin belirlenmesi ve izlenmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir (Anon, 2011c).

2.10. İzmir Gevreği

İzmir gevreği 450 yıl önce Kırım'dan gelip, Osmanlı Padişahı tarafından İzmir'in Konak İlçesi Değirmendağı Mevkii'ne yerleştirilen Tatar Türklerinin bir ürünüdür. Tatar Türkleri geleneksel gevreklerini İzmir'de biraz daha büyük boyutta, yörede üretilen Sultani üzümünden elde edilen şerbetle hazırlamışlardır. Un, su, tuz ve yaş maya ile hamurun yapılması, hamurun 30-45 dakika süreyle fermente edilmesi ve şekil verilmesi, şekillendirilen gevreklerin kaynayan su-pekmez karışımına 10-15 saniye süre ile daldırılması, daldırma sonrasında beyaz susam ile kaplanması ve fırında 7-8 dakika pişirilmesi ile yapılmaktadır (Alpözen vd., 2009). İzmir gevreği üretimi akış şeması Şekil 2.9'da gösterilmektedir.



Şekil 2.9. İzmir gevreği üretim akış şeması.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Kullanılan Kimyasallar:

Formik asit (HPLC saflıkta), hegzan (HPLC saflıkta), potasyum hegzasiyanoferrat trihidrat, çinko asetat dihidrat, potasyum klorür, glikoz standardı, frütoz standardı Merck firmasından (Darmstadt, Almanya), su (HPLC saflıkta), asetonitril (HPLC saflıkta) VWR firmasından (Penisilvanya, ABD), su (LC-MS/MS saflıkta), HMF standardı Fluka firmasından (Buchs, İsviçre), metanol (HPLC saflıkta), HCl, akrilamid (A3553-100G) Sigma-Aldrich firmasından (Steinhein, Almanya), D₃ Akrilamid Polymer Source (Toronto, Kanada) firmasından temin edilmiştir.

Örnekler:

İzmir gevrekleri, İzmir'de üretim yapan 30 adet firmandan 3'er adet olarak alınmıştır. Bu numunelerde, akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$), toplam indirgen şeker (mg/kg), HMF (mg/kg), nem (%), protein (%), pH ve renk ölçümleri yapılmıştır.

Projenin ikinci kısmında İzmir gevrekleri laboratuvar koşullarında fırın koşullarına benzer şekilde yapılmıştır. Un ve susam İzmir'in Alsancak semtinde faaliyet gösteren "Zeynel Usta" isimli firmandan temin edilmiştir. Maya "Pakmaya" marka, üzüm ve dut pekmezi "Koska" marka, şeker "Konya şeker" marka, tuz "Billur tuz" marka kullanılmıştır.

Kullanılan Cihazlar:

Bu projede kullanılan cihazların markaları ve kullanım amaçları aşağıda verilmiştir.

LC-MS/MS Cihazı: Akrilamid analizleri Agilent 1200 likit kromatografi ve buna bağlı 6410 Triple Quad MS-MS (Santa Clara, ABD) cihazında yapılmıştır.

Protein Cihazı: Leco FP-528 marka (Michigan, ABD) protein cihazı İzmir gevreği örneklerinin protein düzeylerinin belirlenmesi amacı ile kullanılmıştır.

HPLC-RID: İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker, glikoz ve früktoz miktarlarını belirlemek amacıyla Agilent 1100 HPLC cihazı ve buna bağlı Refraktif Index Dedektörü (Santa Clara, ABD) kullanılmıştır.

HPLC-DAD: İzmir gevreği örneklerinin HMF miktarlarını belirlemek amacıyla Agilent 1100 HPLC cihazı ve buna bağlı DAD dedektörü (Santa Clara, ABD) kullanılmıştır.

Renk cihazı: Hunterlab marka (Colorflex) renk cihazı (Virginia, ABD) İzmir gevreği örneklerinin renk değerlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

pH metre: Sartorius marka (Goettingen, Almanya) pH metre İzmir gevreği örneklerinin pH'sını belirlemek için kullanılmıştır.

Etüv: Nüve marka (Ankara, Türkiye) etüv İzmir gevreği örneklerinin kuru madde içeriğini belirlemek için kullanılmıştır.

Etüv: Thermo Scientific marka (Waltham, ABD) etüv İzmir gevreği örneklerinin pişirilmesi için kullanılmıştır.

Manyetik karıştırıcı: Kermanlar (İstanbul, Türkiye) ve MK 120 (Ankara, Türkiye) marka manyetik karıştırıcı İzmir gevreği örneklerinde akrilamid analizi için örnek hazırlama işleminde kullanılmıştır.

Santrifüj cihazı: Eppendorf marka (Hamburg, Almanya) santrifüj cihazı (5804) İzmir gevreği örneklerinde akrilamid, toplam indirgen şeker ve HMF analizleri için örnek hazırlama işleminde kullanılmıştır.

Vorteks karıştırıcı: Velp Scientifica marka (Usmate, İtalya) vorteks karıştırıcı İzmir gevreği örneklerinde toplam indirgen şeker ve HMF analizlerinde kullanılmıştır.

Analitik terazi: Sartorius marka (Goettingen, Almanya) analitik terazi (CP 224) tüm tartım işlemlerinde kullanılmıştır.

Hot plate: Stuart marka (Staffordshire, İngiltere) hot plate pekmezli su ve yanık şeker çözeltilisinin kaynatılması için kullanılmıştır.

3.2.Yöntem

İzmir gevreklerinde akrilamid, protein, toplam indirgen şeker, HMF, nem, renk ve pH analizleri yapılmıştır.

3.2.1. Akrilamid analizi

3.2.1.1. Akrilamid standartlarının hazırlanması

Akrilamid analizinde en uygun yöntemin belirlenebilmesi için gerçekleştirilen yöntem çalışmalarında kullanılmak üzere akrilamid ve D₃ akrilamid çözeltileri stok çözelti olarak hazırlanmıştır. Bu amaçla, 25 mg standart ve iç standart tartılıp, asetonitril ile 100 ml'ye tamamlanarak, 250 mg/l'lik ana stok çözeltiler hazırlanmıştır ve -18°C'da muhafaza edilmiştir. Böylelikle stok çözeltilerin dayanıklılığı arttırılmıştır. Bu stok çözeltilerden 0,4 ml alınarak saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak, 1 mg/l'lik stok çözeltiler hazırlanmıştır. 1 mg/l'lik stok akrilamid çözeltisinden Çizelge 3.1.'de belirtilen hacimlerde alınıp, üzerine 1 mg/l'lik stok iç standarttan 2 ml ilave edilip, standardın pH'sı 2,3 civarında olacak şekilde 3-4 damla derişik hidroklorik asit damlatılarak, saf suyla 25 ml'ye tamamlanmıştır.

Çizelge 3.1. Akrilamid standartlarının (25 ml suda) hazırlanmasında kullanılan stok standart çözelti miktarları ve standartların konsantrasyonları.

| Akrilamid Standardının Konsantrasyonu | Alınan Stok Akrilamid (1 mg/l) Hacmi (ml) | Alınan Stok İç Standart (1 mg/l)Hacmi (ml) | İç Standart Konsantrasyonu |
|---------------------------------------|---|--|----------------------------|
| 1 ppb | 0,025 | 2 | 80 ppb |
| 2 ppb | 0,05 | 2 | 80 ppb |
| 5 ppb | 0,125 | 2 | 80 ppb |
| 10 ppb | 0,25 | 2 | 80 ppb |
| 25 ppb | 0,625 | 2 | 80 ppb |
| 50 ppb | 1,25 | 2 | 80 ppb |
| 100 ppb | 2,5 | 2 | 80 ppb |

250 mg/l'lik stok standart çözeltiler -18°C'da, 1 mg/l'lik stok çözeltiler ise +4°C'da bekletilmiştir. 1 mg/l'lik standart çözeltiler 2 günden fazla kullanılmamıştır.

3.2.1.2. Akrlamid analizi için örnek hazırlama

Akrlamid analizinde Palazoğlu et al. (2010) tarafından kullanılan yöntem üzerinde çeşitli modifikasyonlar yapılarak yeni bir yöntem oluşturulmuştur.

İzmir gevreği örnekleri öğütüldükten sonra analize kadar -18°C 'da saklanmıştır. Öğütülen gevreklerden 6 gram bir behere tartılıp, üzerine 30 ml HPLC saflığında su ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcıda 30 dakika karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin 25. dakikasında büyük moleküllü bileşikleri çöktürmek için 1,5 ml Karez I (10,6 g potasyum hexasiyanoferrat trihidrat/100 ml su) ve 1,5 ml Karez II (24 g çinko asetat dihidrat/100 ml su) çözeltisi ilave edilmiştir. Beher 3 ml su ile yıkanarak, çözelti santrifüj tüpüne alınmış, 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında sıvı faz ayırma hunisine alınmış, 20 ml hegzan ile çalkalanarak, örnekteki apolar maddeler uzaklaştırılmıştır. Sulu fazdan alınan 20 ml, 25 ml'lik balon jojeye alınmış, üzerine 1 mg/l'lik iç standart çözeltisinden 2 ml ilave edilmiş, derişik HCl damlatılarak pH'sı 2,3 civarına ayarlanmış ve 25 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır.

3.2.1.3. Saflaştırma

Elde edilen ekstrakt kartuştan geçirmek suretiyle saflaştırılmıştır. Waters Oasis MCX kartuş şartlandırılmıştır. Bunun için önce 1 ml metanol saniyede bir damla akacak şekilde kartuştan geçirilip, sonrasında HPLC saflıkta 1 ml su aynı şekilde kartuştan geçirilmiştir. Bundan sonra kartuşta fiziksel olarak tutunmuş olan sıvı fazı uzaklaştırmak için enjektör boş basılarak hava geçirilmiştir. Böylelikle örnekte veya standartta seyrelmeye yol açacak sıvı uzaklaştırılmıştır. Bu aşamada kartuş kullanıma hazırdır ve 1 ml örnek ekstraktı saniyede bir damla olacak şekilde kartuştan geçirilip ve ilk 10 damla atılıp, sonraki damlalar vialde alınmıştır. LC/MS-MS cihazına enjeksiyon yapılmıştır.

3.2.1.4. Yöntemin saptama sınırının belirlenmesi

Piyasadan temin edilen 10 adet İzmir gevreği numunesinin içi ve kabuğu ayrılmış, gevreklerin içi tanık örnek olarak analiz edilmek üzere öğütülmüştür. 6 gram örnek alınarak akrilamid ekstrakte edilmiş, bu ekstraktın 20 ml'si üzerine 1 mg/l 'lik akrilamid çözeltisinden 0,05 ml, 1 mg/l'lik D₃ akrilamid çözeltisinden 2 ml ilave edilmiş, pH 2,3' e ayarlanmış ve saf suyla 25 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.1.5. Geri kazanım değerlerinin belirlenmesi

Piyasadan temin edilen 5 adet İzmir gevreğinde 2 paralel geri kazanım çalışması yapılmıştır. Geri kazanım çalışmasında 20 ml örnek ekstraktı üzerine 1 mg/l'lik akrilamid çözeltisinden 250 µl ilave edilmiştir.

3.2.1.6. Doğrusallığın Belirlenmesi

250 mg/l'lik ana stok çözeltiden 1 ml alınıp, 250 ml'ye saf su ile seyreltilmiştir. Bu stok çözeltiden 0,025 ml-0,050 ml-0,125 ml-0,250 ml-0,625 ml-1,250 ml-2,50 ml alınıp, 2 ml iç standart ilavesinden sonra derişik HCl damlatılarak pH'sı 2,3 civarına ayarlanmıştır. 25 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. Oluşturulan kalibrasyon eğrisinden, akrilamidin hangi konsantrasyona kadar doğrusal olduğu belirlenmiştir. Analizler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.7. Kromatografik Koşullar

LC-MS/MS cihazında aşağıda belirtilen koşullarda çalışılmıştır.

Kromatografik koşullar:

| | |
|------------------|--|
| Akış hızı | : 0,8 ml mobil faz/dk |
| Pompa | : Binary pompa |
| Enjeksiyon hacmi | : 15 µl |
| Kolon | : Agilent SB C ₁₈ , 1,5 µm, 4,6 mm x50 mm |
| Dedektör | : MS/MS dedektör |
| Mobil faz | : (A) %0,3'lük (v/v) formik asit çözeltisi (%90 oranında) (B) Asetonitril (%10 oranında) |

Source Parametreleri:

| | |
|-------------------|----------------------------|
| Iyonlaşma türü | : Elektrospray iyonizasyon |
| Gaz sıcaklığı | : 350°C |
| Gaz akış hızı | : 12 l/dk (azot) |
| Nebulizer basıncı | : 40 psi |
| Kapiler voltaj | : 4000 volt |

Çizelge 3.2.'de akrilamidden ve D₃ akrilamidden LC-MS/MS cihazında oluşan iyonlar görülmektedir.

Çizelge 3.2. LC-MS/MS cihazında akrilamidden ve D₃ akrilamidden oluşan iyonlar.

| | I.Quadrupolde Oluşan İyon (M+1) | II.Quadrupolde Oluşan İyon | Fragmentor Voltaj (eV) | Collision Enerji (eV) |
|--|--|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| D ₃ Akrilamid (iç standart) | 75,1 | 58,0 | 60 | 10 |
| Akrilamid daughter iyon | 72,0 | 55,0 | 70 | 10 |

3.2.2. Gerçekleştirilen diğer analizler

3.2.2.1. Protein analizleri

Protein analizleri AOAC 990.03.2000 yöntemine göre yapılmıştır. Öğütülmüş örnekten 0,25 gram tartılarak, LECO FP 528 cihazında okuma yapılmıştır. Dumas prensibi ile çalışan bu sisteme göre; alüminyum folyolara 0,25 g örnek tartılır ve cihazda % azot (N) olarak sonuç alınır ve bu da hububatlarla ait değer olan 5,7 ile çarpılarak % protein sonucu cihaz tarafından otomatik olarak verilmiştir (Anon, 2000).

3.2.2.2. Toplam indirgen şeker analizi

İndirgen şeker analizleri HPLC (Agilent 1100, U.S.A) cihazında, IHC (International Honey Commission), 2002 yöntemi üzerinde gerekli değişiklikler yapılarak İzmir gevreği örneklerine uygulanmıştır. Öğütülmüş örneklerden 3 g santrifüj tüpü içine tartılarak, üzerine 12 ml su ilave edilmiş ve 5 dakika vorteks cihazında karıştırılmıştır. Ardından 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, üst faz alınarak filtre kağıdından ve 0,45 µm'lik teflon filtreden enjektör yardımıyla süzülerek vialere alınmıştır (Anon, 2002).

Kromatografik Koşullar:

| | |
|------------------|--|
| Dedektör | : RID Dedektör (Kırılma İndisi Dedektörü) |
| Kolon | : Amin (NH ₂) kolon (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) |
| Mobil faz | : %85 asetonitril ve %15 deiyonize su |
| Kolon sıcaklığı | : 30°C |
| Akış hızı | : 1 ml/dk |
| Enjeksiyon hacmi | : 20 µl' dir. |

3.2.2.3. HMF Analizi

HMF analizleri IHC (International Honey Commission), 2002 yöntemi üzerinde gerekli değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. 3 g örnek santrifüj tüpü içine tartılarak, üzerine 12 ml su ilave edilmiştir. 5 dakika vorteks yapıp, 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, üst faz filtre kağıdından ve mikrofiltreden süzülerek, vialle alınmıştır. HPLC-DAD dedektörde okuma yapılmıştır (Anon, 2002).

Kromatografik Koşullar:

| | |
|------------------|--|
| Dedektör | : DAD Dedektör |
| Mobil Faz | : %90 su ve % 10 metanol |
| Kolon | : C ₁₈ kolon (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) |
| Kolon sıcaklığı | : 30°C |
| Akış hızı | : 1 ml/dk |
| Enjeksiyon hacmi | : 20 µl' dir. |

3.2.2.4. Nem analizleri

Nem Analizleri; unlu mamuller için TS 1135 ISO 712 yöntemine göre yapılmıştır. Öğütülmüş İzmir gevreklerinden 4 g örnek, sabit tartıma getirilmiş nem kaplarına tartılmıştır. Örnekler 130°C'daki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Ağırlık değişimine dayanarak gravimetrik yöntemle örneklerin nem içeriği % (w/w) olarak hesaplanmıştır. Analizler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir (Anon, 2001).

3.2.2.5. Renk analizleri

İzmir gevreği numunelerinde L*, a*, b* renk değerleri Hunterlab (Model: Colorflex) renk tayin cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Aynı örnek için 4 ayrı noktada ölçüm alınmıştır.

3.2.2.6. pH analizleri

pH analizleri TS 12230'a göre yapılmıştır. Öğütülerek toz hale getirilmiş İzmir gevreği örneklerinden 4 g tartılıp 50 ml saf su ilave edilmiş, iyice karıştırıldıktan sonra pH metre kullanılarak her bir örneğin pH'sı 3 paralel olacak şekilde saptanmıştır (Anon, 2010).

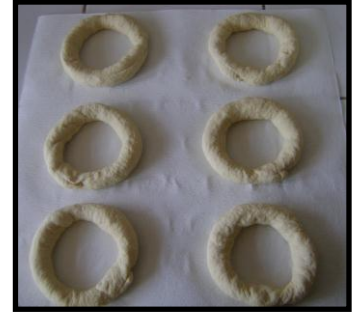
3.2.3. İzmir gevreğinin laboratuvar koşullarında yapılması

İzmir gevreğinin üretimi; hamurun yapılması, hamura şekil verilmesi, pekmez çözeltisine gevreklerin daldırılması, beyaz susamla kaplanması ve pişirme aşamalarından oluşmaktadır. Akrilamid İzmir gevreğinin sadece kabuğunda olduğundan, pişirilen gevreklerde kabuk oluşumunun sabit tutulmasına dikkat edilmiştir.

Hamurun yapılması: 2 gevrek için; 66,6 ml su, 4 gram maya, 166,6 gram un ve 1 gram tuz ile hamur yapılmıştır. Yapılan hamur oda koşullarında 90 dakika fermantasyon için bırakılmıştır.



Hamura şekil verilmesi: Fermantasyon süresinin sonunda hamur 90 gramlık parçalara ayrılmıştır. Tartılan hamurlar ince şerit şeklinde açılmıştır. Şeritlerin boyu pişirme sonrası oluşacak kabuk miktarını sabitlemek için 30 cm olacak şekilde ayarlanmıştır. Şeritler uçlarından birleştirilerek şekil verilmiştir. 3 farklı noktadan ölçüm yapılarak çapın 11 cm olup olmadığı kontrol edilmiştir.



Pekmez çözeltisine gevreklerin daldırılması: 75 ml pekmez saf su ile 3 litreye tamamlanarak pekmez çözeltisi hazırlanmıştır. 2 gevrek için İzmir gevreği hamurları çelik tencerede 75°C'a kaynatılan pekmezli su çözeltisine 10 saniye daldırılmıştır.



Beyaz susamla kaplama: 25 gram susam tartılmıştır. Hazırlanan pekmezli su çözeltisinden 3 ml alınarak, susamların hamura yapışmasını kolaylaştırmak için susamlar nemlendirilmiştir. Gevrekler nemlendirilmiş beyaz susam ile kaplanmıştır. 3 farklı noktadan ölçüm yapılarak çapın 13 cm olup olmadığı kontrol edilmiştir.



Gevreklerin pişirilmesi: Gevrekler belirli sıcaklık ve belirli sürelerde etüvde pişirilip, oda koşullarında soğuması sağlanır. Soğuyan gevrekler kodlanarak paketlenip, analize kadar -18°C 'da saklanmıştır.



Standardize edilen formülasyonda ve şekilde yapılan gevrekler belirli koşullarda pişirilerek, akrilamid değişimleri incelenmiştir.

3.2.3.1. İzmir gevreklerinin farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilmesi

İzmir gevrekleri 3.2.3.'de anlatıldığı gibi, Çizelge 3.3.'de belirtilen tüm koşullarda 2 paralel olarak pişirilmiştir. İzmir gevrekleri fırınlarda da 8-10 dakika arasında pişirildiğinden, laboratuvar koşullarındaki pişirme sıcaklıkları ve süreleri de Çizelge 3.3.'de gibi belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. İzmir gevreğinin pişirildiği sıcaklık-süre değerleri.

| Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$) | Süre (dakika) | | |
|---------------------------------|---------------|------|------|
| 280 | 8,5 | 10,0 | 11,5 |
| 285 | 8,0 | 9,5 | 11,0 |
| 290 | 7,5 | 9,0 | 10,5 |

3.2.3.2. Pekmez çeşitlerinin ve aynı pekmezin kaynatılmasının İzmir gevreklerinde akrilamid oluşumu üzerine etkileri

İzmir gevreğinin üretildiği fırınların büyük kısmında üzüm pekmezi kullanılmaktadır. Ayrıca, dut pekmezi ve yanık şeker çözeltisinin de kullanıldığı

fırınlar bulunmaktadır. Bu nedenle, üzüm pekmezi, dut pekmezi ve yanık şeker çözeltileri kullanılarak İzmir gevrekleri pişirilmiştir. Fırınlarda hazırlanan pekmez çözeltilerinin bulunduğu kazanlar günde yaklaşık 4 saat kaynatıldığından ve 3 gün aynı pekmez çözeltileri kullanıldığından tez projesinin bu kısmında hem farklı pekmez çözeltilerinin kullanımının hem de bu çözeltilerin farklı sürelerde kaynatılmasının akrilamid oluşumuna etkisi incelenmiştir.

Üzüm pekmezli denemeler: 75 ml üzüm pekmezinin 3 litre suya seyreltilmesi ile hazırlanan pekmez çözeltilisine hazırlanan gevrekler daldırıldıktan sonra, çözelti 4 saat 75°C'da kaynatılmıştır. 4 saatlik sürenin sonunda, hacmi ölçülerek yine saf su ile 3 litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan 2. grup gevrek aynı çözeltiliye daldırılmıştır. Yine, 4 saat kaynatma, hacmin 3 litreye tamamlanması, 3 grup gevreğin daldırılmasının ardından 4. grup gevrek için de aynı işlemler tekrarlanmıştır.

Dut pekmezli denemeler: 75 ml dut pekmezinin 3 litre suya seyreltilmesi ile hazırlanan pekmez çözeltilisine hazırlanan gevrekler daldırıldıktan sonra, çözelti 4 saat 75°C'da kaynatılmıştır. 4 saatlik sürenin sonunda, hacmi ölçülerek yine saf su ile 3 litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan 2. grup gevrek aynı çözeltiliye daldırılmıştır. 3. ve 4. grup gevrekler için de aynı işlemler tekrarlanmıştır.

Yanık şekerli çözeltisi ile yapılan denemeler: Yanık şeker çözeltisi; 100 g toz şekerin beherde bek alevinde yakılarak, 3 litre suda çözülmüştür. Gevrekler daldırıldıktan sonra, çözelti 4 saat 75°C'da kaynatılmıştır. 4 saatlik sürenin sonunda, hacmi ölçülerek yine saf su ile 3 litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan 2. grup gevrek aynı çözeltiliye daldırılmıştır. Yine, 3. ve 4. grup gevrekler için de aynı işlemler tekrarlanmıştır.

3.2.3.3. Akrilamid oluşumunun azaltılmasına yönelik çalışmalar

Akrilamid oluşumunu önleme çalışması kapsamında, hamurun hazırlanmasında kullanılan tuz (NaCl) yerine farklı oranlarda KCl kullanılmıştır. NaCl miktarı %50 ve %25 azaltıldığı durumda yerine azaltılan miktar kadar KCl eklenmiştir. Ayrıca, İzmir gevreği hamuruna akrilamid oluşumunun azaltılması amacı ile (NaCl) yerine MgCl₂ de ilave edilmiştir.

Bu tez çalışmasının deneme planı çizelge 3.4.'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Tez çalışmasının deneme planı.

| Projenin bölümleri | Projenin aşamaları | Yapılan analizler |
|-----------------------|---|---|
| Projenin ilk kısmı | Akrilamid analiz yönteminin geliştirilmesi | -Akrilamid analizi |
| | Geliştirilen yöntemin üretim yerlerinden temin edilecek İzmir gevreği numunelerine uygulanması | |
| | Aynı gevreklerde diğer analizlerin yapılması | -Toplam indigen şeker analizi -HMF analizi -Protein analizi -Nem analizi -pH analizi -Renk parametrelerinin ölçümü |
| Projenin üretim kısmı | Farklı sıcaklık ve süre uygulamalarının akrilamid oluşumu üzerine etkisi | -Akrilamid analizi -Toplam indigen şeker analizi -HMF analizi |
| | Farklı pekmez çeşitleri kullanımının ve bu çözeltilerin farklı sürelerde kaynatılmasının akrilamid oluşumu üzerine etkisi | -Protein analizi -Nem analizi -pH analizi |
| | KCl ve MgCl ₂ kullanımının akrilamid oluşumu üzerine etkisi | -Renk parametrelerinin ölçümü |

3.2.4. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS 16.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler arasında anlamlı bir fark olup olmadığının belirlenebilmesi için varyans analizi (One-way-ANOVA) gerçekleştirilmiştir. Farklılığın derecesini belirlemek için Duncan testi uygulanmıştır. Bu analizlerde %95 güven seviyesi ($P<0,05$) dikkate alınmıştır. Parametreler arasındaki korelasyonun belirlenebilmesi için Pearson korelasyon testi uygulanmıştır. Korelasyon analizinde %95 ve %99 güven seviyeleri ($P<0,05$; $P<0,01$) dikkate alınmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

İzmir gevreklerinde akrilamid düzeyini belirlemek için LC/MS-MS'de pratik, kısa ve kesin bir metod oluşturulmuştur.

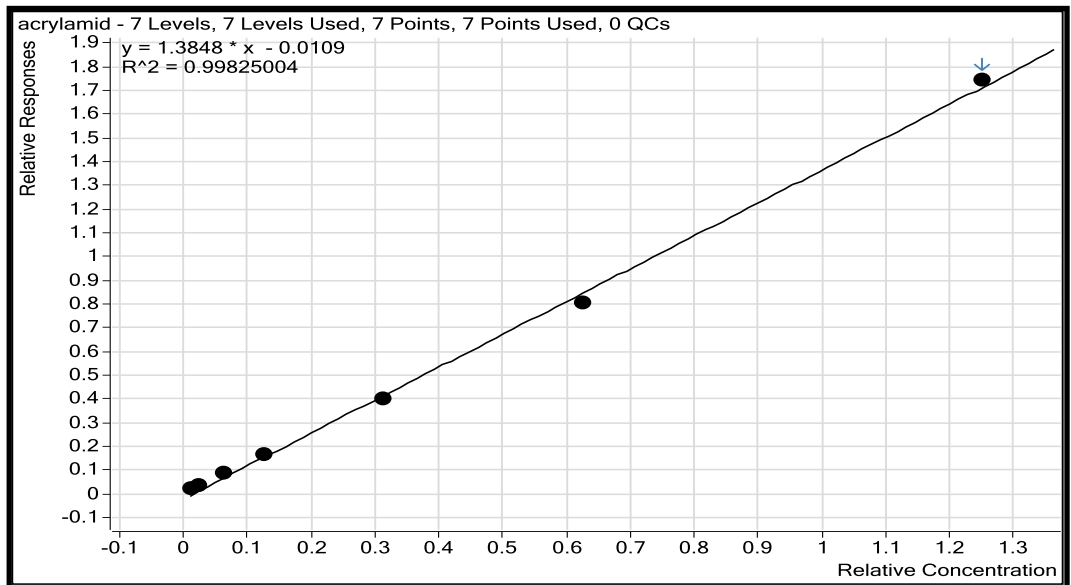
İzmir'de faaliyet gösteren 30 farklı üretim yerinden alınan İzmir gevreği örneklerinde; akrilamid, protein, toplam indirgen şeker, HMF, nem, pH, L^* , a^* , b^* değerleri belirlenmiştir.

Laboratuvar koşullarında pişirilen İzmir gevreklerinin akrilamid, protein, toplam indirgen şeker, HMF, nem, pH, L^* , a^* , b^* değerleri belirlenmiştir. Akrilamid oluşumu ile bu parametreler arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Farklı pişirme parametrelerinin akrilamid oluşumu üzerine etkileri belirlenmiştir.

4.1. LC/MS-MS'de Akrilamid Analiz Yönteminin Validasyonu

İç standart yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada 1, 2, 5, 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/l}$ konsantrasyonlarında akrilamid standartları hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

Kalibrasyon eğrisi, y ekseninde akrilamid standart alanı/akrilamid iç standart alanı, x ekseninde ise akrilamid konsantrasyonu/akrilamid iç standart konsantrasyonu olacak şekilde çizilmiştir ($y = 1,3848x - 0,0109$, $r=0,99825$).



Şekil 4.1. Akrilamid standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon grafiği.

4.1.1. Geri kazanım yüzdesinin belirlenmesi

Oluşturulan yöntemin geri kazanım yüzdesinin belirlenmesi için İzmir gevreği örneklerinde çalışılmış ve geri kazanım değeri %99,66 olarak saptanmıştır. Bu değer literatürdeki çalışmalarda elde edilen geri kazanım değerlerine göre daha yüksek olduğu Çizelge 2.5 ve 2.6'da görülmektedir.

4.1.2. Yöntemin saptama sınırı ve ölçme sınırının belirlenmesi

Akrilamid saptama sınırının belirlenmesi için 10 adet İzmir gevreği örneği alınmış, gevreklerin içi ve kabuğu ayrılarak gevreklerin içi tanık olarak kullanılmıştır. Tanık deney ortalamasının 3 katı saptama sınırı (LOD) olarak, 10 katı da ölçme sınırı (LOQ) olarak hesaplanmıştır. Saptama sınırı (LOD) 1,48 µg/kg, ölçme sınırı (LOQ) 4,93 µg/kg olarak bulunmuştur.

4.1.3. Doğrusallığın Belirlenmesi

Akrilamid kalibrasyon grafiğinin çiziminde yatay eksene bağlı konsantrasyon (akrilamid konsantrasyonunun iç standart konsantrasyonuna oranı), dikey eksene ise bağlı sinyal konmuştur. Oluşturulan kalibrasyon eğrisinden, akrilamidin 750 µg/kg konsantrasyona kadar doğrusal olduğu belirlenmiştir.

4.2. İzmir gevreği analiz sonuçları

İzmir'de faaliyet gösteren 30 adet üretim yerinden alınan İzmir gevreği örneklerinde akrilamid, protein, toplam indirgen şeker, glikoz ve früktoz, HMF, pH, nem, L*, a*, b* analizleri gerçekleştirilmiştir. Akrilamid, pH, nem analizleri üçer paralel, protein, toplam indirgen şeker; glikoz ve früktoz ve HMF analizleri ikişer paralel, L*, a*, b* renk değerleri dört paralel olarak gerçekleştirilmiştir. İzmir gevreği örneklerine ait analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

4.2.1. İzmir gevreği örneklerinde protein

İzmir gevreği örneklerinin protein değerleri %8,71-11,70 arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama protein değeri %10,30 olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin protein değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (P<0,05). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin protein açısından hangi gruba girdiği Çizelge 4.1'de görülmektedir.

Çizelge 4.1. İzmir gevreğinde belirlenen akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve L*, a*, b* değerleri ve standart sapmaları^a.

| Kod No | Akrilamid (µg/kg) | % Protein (w/w) | Früktoz (mg/kg) | Glikoz (mg/kg) | Toplam İndirgen Şeker (mg/kg) | HMF (mg/kg) | % Nem (w/w) | pH | Renk | | |
|--------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | | | | | | | | | L* | a* | b* |
| 1 | 96,73 ^c ±0,20 | 9,28 ^{lm} ±0,03 | 8482 ^f ±1 | 4304 ^c ±1 | 12786 ^c ±1 | 30,51 ⁱ ±0,02 | 23,81 ^l ±0,04 | 5,89 ^{hi} ±0,01 | 61,78 ^l ±0,03 | 9,67 ^q ±0,03 | 29,06 ^{mm} ±0,04 |
| 2 | 76,43 ⁱ ±0,17 | 10,94 ^d ±0,03 | 5757 ^s ±1 | 2419 ^r ±1 | 8176 ^q ±1 | 41,11 ^c ±0,03 | 22,78 ^o ±0,09 | 5,87 ^j ±0,01 | 54,56 ^w ±0,008 | 11,05 ^d ±0,03 | 28,72 ^p ±0,05 |
| 3 | 87,89 ^e ±0,24 | 10,31 ^{ghi} ±0,03 | 6172 ^p ±1 | 2704 ^m ±1 | 8876 ^o ±1 | 16,76 ^r ±0,05 | 25,16 ⁱ ±0,17 | 5,90 ^{hi} ±0,01 | 65,05 ^b ±0,03 | 8,74 ^t ±0,03 | 29,02 ⁿ ±0,04 |
| 4 | 42,02 ^z ±0,17 | 10,46 ^{fgh} ±0,08 | 10091 ^c ±1 | 4007 ^c ±1 | 14098 ^c ±1 | 33,52 ^s ±0,06 | 25,76 ⁱ ±0,04 | 5,96 ^f ±0 | 65,08 ^b ±0,03 | 8,19 ^u ±0,02 | 27,99 ⁱ ±0,03 |
| 5 | 49,72 ^u ±0,10 | 10,37 ^{fghi} ±0,07 | 8036 ^s ±1 | 3173 ^h ±1 | 11203 ^h ±1 | 49,78 ^a ±0,03 | 25,03 ⁱ ±0,14 | 6,00 ^c ±0,1 | 58,14 ^u ±0,02 | 10,34 ⁱ ±0,03 | 29,49 ^k ±0,02 |
| 6 | 79,85 ^g ±0,25 | 10,41 ^{fghi} ±0,04 | 5851 ^q ±1 | 2136 ^s ±1 | 7987 ^r ±1 | 5,78 ^v ±0,03 | 23,51 ^m ±0,20 | 5,98 ^d ±0 | 59,63 ^q ±0,02 | 10,83 ^f ±0,03 | 31,03 ^f ±0,02 |
| 7 | 42,43 ^y ±0,05 | 10,51 ^f ±0,09 | 7135 ^k ±1 | 2908 ^k ±1 | 10043 ^j ±1 | 25,53 ^l ±0,07 | 23,06 ⁿ ±0,20 | 5,85 ^k ±0,01 | 58,70 ^f ±0,02 | 11,22 ^c ±0,02 | 31,01 ^f ±0,04 |
| 8 | 69,69 ^p ±0,16 | 10,25 ^{ij} ±0,17 | 7994 ^h ±1 | 3451 ^s ±1 | 11445 ^s ±1 | 22,37 ⁿ ±0,05 | 25,59 ⁱ ±0,24 | 6,00 ^c ±0 | 62,73 ^e ±0,03 | 9,42 ^r ±0,02 | 29,11 ^m ±0,03 |
| 9 | 48,96 ^x ±0,19 | 10,01 ^k ±0,12 | 8311 ^g ±1 | 3756 ^e ±1 | 12067 ^g ±1 | 34,14 ^f ±0,03 | 23,27 ^{mm} ±0,20 | 5,90 ^h ±0 | 60,62 ^m ±0,03 | 10,47 ^h ±0,03 | 29,97 ^h ±0,05 |
| 10 | 76,86 ⁱ ±0,27 | 8,71 ^o ±0,04 | 20945 ^b ±1 | 13174 ^b ±1 | 34119 ^b ±1 | 31,53 ^h ±0,01 | 22,05 ^p ±0,12 | 5,75 ⁿ ±0,01 | 61,48 ^k ±0,04 | 10,95 ^e ±0,03 | 31,21 ^c ±0,05 |
| 11 | 49,09 ^x ±0,14 | 10,46 ^{fgh} ±0,06 | 6435 ⁿ ±1 | 3051 ^j ±1 | 9486 ^m ±1 | 21,98 ^o ±0,04 | 27,62 ^d ±0,10 | 5,50 ^q ±0,01 | 60,24 ^o ±0,03 | 10,26 ^j ±0,04 | 29,82 ⁱ ±0,06 |
| 12 | 49,49 ^{uv} ±0,11 | 11,00 ^{cd} ±0,05 | 4265 ^w ±1 | 2616 ⁿ ±1 | 6881 ^t ±1 | 30,33 ^j ±0,02 | 27,21 ^e ±0,09 | 5,78 ^m ±0,01 | 58,27 ⁱ ±0,02 | 10,52 ^s ±0,03 | 29,38 ^l ±0,05 |
| 13 | 120,21 ^a ±0,26 | 9,42 ^l ±0,02 | 7735 ⁱ ±1 | 2748 ^l ±1 | 10483 ⁱ ±1 | 19,17 ^p ±0,02 | 20,20 ^q ±0,04 | 6,00 ^c ±0,01 | 51,12 ^z ±0,02 | 11,93 ^a ±0,02 | 32,34 ^a ±0,02 |
| 14 | 59,13 ^p ±0,07 | 9,14 ^{mm} ±0,03 | 6323 ^o ±1 | 2474 ^o ±1 | 8797 ^p ±1 | 3,76 ^v ±0,02 | 28,97 ^a ±0,07 | 6,84 ^a ±0,01 | 66,64 ^a ±0,03 | 7,68 ^v ±0,05 | 26,82 ^z ±0,05 |
| 15 | 76,82 ⁱ ±0,18 | 10,51 ^l ±0,01 | 8774 ^d ±1 | 3623 ^g ±1 | 12397 ^f ±1 | 38,53 ^d ±0,03 | 23,76 ^l ±0,14 | 5,92 ^s ±0 | 60,22 ^o ±0,04 | 10,18 ^k ±0,06 | 28,88 ^o ±0,07 |

Çizelge 4.1. İzmir gevreğinde belirlenen akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve L*, a*, b* değerleri ve standart sapmaları^a (Devamı).

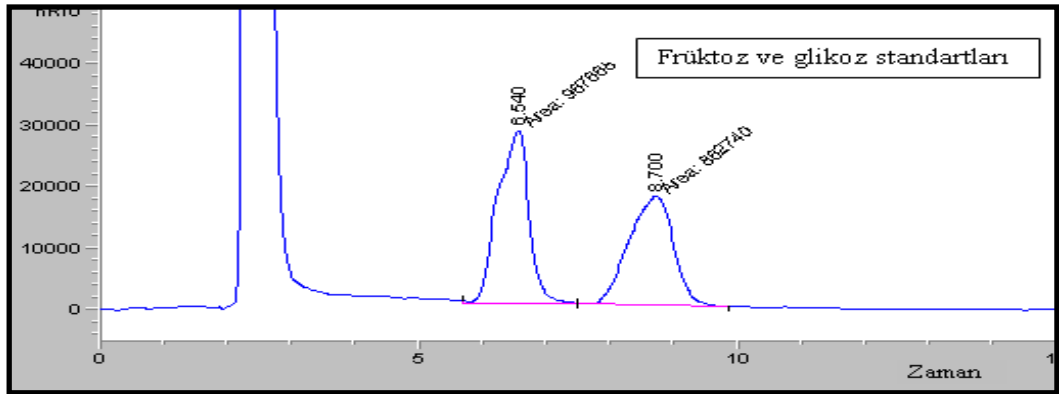
| Kod No | Akrilamid (µg/kg) | % Protein (w/w) | Früktoz (mg/kg) | Glikoz (mg/kg) | Toplam İndirgen Şeker (mg/kg) | HMF (mg/kg) | % Nem (w/w) | pH | Renk | | |
|--------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | | | | | | | L* | a* | b* |
| 16 | 54,33 ^t ±0,26 | 10,50 ^{fg} ±0,06 | 5109 ^s ±1 | 2424 ^p ±1 | 7533 ^s ±1 | 10,80 ^t ±0,03 | 27,85 ^{cd} ±0,04 | 5,47 ^r ±0,01 | 59,99 ^p ±0,03 | 10,01 ^{mn} ±0,04 | 29,61 ^j ±0,07 |
| 17 | 80,97 ^f ±0,32 | 8,99 ⁿ ±0,002 | 6602 ^m ±1 | 3123 ⁱ ±1 | 9725 ^k ±1 | 30,53 ⁱ ±0,02 | 24,08 ^k ±0,17 | 5,92 ^g ±0,01 | 63,54 ^c ±0,05 | 10,03 ^m ±0,03 | 28,30 ^s ±0,02 |
| 18 | 80,15 ^g ±0,27 | 11,70 ^a ±0,03 | 4342 ^v ±1 | 1267 ^z ±1 | 5609 ^w ±1 | 26,85 ^k ±0,03 | 23,39 ^m ±0,10 | 5,86 ⁱ ±0,01 | 56,28 ^v ±0,04 | 9,89 ^o ±0,01 | 27,09 ^y ±0,04 |
| 19 | 74,57 ^k ±0,16 | 11,13 ^c ±0,07 | 8894 ^e ±1 | 3815 ^d ±1 | 12709 ^d ±1 | 45,37 ^b ±0,04 | 26,02 ^h ±0,05 | 6,02 ^b ±0 | 60,45 ⁿ ±0,04 | 10,03 ^{mn} ±0,02 | 29,96 ^h ±0,04 |
| 20 | 54,71 ^s ±0,17 | 10,41 ^{fghi} ±0,05 | 3786 ^x ±1 | 1813 ^t ±1 | 5599 ^x ±1 | 13,59 ^s ±0,04 | 25,81 ^{hi} ±0,06 | 5,89 ⁱ ±0 | 60,92 ^l ±0,09 | 9,46 ^r ±0,10 | 28,43 ^r ±0,07 |
| 21 | 119,33 ^b ±0,25 | 9,41 ^l ±0,01 | 32026 ^a ±1 | 25197 ^a ±1 | 57223 ^a ±1 | 15,85 ^s ±0,03 | 22,67 ^o ±0,09 | 5,80 ^l ±0 | 51,23 ^y ±0,02 | 11,76 ^b ±0,02 | 32,08 ^b ±0,02 |
| 22 | 54,51 st ±0,10 | 10,28 ^{hi} ±0,02 | 4498 ^u ±1 | 1600 ^u ±1 | 6098 ^v ±1 | 25,60 ^l ±0,03 | 24,27 ^k ±0,21 | 5,90 ^h ±0 | 58,60 ^s ±0,02 | 10,51 ^{gh} ±0,02 | 29,05 ^{mn} ±0,02 |
| 23 | 49,10 ^x ±0,08 | 11,03 ^{cd} ±0,03 | 4783 ^u ±1 | 1714 ^u ±1 | 6497 ^u ±1 | 32,26 ^g ±0,03 | 28,05 ^c ±0,17 | 6,00 ^c ±0 | 63,35 ^d ±0,07 | 8,97 ^s ±0,03 | 28,61 ^q ±0,06 |
| 24 | 92,52 ^d ±0,17 | 10,45 ^{fgh} ±0,02 | 8704 ^e ±1 | 3730 ^f ±1 | 12434 ^e ±1 | 43,79 ^c ±0,03 | 26,91 ^f ±0,10 | 5,75 ⁿ ±0,01 | 62,37 ^f ±0,01 | 9,79 ^p ±0,01 | 31,44 ^d ±0,01 |
| 25 | 62,72 ⁿ ±0,24 | 10,48 ^{fg} ±0,06 | 3257 ^y ±1 | 1486 ^w ±1 | 4743 ^y ±1 | 38,06 ^e ±0,03 | 22,80 ^o ±0,25 | 5,70 ^o ±0,01 | 62,17 ^h ±0,01 | 10,13 ^l ±0,01 | 29,48 ^k ±0,03 |
| 26 | 58,35 ^f ±0,22 | 10,76 ^e ±0,15 | 2299 ^z ±1 | 1416 ^x ±1 | 3715 ^z ±1 | 6,90 ^u ±0,03 | 23,14 ⁿ ±0,16 | 5,63 ^p ±0 | 52,36 ^x ±0,03 | 10,22 ^{jk} ±0,02 | 31,55 ^c ±0,04 |
| 27 | 49,17 ^{vx} ±0,04 | 10,09 ^{jk} ±0,04 | 5823 ^f ±1 | 1592 ^u ±1 | 7415 ^s ±1 | 18,37 ^q ±0,03 | 28,36 ^b ±0,05 | 5,97 ^e ±0 | 61,91 ⁱ ±0,04 | 9,42 ^r ±0,02 | 27,73 ^v ±0,06 |
| 28 | 59,93 ^o ±0,17 | 10,42 ^{fghi} ±0,02 | 6964 ^l ±1 | 1927 ^s ±1 | 8891 ⁿ ±1 | 23,43 ^m ±0,04 | 26,27 ^g ±0,15 | 5,90 ^h ±0 | 62,28 ^g ±0,04 | 10,00 ⁿ ±0,03 | 29,80 ^j ±0,04 |
| 29 | 64,73 ^m ±0,17 | 11,38 ^b ±0,05 | 4912 ⁱ ±1 | 1335 ^y ±1 | 6247 ^u ±1 | 5,62 ^w ±0,03 | 26,33 ^g ±0,20 | 6,02 ^b ±0 | 60,44 ⁿ ±0,03 | 10,78 ^f ±0,04 | 30,62 ^g ±0,02 |
| 30 | 78,57 ^h ±0,22 | 10,25 ^{ij} ±0,15 | 7160 ⁱ ±1 | 2422 ^q ±1 | 9582 ^l ±1 | 2,34 ^z ±0,02 | 26,71 ^f ±0,17 | 5,98 ^d ±0,01 | 63,36 ^d ±0,06 | 10,80 ^f ±0,02 | 27,87 ^u ±0,02 |

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

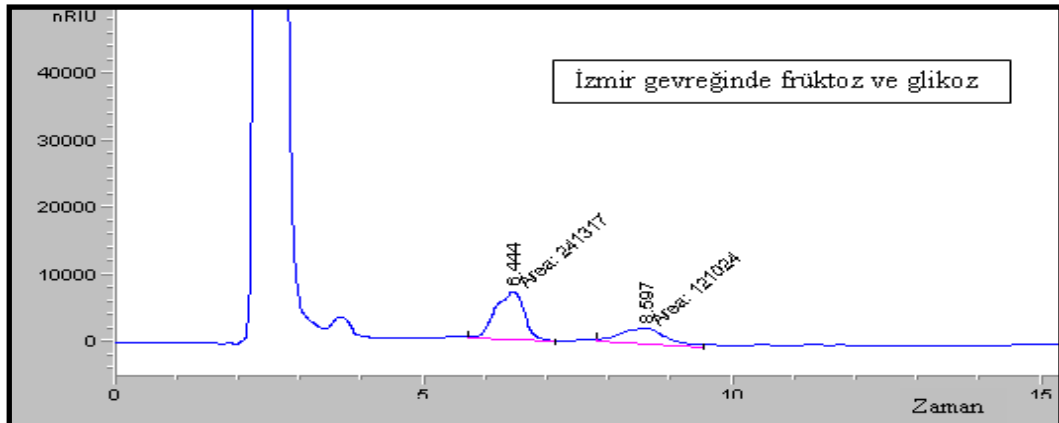
4.2.2. İzmir gevreği örneklerinde toplam indirgen şeker

İzmir gevreği örneklerinin früktoz değerleri 2299-32026 mg/kg arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama früktoz değeri 7715 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin früktoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$).

İzmir gevreği örneklerinin glikoz değerleri 1267-25197 mg/kg arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama glikoz değeri 3713 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin glikoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Glikoz ve früktoz standartlarına ait kromatogram şekil 4.2.'de, İzmir gevreği örneğindeki glikoz ve früktoz piklerine ait kromatogram şekil 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.2. Früktoz ve Glikoz standartlarına ait HPLC kromatogramı.

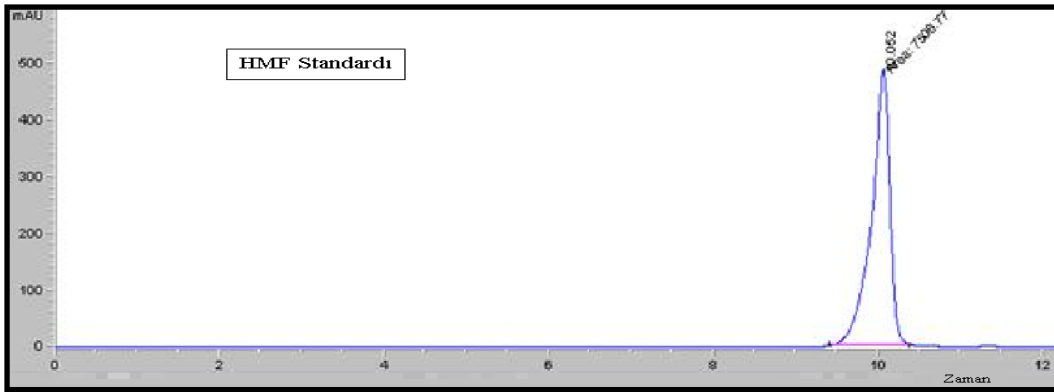


Şekil 4.3. 8 kod numaralı gevreğe ait toplam indirgen şeker kromatogramı.

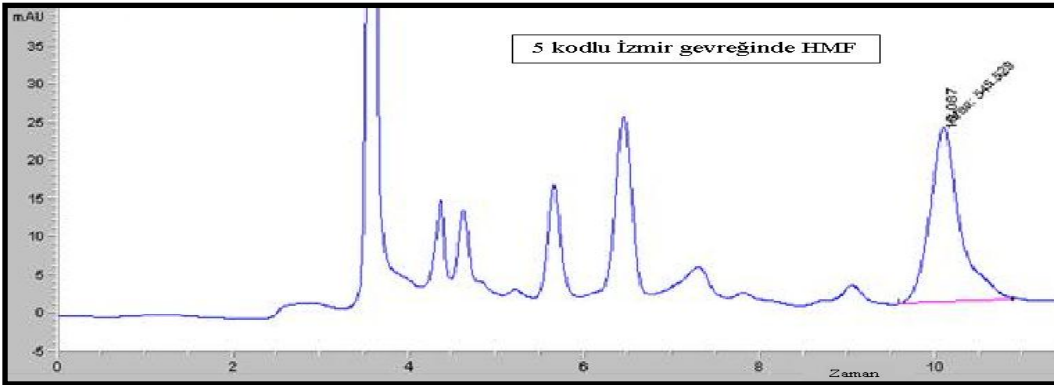
İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker değerleri 3715-57223 mg/kg arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama toplam indirgen şeker değeri 11429 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker açısından hangi gruba girdiği Çizelge 4.1’de görülmektedir.

4.2.3. İzmir gevreği örneklerinde HMF

İzmir gevreği örneklerinin HMF değerleri 2,34-49,78 mg/kg arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama HMF değeri 24,81 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin HMF değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin HMF açısından hangi gruba girdiği Çizelge 4.1’de görülmektedir. HMF standardına ait kromatogram şekil 4.4.’de, İzmir gevreği örneğindeki HMF pikine ait kromatogram şekil 4.5’de görülmektedir.



Şekil 4.4. HMF standardına ait HPLC kromatogramı.



Şekil 4.5. İzmir gevreği numunesine ait HMF kromatogramı.

4.2.4. İzmir gevreği örneklerinde nem

İzmir gevreği örneklerinin nem değerleri %20,2-28,97 arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama nem değeri %25,01 olarak hesaplanmıştır.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin nem değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin nem açısından hangi gruba girdiği Çizelge 4.1.'de görülmektedir.

4.2.5. İzmir gevreği örneklerinde renk parametreleri

İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri 51,12-66,64 arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama L^* değerleri 60,12 olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

İzmir gevreği örneklerinin a^* değerleri 7,68-11,93 arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama a^* değerleri 10,11 olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin a^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

İzmir gevreği örneklerinin b^* değerleri 26,82-32,34 arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama b^* değerleri 29,52 olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin b^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin L^* , a^* , b^* açısından hangi gruba girdiği Çizelge 4.1.'de görülmektedir.

4.2.6. İzmir gevreği örneklerinde pH

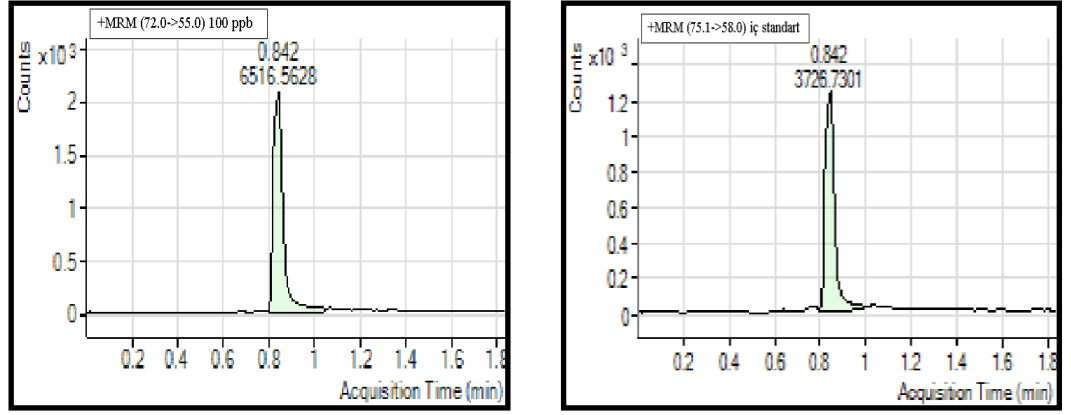
İzmir gevreği örneklerinin pH değerleri 5,47-6,84 arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama pH'sı 5,90 olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin pH açısından hangi gruba girdiği Çizelge 4.1.'de görülmektedir.

4.2.7. İzmir gevreği örneklerinde akrilamid

İzmir'deki üreticilerden alınan 30 farklı İzmir gevreği örneğinde 3 paralel olarak akrilamid analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda her bir örneğin akrilamid içeriği $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1.'de görülmektedir. Akrilamid standardına ve iç standardına ait kromatogramlar Şekil 4.6.'da; G13, G14 kodlu İzmir gevreklerine ait kromatogramlar ise Şekil 4.7., Şekil 4.8.'de görülmektedir.

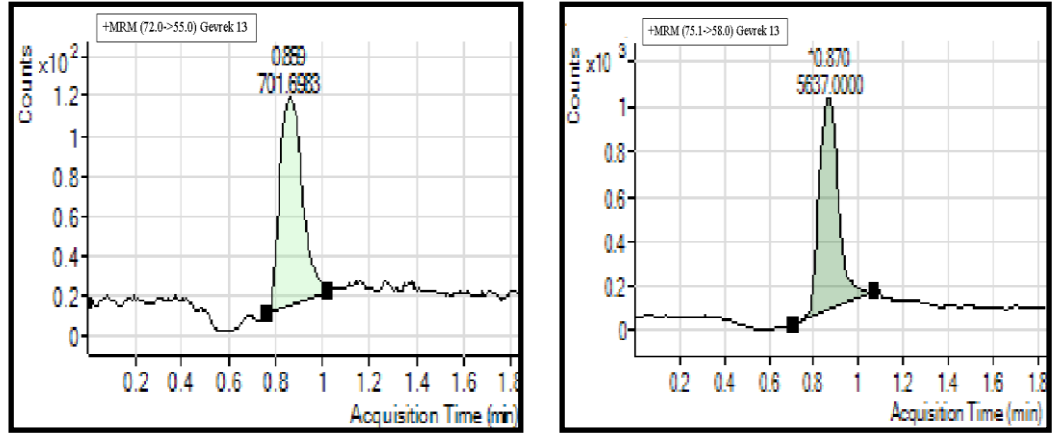
İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerleri 42,02-120,21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin ortalama akrilamid miktarı 68,63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak hesaplanmıştır.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin akrilamid açısından hangi gruba girdiği Çizelge 4.1.'de görülmektedir.

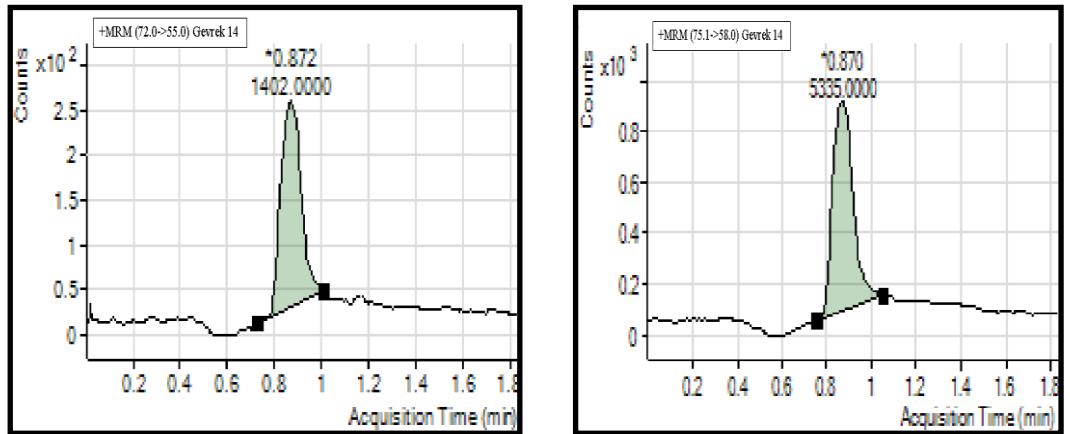


Şekil 4.6. Akrilamid standardı ve D₃ Akrilamide ait LC-MS/MS kromatogramı.

Şekil 4.6'da solda I. quadrupolde elde edilen 72,0 kütleli parçacığın II. quadrupolde verdiği 55,0 kütleli parçalanma ürününün ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}=\text{O}$) piki, sağda ise D₃ akrilamid için 75,1 kütleli ana parçacıktan oluşan 58,0 kütleli parçacığın ($\text{CD}_2=\text{CD}-\text{C}=\text{O}$) piki görülmektedir.



Şekil 4.7. 13 Kod Numaralı İzmir gevreğine ait LC-MS/MS kromatogram.



Şekil 4.8. 14 Kod Numaralı İzmir gevreğine ait LC-MS/MS kromatogram.

Akrilamid konsantrasyonu ile örneklerin protein, toplam indirgen şeker, HMF, nem, pH ve renk değerleri arasında korelasyonlar Pearson korelasyon testi ile araştırılmıştır.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile protein değerleri arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r= -0,367$) bulunmuştur. Yani örneklerden % protein değeri fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu düşük bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile früktoz konsantrasyonları arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,492$) bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile glikoz konsantrasyonları arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,485$) bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile toplam indirgen şeker konsantrasyonları arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,491$) bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile HMF konsantrasyonları arasında ve yine akrilamid konsantrasyonu ile pH değerleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır ($P>0,05$; $P>0,01$).

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile nem değerleri arasında, negatif yönde anlamlı korelasyon ($P<0,01$, $r=-0,499$) bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile L^* değerleri arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=-0,372$) bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile a^* değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=0,388$) bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile b^* değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=0,381$) bulunmuştur.

Akrilamid ve renk arasında elde edilen korelasyonlara benzer sonuçlar, Viklund et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Viklund et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada 180°C 'da 2-4,5 dk arasında değişen sürelerde kızartılmış patateslerin renk değerleri ile akrilamid konsantrasyonu arasında korelasyon incelendiğinde; akrilamid ile L^* arasında negatif yönde ($P<0,05$, $r =-0,92$), a^* ile pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r = 0,90$), b^* ile pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r = 0,92$) bulunmuştur.

Akrilamid ve nem miktarı arasında negatif yönde ($P<0,05$, $r = -0,96$) anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. Benzer şekilde, Özkaynak (2006) tarafından yapılan çalışmada kızartılarak pişirilen sigara böreklerinde akrilamid oluşumu ile L^* (aydınlık) değerleri arasında negatif yönde korelasyon bulunduğu ifade edilmektedir. Purlis (2010) tarafından yapılan çalışmada da unlu mamullerde akrilamid oluşumu ile renk gelişimi arasında yüksek korelasyon olduğu belirtilmiştir. Gökmen et al. (2008b) tarafından yapılan çalışmada da kurabiyelerde akrilamid içeriği ve kahverengileşme oranı arasındaki ilişki araştırılmıştır. 200 ve 220°C'a, 4 farklı tarife (sodyum bikarbonat, amonyum bikarbonat nicelikleri açısından) göre, 4 farklı sürede (10, 15, 20 ve 25 dakika) pişirilen kurabiyelerde, akrilamid oluşumu ile Matlab programında hesaplanan kahverengileşme oranı arasında ($r=0,946$, $p<0,01$) anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Ayrıca, %8'den az kahverengileşme oranı olduğunda, akrilamidin LC-MS'de saptama sınırının altında olduğu saptanmıştır. Vinci et al. (2010) patates kızartmasında yaptıkları çalışmada akrilamid konsantrasyonu ile L^* arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r = -0,59$), a^* arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r = 0,80$), b^* arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r = -0,22$) bulmuşlardır. Şenyuva and Gökmen (2005b) tarafından yapılan çalışmada da kahvenin kavrulmasında akrilamid oluşumu ile a^* değerleri arasında pozitif korelasyon saptandığı ifade edilmektedir.

İzmir gevreklerinde akrilamid ile glikoz, früktoz değerleri arasında elde edilen korelasyonlara benzer sonuçlar, Curtis et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Curtis et al. (2010) farklı ülkelerde 2005 ve 2007 yılları arasında hasat edilen pirinçlerden elde edilen pirinç ununa 180°C'da 20 dk ısı işlem uygulamışlar ve asparagin ile akrilamid arasında yüksek pozitif korelasyon ($r = 0,958$, $P<0,001$), akrilamid ve toplam şeker arasında yüksek pozitif korelasyon ($r = 0,838$, $P=0,001$), akrilamid ve früktoz arasında pozitif korelasyon ($r= 0,672$, $P=0,024$) bulmuşlardır. Benzer sonuçlar, Vinci et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Akrilamid ile früktoz konsantrasyonu arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r = 0,83$), glikoz konsantrasyonu arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r = 0,65$) bulmuşlardır. İzmir gevreklerinde akrilamid ile nem değerleri arasında elde edilen korelasyonlara benzer sonuçlar, Sadd et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Sadd et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada, ekmek ve bisküvilerde nemin artması ile akrilamid oluşumunun azaldığı tespit edilmiştir. Ancak, Curtis et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada; 180°C'da 20

dakika pişirilen pirinç ununda nem düzeyleri ile akrilamid oluşumu arasında korelasyon bulunamamıştır.

4.3. Pişirme Koşullarının Akrilamid Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesi

Bu kısım; farklı sıcaklık-süre uygulamalarının akrilamid oluşumuna etkisi, kullanılan pekmez çözeltilerinin farklı sürelerde kaynatılmasının akrilamid oluşumuna etkisi ve potasyum klorür, magnezyum klorür kullanımının akrilamid oluşumunun önlenmesi üzerine etkisi olmak üzere 3 kısımdan oluşmaktadır.

4.3.1. Laboratuvarda farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreklerinde yapılan analizlerin sonuçları

Üç farklı sıcaklık ve 3 farklı sürede İzmir gevrekleri laboratuvar koşullarında etüvde pişirilmiştir. Bu gevreklerde akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve renk analizleri yapılmıştır.

4.3.1.1. Laboratuvarda farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinde akrilamid

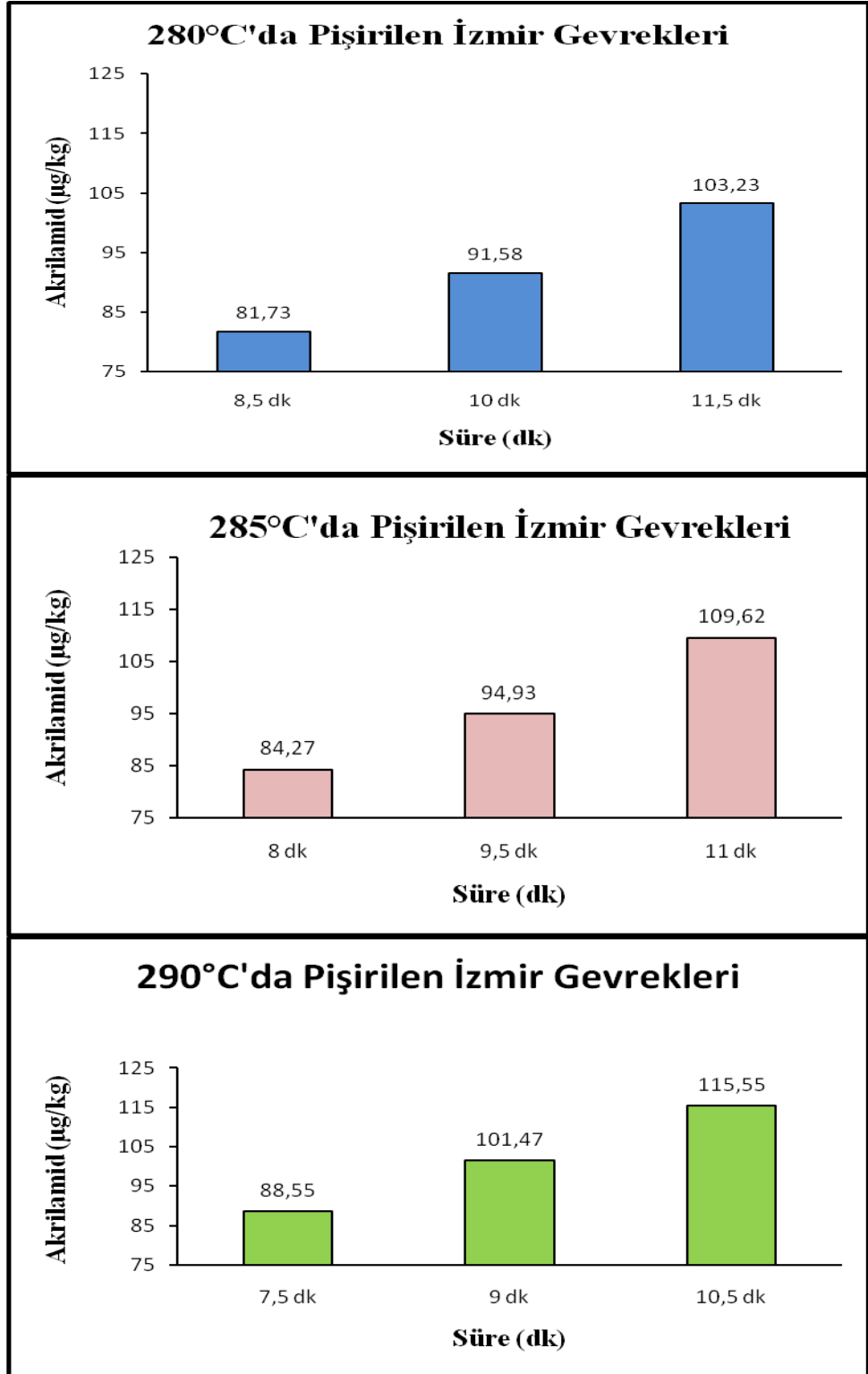
Üç farklı sıcaklık ve sürede pişirilen gevrekler için akrilamid değerleri Çizelge 4.2’de görülmektedir. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerleri 81,73-115,55 µg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (P<0,05). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin akrilamid açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3’de görülmektedir. Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında akrilamid değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05).

Çizelge 4.2. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları^a.

| Kod No | Pişirme Koşulu | Akrilamid (µg/kg) |
|--------|---------------------|----------------------------|
| 1 | 280°C / 8,5 dakika | 81,73 ⁱ ± 0,27 |
| 2 | 280°C / 10,0 dakika | 91,58 ⁱ ± 0,21 |
| 3 | 280°C / 11,5 dakika | 103,23 ^c ± 0,21 |
| 4 | 285°C / 8,0 dakika | 84,27 ^h ± 0,26 |
| 5 | 285°C / 9,5 dakika | 94,93 ^e ± 0,23 |
| 6 | 285°C / 11,0 dakika | 109,62 ^b ± 0,19 |
| 7 | 290°C / 7,5 dakika | 88,55 ^g ± 0,22 |
| 8 | 290°C / 9,0 dakika | 101,47 ^d ± 0,19 |
| 9 | 290°C / 10,5 dakika | 115,55 ^a ± 0,09 |

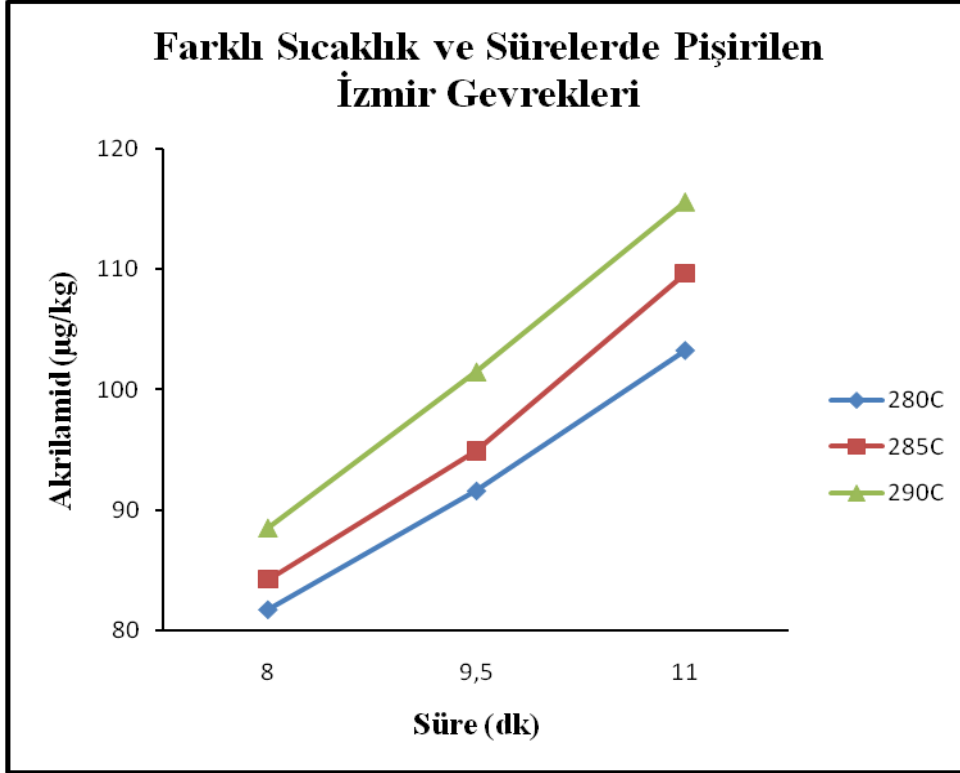
^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

280°C, 285°C ve 290°C'da farklı sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin ortalama akrilamid içerikleri Şekil 4.9.'da görülmektedir.



Şekil 4.9. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevrekleri a) 280°C'da b) 285°C'da, c) 290°C'da.

Şekil 4.10'da farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreklerinin akrilamid değerlerinin pişirmesıcaklığı ve süresinin artması ile arttığı görülmektedir.



Şekil 4.10. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevrekleri.

4.3.1.2. Laboratuvarda farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinde protein

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin protein değerleri %10,69-11,64 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin protein değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin protein açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3'de görülmektedir.

Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında protein değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0,05$).

Çizelge 4.3.Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve L^{*}, a^{*}, b^{*} değerleri ve standart sapmaları^a.

| Kod No | Akrilamid (µg/kg) | % Protein (w/w) | Früktoz (mg/kg) | Glikoz (mg/kg) | Toplam İndirgen Şeker (mg/kg) | HMF (mg/kg) | Nem (w/w) | pH | Renk | | |
|--------|---------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | | | | | | | L [*] | a [*] | b [*] |
| 1 | 81,73 ¹ ±0,27 | 10,73 ^c ±0,11 | 2581 ^c ±1 | 2898 ^a ±1 | 5479 ^b ±1 | 3,94 ⁱ ±0,03 | 26,97 ^{ab} ±0,53 | 5,81 ^d ±0,01 | 57,50 ^b ±0,05 | 11,28 ¹ ±0,04 | 30,70 ^d ±0,04 |
| 2 | 91,58 ^f ±0,21 | 11,17 ^c ±0,08 | 1752 ^g ±1 | 2313 ^c ±3 | 4065 ^f ±3 | 8,49 ^f ± 0,02 | 24,55 ^d ±0,35 | 5,83 ^c ±0,01 | 52,28 ^e ±0,08 | 12,48 ^e ±0,09 | 30,97 ^c ±0,24 |
| 3 | 103,23 ^c ±0,21 | 11,64 ^a ±0,07 | 1513 ^h ±1 | 1092 ^h ±1 | 2605 ^h ±1 | 16,44 ^c ±0,01 | 21,87 ¹ ±0,24 | 5,84 ^c ±0,01 | 46,39 ^g ±0,02 | 13,09 ^c ±0,06 | 29,74 ¹ ±0,09 |
| 4 | 84,27 ^h ±0,26 | 10,74 ^c ±0,16 | 3321 ^a ±1 | 2614 ^b ±3 | 5935 ^a ±3 | 5,40 ^h ± 0,02 | 27,38 ^a ±0,15 | 5,88 ^a ±0 | 58,66 ^a ±0,03 | 11,66 ^h ±0,01 | 31,98 ^a ±0,06 |
| 5 | 94,93 ^e ±0,23 | 11,01 ^b ±0,04 | 2509 ^d ±1 | 2130 ^c ±2 | 4639 ^d ±2 | 9,57 ^e ±0,01 | 26,52 ^b ±0,34 | 5,87 ^a ±0 | 52,60 ^d ±0,01 | 12,01 ^f ±0,03 | 30,06 ^e ±0,07 |
| 6 | 109,62 ^b ±0,19 | 11,57 ^a ±0,09 | 2079 ^f ±1 | 1717 ^g ±2 | 3796 ^g ±2 | 26,07 ^b ±0,02 | 22,24 ^{ef} ±0,24 | 5,85 ^b ±0,01 | 43,59 ^h ±0,03 | 13,43 ^b ±0,04 | 29,00 ^h ±0,06 |
| 7 | 88,55 ^g ±0,22 | 10,69 ^c ±0,04 | 2783 ^b ±2 | 2156 ^d ±3 | 4939 ^c ±3 | 6,76 ^g ±0,04 | 27,10 ^{ab} ±0,22 | 5,85 ^b ±0,01 | 56,66 ^c ±0,01 | 11,84 ^g ±0,06 | 31,44 ^b ±0,03 |
| 8 | 101,47 ^d ±0,19 | 11,11 ^b ±0,09 | 2457 ^e ±2 | 1927 ^f ±2 | 4384 ^c ±2 | 10,93 ^d ±0,03 | 25,21 ^c ±0,05 | 5,85 ^b ±0,01 | 48,25 ^f ±0,03 | 12,67 ^d ±0,03 | 29,23 ^g ±0,10 |
| 9 | 115,55 ^a ±0,09 | 11,47 ^a ±0,09 | 1468 ¹ ±2 | 1078 ¹ ±1 | 2546 ¹ ±2 | 28,08 ^a ± 0,03 | 22,65 ^e ±0,48 | 5,85 ^b ±0,01 | 43,31 ¹ ±0,03 | 13,60 ^a ±0,05 | 29,07 ^h ±0,07 |

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

4.3.1.3. Laboratuvarında farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinde toplam indirgen şeker

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin früktoz değerleri 1468-3321 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin früktoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında früktoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin früktoz açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3'de görülmektedir.

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin glikoz değerleri 1078-2898 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin glikoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında glikoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin glikoz açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3'de görülmektedir.

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker değerleri 2546-5935 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında toplam indirgen şeker değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3'de görülmektedir.

Çizelge 4.3.'de 3, 6 ve 9 numaralı İzmir gevreği örneklerinin früktoz, glikoz ve toplam indirgen şekerlerine ait değerlerdeki azalmanın akrilamid oluşumu sırasında früktoz, glikoz ve indirgen şekerin harcanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.1.4. Laboratuvarında farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinde HMF

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin HMF değerleri 3,94-28,08 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz

sonucunda İzmir gevreği örneklerinin HMF değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında HMF değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin HMF açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3’de görülmektedir.

4.3.1.5. Laboratuvarda farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinde nem

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin nem değerleri %21,87-%27,38 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin nem değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında nem değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin nem açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3’de görülmektedir.

4.3.1.6. Laboratuvarda farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinde pH

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin pH değerleri 5,81-5,88 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin pH açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3’de görülmektedir. 3 sıcaklık grubu arasında da pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$).

4.3.1.7. Laboratuvarda farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinde renk parametreleri

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri 43,31- 58,66 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında L^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3’de görülmektedir.

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin a* değerleri 11,28-13,60 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin a* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında a* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin a* değerleri açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3'de görülmektedir.

Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevreği örneklerinin b* değerleri 29,00- 31,98 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin b* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, 3 sıcaklık grubu arasında b* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin b* değerleri açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.3'de görülmektedir.

Akrilamid konsantrasyonu ile örneklerin protein, toplam indirgen şeker, HMF, nem, pH ve renk değerleri arasında korelasyonlar Pearson korelasyon testi ile araştırılmıştır.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile protein değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r= 0,873$) bulunmuştur. Yani örneklerden % protein değeri fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu da yüksek bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile früktoz konsantrasyonları arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=-0,723$) bulunmuştur. Yani örneklerden früktoz konsantrasyonu fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu düşük bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile glikoz konsantrasyonları arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=-0,900$) bulunmuştur. Yani örneklerden glikoz konsantrasyonu az olanın, akrilamid konsantrasyonu yüksek bulunmuştur. Çünkü, glikoz akrilamaid oluşumu sırasında harcanmıştır.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile toplam indirgen şeker konsantrasyonları arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=-0,865$) bulunmuştur. Yani örneklerden toplam indirgen şeker konsantrasyonu fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu düşük bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile HMF konsantrasyonları arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,952$) bulunmuştur. Yani örneklerden HMF konsantrasyonu fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu yüksek bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile nem konsantrasyonları arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=-0,860$) bulunmuştur. Yani örneklerden nem konsantrasyonu fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu düşük bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile pH değerleri arasında korelasyon ($P>0,01$ $P>0,05$) bulunamamıştır.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile L^* değerleri arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=-0,975$) bulunmuştur. Yani örneklerden L^* değerleri fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu düşük bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile a^* değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,966$) bulunmuştur. Yani örneklerden a^* değerleri fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu da yüksek bulunmuştur.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile b^* değerleri arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=-0,879$) bulunmuştur. Yani örneklerden b^* değerleri fazla olanın, akrilamid konsantrasyonu düşük bulunmuştur.

4.3.2. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen gevreklerin analiz sonuçları

4.3.1.'de elde edilen bulgular doğrultusunda 290°C 'da 9 dk sabit tutulmuştur. İzmir gevrekleri farklı sürelerde kaynatılan üzüm pekmezi, dut pekmezi ve yanık şeker çözeltilerine daldırıldıktan sonra etüvde pişirilmiştir. İzmir gevreklerinde protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve renk parametreleri (L^* , a^* , b^*) analizleri yapılmıştır.

4.3.2.1. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerleri 72,20-120,60 µg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin akrilamid açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.4’de görülmektedir.

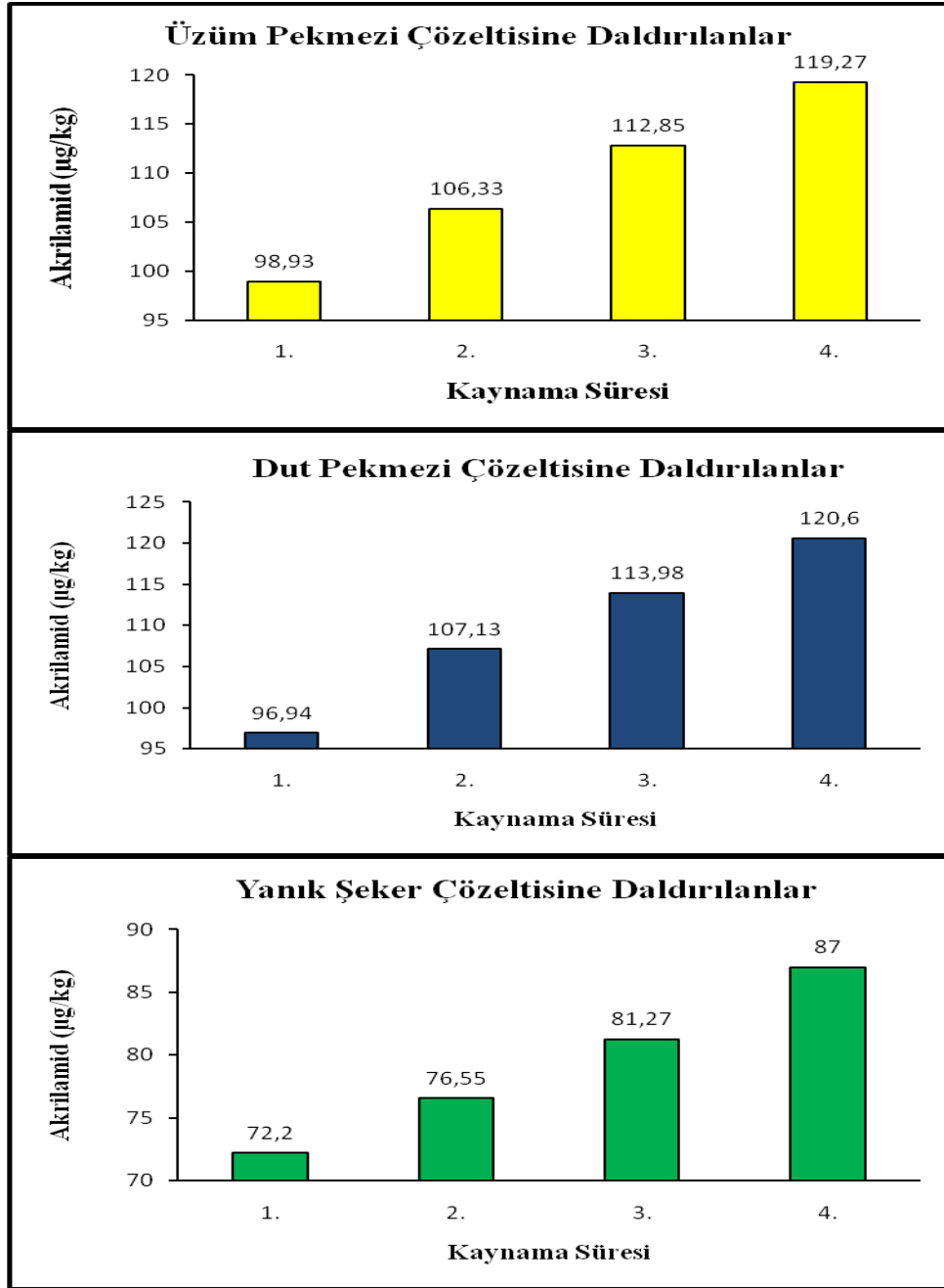
Pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında; akrilamid değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre üzüm pekmezi ve dut pekmezi çözeltilerinde pişirilen İzmir gevreklerinin akrilamid değerleri arasında farklılık bulunmazken, yanık şeker çözeltilerinde pişirilen İzmir gevreklerinin akrilamid değerleri diğerlerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Duncan testi sonuçlarına göre pekmez çeşitlerine ait gruplar açısından İzmir gevreği örneklerinin akrilamid açısından hangi gruba girdiği büyük harflerle yazılarak, Çizelge 4.4’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırılarak pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları^a.

| Pekmez Çeşidi | Kod No | Kaynatma Süresi | Akrilamid (µg/kg) |
|---|--------|----------------------------------|-----------------------------|
| Üzüm pekmezi çözeltileri kullanılarak pişirilen gevreklerin akrilamid değerleri (µg/kg) | 1 | 1. Pişirme (Kaynatılmamış) | 98,93 ^{Ag} ± 0,15 |
| | 2 | 2. Pişirme (4 saatlik kaynatma) | 106,33 ^{Af} ± 0,18 |
| | 3 | 3. Pişirme (8 saatlik kaynatma) | 112,85 ^{Ad} ± 0,21 |
| | 4 | 4. Pişirme (12 saatlik kaynatma) | 119,27 ^{Ab} ± 0,20 |
| Dut pekmezi çözeltileri kullanılarak pişirilen gevreklerin akrilamid değerleri (µg/kg) | 5 | 1. Pişirme (Kaynatılmamış) | 96,94 ^{Ah} ± 0,19 |
| | 6 | 2. Pişirme (4 saatlik kaynatma) | 107,13 ^{Ae} ± 0,30 |
| | 7 | 3. Pişirme (8 saatlik kaynatma) | 113,98 ^{Ac} ± 0,25 |
| | 8 | 4. Pişirme (12 saatlik kaynatma) | 120,60 ^{Aa} ± 0,18 |
| Yanık şeker çözeltileri kullanılarak pişirilen gevreklerin akrilamid değerleri (µg/kg) | 9 | 1. Pişirme (Kaynatılmamış) | 72,20 ^{Bl} ± 0,10 |
| | 10 | 2. Pişirme (4 saatlik kaynatma) | 76,55 ^{Bk} ± 0,24 |
| | 11 | 3. Pişirme (8 saatlik kaynatma) | 81,27 ^{Bj} ± 0,23 |
| | 12 | 4. Pişirme (12 saatlik kaynatma) | 87,00 ^{Bi} ± 0,19 |

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir. Büyük harfler pekmez çözeltileri arasındaki farklılıkları, küçük harfler ise tüm gevrekler arasındaki farklılıkları göstermektedir.

Farklı sürelerde kaynatılan üzüm pekmezi, dut pekmezi çözeltisi ve yanık şeker çözeltilerine daldırılarak 290°C’da 9 dakika pişirilen İzmir gevreği örneklerinin ortalama akrilamid içerikleri Şekil 4.11.’de görülmektedir.



Şekil 4.11. Farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevrekleri a) Üzüm pekmezi çözeltisi b) Dut pekmezi çözeltisi c) Yanık şeker çözeltisi. (1: 0 saat, 2: 4 saat, 3: 8 saat, 4: 12 saat)

4.3.2.2. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreklerinde protein

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin protein değerleri %10,80-11,92 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin protein değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında protein değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin protein açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5'de görülmektedir.

4.3.2.3. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreklerinde toplam indirgen şeker

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin früktoz değerleri 677-2440 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin früktoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında früktoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin früktoz açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5'de görülmektedir.

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin glikoz değerleri 1063-1906 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin glikoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında glikoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin glikoz açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5'de görülmektedir.

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker değerleri 1740-4346 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında toplam

indirgen şeker değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5’de görülmektedir.

4.3.2.4. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreklerinde HMF

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin HMF değerleri 10,62-17,30 mg/kg arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin HMF değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında HMF değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin HMF açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5’de görülmektedir.

4.3.2.5. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreklerinde nem

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin nem değerleri 24,12-26,41 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin nem değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında nem değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin nem açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5’de görülmektedir.

4.3.2.6. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreklerinde pH

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin pH değerleri 5,81-5,90 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin pH açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5’de görülmektedir.

4.3.2.7. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreklerinde renk parametreleri

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri 50,73-57,90 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında L^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin L^* açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5’de görülmektedir.

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin a^* değerleri 10,90-12,77 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin a^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında a^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin a^* açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5’de görülmektedir.

Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevreği örneklerinin b^* değerleri 28,73-31,66 arasında bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin b^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, pekmez çeşitlerine ait gruplar arasında b^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin b^* açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.5’de görülmektedir.

Çizelge 4.5. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çeşitlerine daldırılarak pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid, protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve L*, a*, b* değerleri ve standart sapmaları^a.

| Kod No | Akrilamid (µg/kg) | % Protein (w/w) | Früktoz (mg/kg) | Glikoz (mg/kg) | Toplam İndirgen Şeker (mg/kg) | HMF (mg/kg) | % Nem (w/w) | pH | Renk | | |
|--------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | | | | | | | | | L* | a* | b* |
| 1 | 98,93 ^g ± 0,15 | 11,35 ^{bc} ±0,02 | 2376 ^c ±1 | 1602 ^e ±1 | 3978 ^b ±1 | 11,04 ^e ±4,09 | 25,08 ^c ±0,37 | 5,86 ^c ±0,01 | 53,88 ^f ±0,01 | 11,83 ^f ±0,02 | 30,29 ^{ef} ±0,05 |
| 2 | 106,33 ^l ± 0,18 | 11,19 ^{bcd} ±0,13 | 2440 ^a ±15 | 1906 ^a ±1 | 4346 ^a ±15 | 11,59 ^{cde} ±0,18 | 24,91 ^c ±0,19 | 5,89 ^{ab} ±0,01 | 54,13 ^e ±0,02 | 12,03 ^d ±0,03 | 30,41 ^d ±0,07 |
| 3 | 112,85 ^d ± 0,21 | 11,43 ^b ±0,13 | 2292 ^d ±2 | 1446 ^g ±1 | 3738 ^d ±2 | 12,12 ^{abcde} ±2,49 | 24,47 ^{de} ±0,13 | 5,86 ^c ±0,01 | 50,73 ^l ±0,01 | 11,54 ^h ±0,01 | 28,73 ⁱ ±0,08 |
| 4 | 119,27 ^b ± 0,20 | 11,28 ^{bc} ±0,13 | 1351 ⁱ ±2 | 1312 ^h ±2 | 2663 ^h ±2 | 13,16 ^{de} ±4,47 | 25,91 ^b ±0,02 | 5,85 ^{cd} ±0,01 | 51,95 ⁱ ±0,03 | 12,33 ^c ±0,03 | 30,71 ^e ±0,05 |
| 5 | 96,94 ^h ± 0,19 | 11,38 ^{bc} ±0,06 | 2422 ^b ±2 | 1557 ^f ±2 | 3979 ^b ±2 | 10,62 ^{cde} ±0,61 | 25,53 ^b ±0,20 | 5,90 ^a ±0,01 | 51,19 ^k ±0,01 | 11,88 ^e ±0,07 | 28,90 ⁱ ±0,08 |
| 6 | 107,13 ^e ± 0,30 | 11,10 ^{bcd} ±0,13 | 1970 ^f ±3 | 1674 ^d ±2 | 3644 ^e ±3 | 10,97 ^{ab} ±8,72 | 25,83 ^b ±0,13 | 5,89 ^{ab} ±0,01 | 56,28 ^b ±0,02 | 11,11 ⁱ ±0,03 | 29,31 ^h ±0,01 |
| 7 | 113,98 ^c ± 0,25 | 11,03 ^{bcd} ±0,01 | 1813 ^g ±1 | 1253 ^k ±2 | 3066 ^g ±2 | 11,39 ^{de} ±2,67 | 26,41 ^a ±0,16 | 5,85 ^{cd} ±0,01 | 56,03 ^c ±0,0 | 10,90 ^k ±0,01 | 29,38 ^h ±0,04 |
| 8 | 120,60 ^a ± 0,18 | 11,28 ^{bc} ±0,11 | 677 ^k ±2 | 1063 ^l ±2 | 1740 ⁱ ±2 | 15,24 ^{bcd} ±2,49 | 24,98 ^c ±0,06 | 5,84 ^{cd} ±0,12 | 51,83 ⁱ ±0,02 | 12,69 ^b ±0,03 | 30,84 ^b ±0,09 |
| 9 | 72,20 ^l ± 0,10 | 10,80 ^d ±0,22 | 2135 ^e ±1 | 1683 ^c ±3 | 3818 ^c ±3 | 15,83 ^a ±7,07 | 24,71 ^c ±0,15 | 5,86 ^c ±0,10 | 55,99 ^d ±0,02 | 11,52 ^h ±0,03 | 30,22 ^f ±0,04 |
| 10 | 76,55 ^k ± 0,24 | 11,92 ^a ±0,49 | 1658 ^h ±1 | 1792 ^b ±3 | 3450 ^f ±3 | 16,08 ^{abcd} ±0,03 | 24,34 ^{de} ±0,21 | 5,88 ^b ±0,10 | 53,38 ^h ±0,03 | 11,72 ^g ±0,03 | 29,76 ^g ±0,07 |
| 11 | 81,27 ^j ± 0,23 | 10,96 ^{cd} ±0,13 | 1373 ⁱ ±3 | 1269 ^j ±2 | 2642 ⁱ ±3 | 16,22 ^{abcd} ±0,05 | 25,84 ^b ±0,37 | 5,81 ^e ±0,10 | 57,90 ^a ±0,04 | 11,22 ⁱ ±0,03 | 30,32 ^e ±0,01 |
| 12 | 87,00 ⁱ ± 0,19 | 11,18 ^{bcd} ±0,09 | 1383 ⁱ ±2 | 1278 ⁱ ±1 | 2661 ^h ±2 | 17,30 ^{abc} ±0,02 | 24,12 ^e ±0,40 | 5,84 ^d ±0,10 | 53,74 ^g ±0,02 | 12,77 ^a ±0,03 | 31,66 ^a ±0,06 |

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

4.3.3. Akrilamid oluşumunun önlemesine yönelik çalışmalar

Akrilamid oluşumunun önlenmesine yönelik çalışmalar kapsamında, İzmir gevreğine hamur yapımı sırasında katılan NaCl belirli oranlarda azaltılarak, yerine KCl ilave edilmiştir. Pişirilen gevreklerde ayrıca protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve renk (L^* , a^* , b^*) analizleri yapılmıştır.

4.3.3.1. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde akrilamid

İzmir gevreklerinin hamuruna katılan NaCl miktarı yarıya düşürülüp, aynı miktarda KCl ve bir başka deneme olarak, NaCl miktarı %25 oranında azaltılıp, azaltılan miktar kadar KCl ilavesi yapılmıştır. KCl ilavesinin yapılmadığı İzmir gevrekleri kontrol örneği olarak kullanılmıştır.

Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerleri 50,96-71,69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında bulunmuştur (Çizelge 4.6). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda işlem gören İzmir gevreği örneklerinin akrilamid değerlerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin akrilamid açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.6'da görülmektedir.

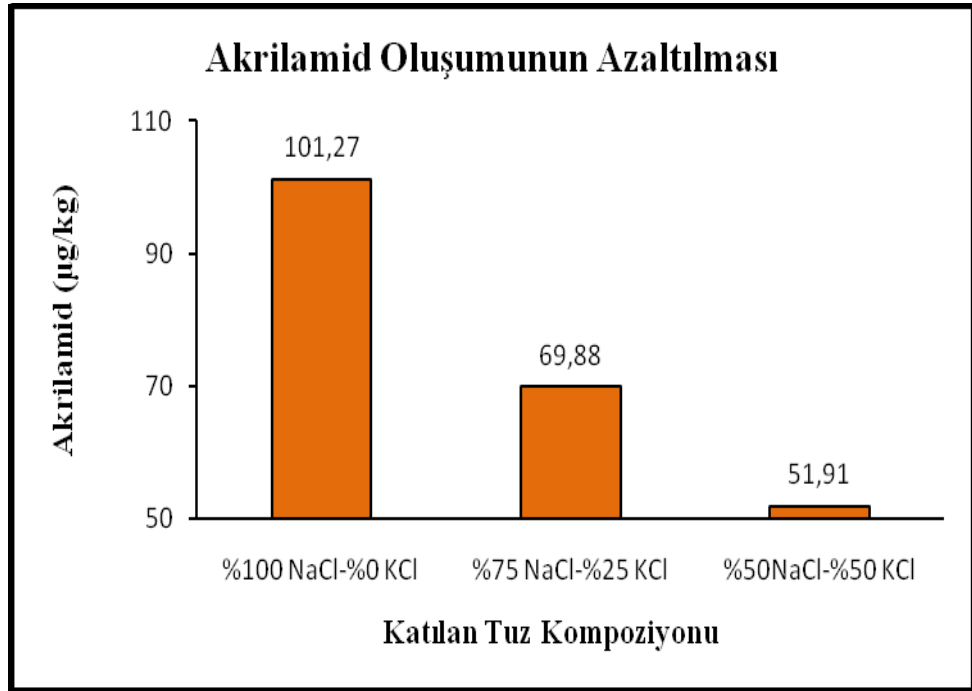
Çizelge 4.6. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları^a.

| | | Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | Ortalama Akrilamid |
|---|------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| Standart Koşullarda Pişirilen İzmir gevrekleri | 1. Paralel | 102,09 | 101,27 ^a \pm 1,18 |
| | 2. Paralel | 99,92 | |
| | 3. Paralel | 101,8 | |
| NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevrekleri | 1. Paralel | 69,98 | 69,88 ^b \pm 1,86 |
| | 2. Paralel | 67,97 | |
| | 3. Paralel | 71,69 | |
| NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl Katılan İzmir gevrekleri | 1. Paralel | 51,08 | 51,91 ^c \pm 1,54 |
| | 2. Paralel | 53,68 | |
| | 3. Paralel | 50,96 | |

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir

KCl'ün fiyatı NaCl'ün fiyatının yaklaşık 1,5 katı olduğundan ve KCl ilavesi nedeni ile kullanılan NaCl'ün miktarı da azaltıldığından, İzmir gevreği hamuruna KCl ilavesi çok az bir maliyet farkı getirmektedir.

Akrilamid oluşumunun önlenmesine yönelik çalışmalar kapsamında, İzmir gevreğine hamur yapımı sırasında katılan NaCl'ün belirli oranlarda azaltılarak yerine KCl ilavesinin İzmir gevreklerinde akrilamid oluşumuna etkisi Şekil 4.10.'da görülmektedir.



Şekil 4.12. KCl ilavesi ile İzmir gevreklerinde akrilamid oluşumunun azaltılması.

4.3.3.2. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde protein

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde protein değeri %11,01; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde protein değeri %11,34 olarak bulunmuştur. Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi, yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin protein değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$).

4.3.3.3. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde toplam indirgen şeker

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde früktoz değeri 3285 mg/kg; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde früktoz değeri 2874 mg/kg olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin früktoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin früktoz açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir.

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde glikoz değeri 3124 mg/kg; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde glikoz değeri 2780 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin glikoz değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin glikoz açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir.

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde toplam indirgen şeker değeri 3205 mg/kg; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde toplam indirgen şeker değeri 2827 mg/kg olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin toplam indirgen şeker açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir.

KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde, indirgen şekerler akrilamid oluşumunda harcandığından akrilamid oluşumu artıkça, son ürünlerdeki şeker miktarının azaldığı düşünülmektedir.

4.3.3.4. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde HMF

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde HMF değeri 6,39 mg/kg; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde HMF değeri 4,39 mg/kg olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin HMF değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir

($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin HMF açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir. KCl katılan örneklerin HMF içeriğinin kontrol örneğinden daha az olduğu görülmektedir.

4.3.3.5. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde nem

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde nem değeri %25,47; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde nem değeri %25,86 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin nem değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin nem açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir. KCl katılan örneklerin nem içeriğinin kontrol örneğinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

4.3.3.6. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde pH

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde pH değeri 5,90; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde pH değeri 5,88 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin pH açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir.

4.3.3.7. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde renk parametreleri

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde L^* değeri 54,53; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde L^* değeri 54,17 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin L^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin L^* açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir.

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde a^* değeri 10,98; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan

miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde a^* değeri 10,60 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin a^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin a^* açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir. KCl katılan örneklerin a^* içeriğinin kontrol örneğinden daha düşük olduğu görülmektedir.

NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda KCl katılan İzmir gevreklerinde b^* değeri 28,01; NaCl'ün %25 oranında azaltıldığı ve azaltılan miktar kadar KCl katılan İzmir gevreklerinde b^* değeri 27,36 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir gevreği örneklerinin b^* değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre İzmir gevreği örneklerinin b^* açısından hangi gruba girdiği de Çizelge 4.7'de görülmektedir. KCl katılan örneklerin b^* içeriğinin kontrol örneğinden daha düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.7. Hamuruna farklı oranlarda KCl ilave edilen İzmir gevreklerinde protein, früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, HMF, pH, nem ve L*, a*, b* değerleri ve standart sapmaları^a.

| | % Protein (w/w) | Früktoz (mg/kg) | Glikoz (mg/kg) | Toplam İndirgen Şeker (mg/kg) | HMF (mg/kg) | % Nem (w/w) | pH | Renk | | |
|--|--------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | | | | | | L* | a* | b* |
| Standart İzmir gevreği | 11,23 ± 0,03 | 2474 ^c ±3 | 2216 ^c ±3 | 4690 ^c ±4 | 9,52 ^a ± 0,03 | 25,16 ^c ± 0,10 | 5,93 ^a ±0,01 | 53,41 ^c ±0,03 | 12,03 ^a ±0,03 | 29,48 ^a ±0,06 |
| Hamuruna %25 KCl ilave edilen İzmir gevreği | 11,34 ± 0,20 | 2874 ^b ±1 | 2780 ^b ±3 | 5654 ^b ±3 | 4,39 ^c ± 0,03 | 25,86 ^a ±0,32 | 5,87 ^c ±0,01 | 54,17 ^b ±0,02 | 10,70 ^c ±0,03 | 27,36 ^c ±0,04 |
| Hamuruna %50 KCl ilave edilen İzmir gevreği | 11,01 ± 0,25 | 3285 ^a ±1 | 3124 ^a ±3 | 6414 ^a ±3 | 6,39 ^b ± 0,02 | 25,47 ^b ± 0,11 | 5,90 ^b ±0,01 | 54,53 ^a ±0,02 | 10,98 ^b ±0,02 | 28,01 ^b ±0,05 |

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir

4.3.4. Akrilamid oluşumunun önlemesine yönelik diğer çalışmalar

Akrilamid oluşumunun önlenmesine yönelik çalışmalar kapsamında, İzmir gevreğine hamur yapımı sırasında katılan NaCl belirli oranlarda azaltılarak, yerine MgCl₂ ilave edilmiştir. İzmir gevreklerinin hamuruna NaCl miktarı yarıya düşürülüp, aynı miktarda MgCl₂ ilavesi yapılmıştır. 290°C'da 9 dakika pişirilen İzmir gevreklerinde akrilamid düzeyleri Çizelge 4.8.'de gösterilmiştir. Ancak, MgCl₂'ün eklendiği İzmir gevreklerinin akrilamid değerlerinde, kontrol örneğine göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Çizelge 4.8. Hamuruna MgCl₂ ilave edilen İzmir gevreklerinde akrilamid değerleri ve standart sapmaları.

| İzmir Gevreği Formülasyonu | | Akrilamid (µg/kg) | Ortalama Akrilamid (µg/kg) |
|--|-----------|--------------------------|-----------------------------------|
| Standart koşullarda pişirilen İzmir gevrekleri | 1.Paralel | 101,25 | 100,58 ± 0,95 |
| | 2.Paralel | 99,91 | |
| NaCl'ün %50 oranında azaltıldığı ve aynı oranda MgCl ₂ katılan İzmir gevrekleri | 1.Paralel | 98,69 | 99,12 ± 0,61 |
| | 2.Paralel | 99,55 | |

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında LC-MS/MS cihazında pratik ve güvenilir bir yöntem geliştirilmiştir. Örneklerden akrilamidin ekstraksiyonu bir saat içinde yapılabilmektedir. Ekstraktın saflaştırma aşaması öncesinde asitlendirilmesi ile herhangi bir interferansın olmadığı yüksel sinyal değerlerinde pikler elde edilmiştir. Geliştirilen yöntemin geri kazanım değeri %99,66; saptama sınırı (LOD) 1,48 µg/kg, ölçme sınırı (LOQ) 4,93 µg/kg olarak bulunmuştur. Validasyonu yapılan bu yöntem yüksek geri kazanım ve düşük saptama sınırı, ölçme sınırı değerleri ile literatür özetlerinde yer alan çalışmalardan farklılık göstermektedir.

Validasyonu yapılan yöntem ile İzmir'de üretim yapan 30 farklı fırından alınan İzmir gevreği numunelerinde akrilamid düzeyleri ilk defa bu tez projesinde tespit edilmiştir. Akrilamid analizinin yanı sıra protein, toplam indirgen şeker değerleri, glikoz, früktoz, HMF, nem, pH, L*, a*, b* analizleri yapılmış ve akrilamid konsantrasyonu ile bu parametreler arasındaki korelasyonlar Pearson korelasyon testi ile araştırılmıştır.

İzmir gevreğindeki akrilamid konsantrasyonu ile % protein miktarı arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=-0,367$), akrilamid konsantrasyonu ile früktoz konsantrasyonu arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,492$), akrilamid konsantrasyonu ile glikoz konsantrasyonu arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,485$), akrilamid konsantrasyonu ile toplam indirgen şeker konsantrasyonu arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=0,491$) bulunmuştur. Akrilamid konsantrasyonu ile HMF konsantrasyonları arasında, anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır ($P>0,05$). İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile nem konsantrasyonları arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,01$, $r=-0,499$) bulunmuştur. Akrilamid konsantrasyonu ile L* arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=-0,372$), akrilamid konsantrasyonu ile a* değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=0,388$), akrilamid konsantrasyonu ile b* değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P<0,05$, $r=0,381$) bulunmuştur. İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile pH değerleri arasında, anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır ($P>0,05$).

Bu kısımda elde edilen korelasyonların değerlendirilmesinde; üretim yerlerinden alınan İzmir gevreklerinin pişirme koşullarındaki farklılıkların ve üretimde kullanılan hammaddeler arasındaki farklılıkların dikkate alınması gerekmektedir.

Tez projesinin ikinci kısmında İzmir gevrekleri laboratuvarında fırın koşullarına benzer şekilde etüvde pişirilmiştir. Farklı pişirme koşullarının akrilamid oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu kısım kendi içinde 3 başlık altında incelenmiştir.

İlk olarak farklı sıcaklık-süre uygulamalarının akrilamid oluşumu üzerine etkisi irdelenmiştir. Pişirme sıcaklığı ve sürenin artması ile akrilamid oluşumunun arttığı tespit edilmiştir. Bu gevreklerde, akrilamid analizinin yanı sıra protein, toplam indirgen şeker değerleri, glikoz, früktoz, HMF, nem, pH, L*, a*, b* analizleri yapılmış ve akrilamid konsantrasyonu ile bu parametreler arasındaki korelasyonlar Pearson korelasyon testi ile araştırılmıştır.

İzmir gevreği örneklerinin akrilamid konsantrasyonu ile protein değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = 0,873$), akrilamid konsantrasyonu ile früktoz konsantrasyonları arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,05$, $r = -0,723$), akrilamid konsantrasyonu ile glikoz konsantrasyonları arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = -0,900$), akrilamid konsantrasyonu ile toplam indirgen şeker konsantrasyonları arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = -0,865$), akrilamid konsantrasyonu ile HMF konsantrasyonları arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = 0,952$), akrilamid konsantrasyonu ile nem değerleri arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = -0,860$), akrilamid konsantrasyonu ile L* değerleri arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = -0,975$), akrilamid konsantrasyonu ile a* değerleri arasında, pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = 0,966$), akrilamid konsantrasyonu ile b* değerleri arasında, negatif yönde anlamlı bir korelasyon ($P < 0,01$, $r = -0,879$) bulunmuştur. Akrilamid konsantrasyonu ile pH değerleri arasında korelasyon ($P > 0,05$) bulunamamıştır.

Tez projesinin ilk kısmından farklı olarak, bu kısımda ham madde ve dolayısıyla başlangıçtaki früktoz, glikoz, toplam indirgen şeker, protein değerleri aynı olduğundan, bu kısımdaki istatistiki değerlendirmelerin daha anlamlı olduğu düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, son üründe akrilamid

oluşumu ile fruktoz, glikoz ve toplam indirgen şeker miktarı arasında negatif korelasyon bulunduğu görülmektedir. Fruktoz, glikoz ve toplam indirgen şekerin İzmir gevreklerinin pişirilmesi sırasında akrilamid oluşumunda harcadığı düşünülmektedir. Bu nedenle son üründe fruktoz, glikoz ve indirgen şekerin azalması ile daha yüksek miktarda akrilamid oluştuğu tespit edilmiştir.

İkinci olarak farklı pekmez çözeltileri kullanımının ve bu çözeltilerin farklı sürelerde kaynatılmasının akrilamid oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir. Yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda, üzüm pekmezi ve dut pekmezi çözeltileri kullanılarak pişirilen İzmir gevreklerindeki akrilamid düzeyleri arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Ancak yanık şeker çözeltisi kullanılarak pişirilen İzmir gevreklerindeki akrilamid düzeylerinin, pekmez çözeltileri kullanılarak pişirilen İzmir gevreklerindeki akrilamid düzeylerinden daha düşük olduğu saptanmıştır. Üzüm veya dut pekmezi çözeltileri kullanılarak pişirilen İzmir gevreklerinde yanık şeker çözeltisi kullanılarak pişirilenlere göre daha fazla akrilamid oluşumunun, gevreklerin pekmez çözeltilerinden früktoz ve/veya glikoz absorbe etmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, İzmir gevreği üretiminde kullanılan pekmez ve yanık şeker çözeltilerinin kaynama süresinin artması ile akrilamid oluşumunun arttığı gözlenmiştir.

İzmir gevreği hamuruna KCl ilavesinin akrilamid oluşumunu azalttığı istatistiksel olarak görülmüştür. Ayrıca, İzmir gevreği hamuruna $MgCl_2$ ilave edilerek yapılan denemelerde $MgCl_2$ 'ün akrilamid oluşumunu azaltmada etkili olmadığı belirlenmiştir.

İzmir halkının diyetinde önemli bir yeri olan İzmir gevreğindeki akrilamid düzeylerinin belirlenmesi ve üretim sırasında akrilamid oluşumunun hangi parametrelerden nasıl etkilendiğinin belirlenmesi toplum sağlığı açısından faydalı olmuştur.

Geliştirilen yöntem İzmir Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde rutin analizlerde uygulanmaya başlamıştır.

Aynı zamanda Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarım Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğünün (TAGEM) bir projesi olarak da yürütülen bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü için veri teşkil etmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Açar, Ö. and Gökmen, V.**, 2010, A new approach to evaluate the risk arising from acrylamide formation in cookies during baking: Total risk calculation, *Journal of Food Engineering*, 100:642-648.
- Adams, A., Hamdani, S., Lancker, F. V., Mějri, S. and Kimpe, N. D.**, 2010, Stability of acrylamide in model systems and its reactivity with selected nucleophiles, *Food Research International*, 43:1517-1522.
- Adler, I. D., Schmid, T. E. and Baumgartner, A.**, 2002, Induction of aneuploidy in male mouse germ cells detected by the sperm-FISH assay: a review of the presented data base, *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504:173-182.
- Aguas, P. C., Fitzhenry, M. J., Giannikopoulos, G. and Varelis, P.**, 2006, Analysis of acrylamide in coffee and cocoa by isotope dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385:1526-1531.
- Ahn, J. S., Castle, L., Clarke, D. B., Lloyd, A. S., Philo, M. R. and Speck, D. R.**, 2002, Verification of findings of acrylamide in heated foods, *Food Additives and Contaminants*, 19:1116-1124.
- Ahrne, L., Andersson, C. G., Floberga, P., Rosen, J. and Lingnerta, H.**, 2007, Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: Steam and falling temperature baking, *LWT-Food Science and Technology*, 40:1708-1715.
- Alpözen, E., Güven, G. and Üren, A.**, 2009, İzmirin 3 Geleneksel Fırın Ürünü. II. Geleneksel Gıdalar Kongresi Bildiri Kitabı, 27-29 Mayıs 2009, Van, 920-923.
- Alves, R. C., Soares, C., Casal, S., Fernandes, J. O., Beatriz, M. and Oliveira, P. P.**, 2010, Acrylamide in espresso coffee: Influence of species, roast degree and brew length, *Food Chemistry*, 119:929-934.
- Amrein, T. M., Schönbachler, B., Escher, F. and Amado, R.**, 2004, Acrylamide in gingerbread: Critical factors for formation and possible ways for reduction, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:4282-4288.
- Amrein, T. M., Andres, L., Schönbachler, B., Conde-Petit, B., Escher, F. and Amad`o, R.**, 2005, Acrylamide in almond products, *European Food Research and Technology*, 221:14-18.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Amrein, T. M., Andres, L., Escher, F. and Amado, R.,** 2007, Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options, *Food Additives and Contaminants*, 24:13-25.
- Andrzejewski, D., Roach, J. A. G., Gay, M. L. and Musser, S. M.,** 2004, Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LCMS/MS, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:1996-2002.
- Anese, M., Bortolomeazzi, R., Manzocco, L., Manzono, M., Giusta, C. and Nicoli, M. C.,** 2009, Effect of chemical and biological dipping on acrylamide formation and sensory properties in deep-fried potatoes, *Food Research International*, 42:142-147.
- Anese, M., Suman, M. and Nicoli, M. C.,** 2010, Acrylamide removal from heated foods, *Food Chemistry*, 119:791-794.
- Anese, M., Quarta, B. and Frias, J.,** 2011, Modelling the effect of asparaginase in reducing acrylamide formation in biscuits, *Food Chemistry*, 126:435-440.
- Anon,** 2000, AOAC 990.03.2000, USA.
- Anon,** 2001. TS 1135 ISO 712, Tahıl ve Tahıl Ürünleri - Rutubet Muhtevası Tayini Rutin Referans Metot, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anon,** 2002, IHC (International Honey Commission), Switzzeland.
- Anon,** 2010, TS12230, Milföy Hamuru, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anon,** 2011a.http://did.cevreorman.gov.tr/did/AB_Mevzuati/su_kalitesi (Erişim tarihi: 25.12.2011)
- Anon,** 2011b, <http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-569/eski2yeni.html> (Erişim tarihi: 25.12.2011)
- Anon,** 2011c, Commision Recommendation of 10.1.2011 on investigations into the levels of acrylamide in food, 7p.
- Arisseto, A. P., Toledo, M. C. F., Govaert, Y., Loco, J. V., Fraselle, S. and Degroodt, J.,** 2008, A modified sample preparation for acrylamide determination in cocoa and coffee products, *Food Analytical Methods*, 1:49-55.
- Arisseto, A.P., Toledo, M. C. F., Govaert, Y., Loco, J. V., Fraselle, S., Degroodt, J. and Caroba, D. C. R.,** 2009, Contribution of selected foods to acrylamide intake by a population of Brazilian adolescents, *Food Science and Technology*, 42:207-211.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Arribas-Lorenzo, G. and Morales, F. J.,** 2009, Effect of pyridoxamine on acrylamide formation in a glucose/asparagine model system, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:901-909.
- Baardseth, P., Blom, H., Skrede, G., Mydland, L. T., Skrede, S. and Slind, E.,** 2006a, Acetic acid fermentation reduces acrylamide formation and other maillard reactions in French Fries, *Journal of Food Science*, 71(1):28-33.
- Baardseth, P., Blom, H., Skrede, G., Mydland, L. T., Skrede, S. and Slind, E.,** 2006b, Lactic acid fermentation reduces acrylamide formation and other maillard reactions in french fries, *Journal of Food Science*, 71(1):28-33.
- Bagdonaite, K. and Murkovic, M.,** 2004, Factors affecting the formation of acrylamide in coffee, *Czech Journal of Food Sciences*, 22:22-24.
- Bagdonaite, K., Viklund, G., Skog, K. and Murkovic, M.,** 2006, Analysis of 3-aminopropioamide: A potential precursor of acrylamide, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 69:215-221.
- Barlow, S. and Schlatter J.,** 2010, Risk assessment of carcinogens in food, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 243:180-190.
- Barutçu, I., Şahin, S. and Sumnu, G.,** 2009, Acrylamide formation in different batter formulations during microwave frying, *LWT - Food Science and Technology*, 42:17-22.
- Başkan, S. and Erim, F. B.,** 2007, NACE for the analysis of acrylamide in food, *Electrophoresis*, 28:4108-4113.
- Belcaski, A., Lau, B. P. Y., Lewis, D. and Seaman, S.** 2002, Acrylamide in foods; occurrence and sources, AOAC Annual Meeting, Los Angeles, CA, September 22-26.
- Belcaski, A., Lau, B. P. Y., Lewis, D. and Seaman, S. W.,** 2003, Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:802-808.
- Belcaski, A., Lau, B. P. Y., Lewis, D., Seaman, S. W., Hayward, S., Sahagian, M., Ramesh, M. and Leclerc, Y.,** 2004, Acrylamide in French fries: Influence of free amino acids and sugars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:3801-3806.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bermudo, E., Moyano, E., Puignou, M. and Galceran, T.,** 2008, Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the analysis of acrylamide in typical Spanish products, *Talanta*, 76:389-394.
- Biedermann, M., Biedermann-Brem, S., Noti, A. and Grob, K.,** 2002, Methods for determining the potential formation and its elimination in raw materials for food preparation, such as potatoes, *Mitteilungen aus Lebensmittel untersuchung und Hygiene*, 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 Lebensmittel untersuchung und Hygiene*, 94:406-422.
- Biedermann, M., Grundböck, F., Fiselier, K., Biedermann, S., Bürgi, C. and Grob, K.,** 2010, Acrylamide monitoring in Switzerland, 2007-2009: results and conclusions, *Food Additives and Contaminants*, 27(10):1352-1362.
- Blank, I.,** 2005, Current status of acrylamide research in food: Measurement, safety assessment, and formation, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043:30-40.
- Borouhaki, M. T, Nikkhah, E., Kazemi, A., Oskooei, M. and Raters, M.,** 2010, Determination of acrylamide level in popular Iranian brands of potato and corn products, *Food and Chemical Toxicology*, 48:2581-2584.
- Brandl, F., Demiani, S., Ewender, J., Franz, R., Gmeiner, M. and Gruber, L.,** 2002, A rapid and convenient procedure for the determination of acrylamide in foodstuffs, *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 1(3):137-144.
- Brathen, E. and Knutsen, S. H.,** 2005, Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread, *Food Chemistry*, 92:693-700.
- Brathen, E., Kita, A., Knutsen, S. H. and Wicklund, T.,** 2005, Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:3259-3264.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Burdurlu, H. S. and Karadeniz, F.**, 2006, Gıdalarda akrilamid oluşumu ve önemi, *Türkiye 9. Gıda Kongresi 24-26 Mayıs 2006, Bolu*, 23-24.
- Calleman, C. J., Bergmark, E., Stern, L. G. and Costa, I. G. A.**, 1993, Nonlinear dosimetric model for hemoglobin adduct formation by the neurotoxic agent acrylamide and its genotoxic metabolite glycidamide, *Environmental Health Perspectives*, 99:221-223.
- Capuano, E., Oliviero, T., Acar, Ö. C., Gokmen, V. and Fogliano, V.**, 2010, Lipid oxidation promotes acrylamide formation in fat-rich model systems, *Food Research International*, 43:1021-1026.
- Capuano, E. and Fogliano, V.**, 2011, Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies, *LWT - Food Science and Technology*, 44:793-810.
- Castle, L.**, 1993, Determination of acrylamide monomer in mushrooms grown on polyacrylamide gel, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 41:1261-1263.
- Castle, L., Campos, M. J. and Gilbert, J.**, 1991, Determination of acrylamide monomer in hydroponically grown tomato fruits by capillary gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54:549-555.
- Channell, G. A., Wulfert, F. and Taylor, A. J.**, 2008, Identification and monitoring of intermediates and products in the acrylamide pathway using online analysis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6097-6104.
- Chapin, R. E., Fail, P. A., George, J. D., Grizzle, T. B., Heindel J. J., Harry, G. J., Collins, B. J. and Teague, J.**, 1995, The reproductive and neural toxicities of acrylamide and three analogues in Swiss mice, evaluated using the continuous breeding protocol, *Fundamental and Applied Toxicology*, 27:9-24.
- Chen, F., Yuan, Y., Liu, J., Zhao, G. and Hu, X.**, 2008, Survey of acrylamide levels in Chinese foods, *Food Additives and Contaminants*, 1(2):85-92.
- Cheng, K., Shi, J., Ou, S., Wang, M. and Jiang, Y.**, 2010, Effects of fruit extracts on the formation of acrylamide in model reactions and fried potato Crisps, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:309-312.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ciesarova, Z., Kiss, E. and Kolek, E.,** 2006, Study of factors affecting acrylamide levels in model systems, *Czech Journal of Food Sciences*, 24:133-137.
- Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K. and Hendrickx, M. E.,** 2005a, Quantifying the formation of carcinogens during food processing:acrylamide, *Trends In Food Science and Technology*, 16:181-193.
- Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K. and Hendrickx, M. E.,** 2005b, Kinetics of acrylamide formation and elimination during heating of an asparagine-sugar model system, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:9999-10005.
- Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K. and Hendrickx, M. E.,** 2005c, Effect of amino acids on acrylamide formation and elimination kinetics, *Biotechnology Progress*, 21:1525-1530.
- Claus, A., Mongili, M., Weisz, G., Schieber, A. and Carle, R.** 2008a, Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls, *Journal of Cereal Science*, 47:546-554.
- Claus, A., Carle, R. and Schiebe, A.,** 2008b, Acrylamide in cereal products: A review, *Journal of Cereal Science*, 47:118-133.
- Costa, L. G.,** 1996, Biomarker research in neurotoxicology; the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations, *Environmental Health Perspectives*, 104:55-67.
- Croft, M., Tong, P., Fuentes, D. and Hambridge, T.,** 2004, Australian survey of acrylamide in carbohydrate-based foods, *Food Additives and Contaminants*, 21(8):721-736.
- Cummins, E., Butlera, F., Gormleyb, R. and Bruntonb, N.,** 2008, A methodology for evaluating the formation and human exposure to acrylamide through fried potato crisps, *LWT-Food Science and Technology*, 41:854-867.
- Curtis, T.Y., Powers, S.J., Balagiannis, D., Elmore, S. J., Mottram, D.S., Parry, M.A.J., Rakszegi, M., Bedo, Z., Shewry, P. R. and Halford, N. G.,** 2010. Free amino acids and sugars in rye grain: Implications for acrylamide formation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,58:1959-1969.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dabrio, M., Sejerøe-Olsen, B., Musser, S., Emteborg, H., Ulberth, F. and Emons, H.,** 2008, Production of a certified reference material for the acrylamide content in toasted bread, *Food Chemistry*, 110:504-511.
- De Wilde, T., De Meulenaer, B., Mestagh, F., Verhe, R., Govaert, Y., Fraselle, S., Degroodt, J. M., Vandeburie, S., Demeulemeester, K., Calus, A., Ooghe, W. and Van Peteghem, C.,** 2004, Acrylamide formation during frying of potatoes: Thorough investigation on the influence of crop and process variables, *Czech Journal of Food Sciences*, 22:15-18.
- De Wilde, T., De Meulenaer, B., Mestagh, F. R., Govaert, Y., Vandeburie, S., Ooghe, W., Fraselle, S., Demeulemeester, K., Peteghem, C. V., Calus, A., Degroodt, J. and Verhe, R.,** 2005, Influence of storage practices on acrylamide formation during potato frying., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:6550-6557.
- De Vleeschouwer, K., Plancken, I. V., Loey, A. V. and Hendrickx, M. E.,** 2008, The kinetics of acrylamide formation/elimination in asparagine-glucose systems at different initial reactant concentrations and ratios, *Food Chemistry*, 111:719-729.
- De Vleeschouwer, K., Plancken, I. V., Loey, A. V. and Hendrickx, M. E.,** 2009a, Role of precursors on the kinetics of acrylamide formation and elimination under low moisture conditions using a ultiresponse approach - Part I: Effect of the type of sugar, *Food Chemistry*, 114:116-126.
- De Vleeschouwer, K., Plancken, I. V., Loey, A. V. and Hendrickx, M. E.,** 2009b, Role of precursors on the kinetics of acrylamide formation and elimination under low moisture conditions using a multiresponse approach- Part II: Competitive reactions, *Food Chemistry*, 114:535-546.
- De Vleeschouwer, K., Plancken, I. V., Loey, A. V. and Hendrickx, M. E.,** 2010, Effect of high pressure-high temperature processing conditions on acrylamide formation and other maillard reaction compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:11740-11748.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Delatour, T., Pea Risset, A., Goldmann, T., Riediker, S. and Stadler, R. H.,** 2004, Improved sample preparation to determine acrylamide in difficult matrixes such as chocolate powder, cocoa, and coffee by liquid chromatography tandem mass spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,52:4625-4631.
- Doğan, İ. S. and Meral, R.,** 2006, Gıdalarda akrilamid ve önemi, *Türkiye 9. Gıda Kongresi 24-26 Mayıs 2006, Bolu*, 629-632.
- Dunovska, L., Cajka, T., Hajslova, J. and Holadova, K.,** 2006, Direct determination of acrylamide in food by gas chromatography–high-resolution time-of-flight mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 578:234-240.
- Dybing, E. and Sanner, T.,** 2003, Risk assesment of acrylamide in foods. *Toxicological Sciences*, 75:7-15.
- Eerola, S., Hollebekkers, K., Hallikainen, A. and Peltonen, K.,** 2007, Acrylamide levels in Finnish foodstuffs analysed with liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Molecular Nutrition and Food Research*, 51:239-247.
- Elmore, J. S., Koutsidis, G., Dodsan, A. T., Mottram, D. S. and Wedzicha, B. L.,** 2005. Measurement of acrylamide and its precursors in potato, wheat, and rye model systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,53:1286-1293.
- Eriksson, S.,** 2005, Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology, Doctoral Thesis Department of Environmental Chemistry Stockholm University SE-106 91 Stockholm Sweden, 83p.
- Fiselier, K. and Grob, K.,** 2005, Legal limit for reducing sugars in prefabricates targeting 50 mg/kg acrylamide in French fries, *European Food Research and Technology*,220:451-458.
- Fiselier, K., Bazzocco, D., Gama-Baumgartner, F. and Grob, K.,** 2006, Influence of the frying temperature on acrylamide formation in French fries, *European Food Research and Technology*,222:414-419.
- Foot, R. J., Haase, N. U., Grob, K. and Gonde, P.,** 2007, Acrylamide in fried and roasted potato products: A review on progress in mitigation, *Food Additives and Contaminants*, 24:37-46.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Franke, K., Strijowski, U. and Reimerdes, E.H.**, 2009, Kinetics of acrylamide formation in potato powder, *Journal of Food Engineering*, 90:135-140.
- Fredriksson, H., Tallving, J., Rosén, J. and Åman, P.**, 2004, Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread, *Cereal Chemistry*, 81(5):650-653.
- Friedman, M.**, 2003, Chemistry, biochemistry and safety of acrylamide. A review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:4504-4526.
- Friedman, M. and Levin, C. L.**, 2008, Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5:6113-6140.
- Galesa, K., Bren, U., Kranjc, A. and Mavri, J.**, 2008, Carcinogenicity of acrylamide: A computational study, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:8720-8727.
- Geng, Z., Jiang, R. and Chen, M.**, 2008, Determination of acrylamide in starch-based foods by ion-exclusion liquid chromatography, *Journal of Food Composition and Analysis*, 21:178-182.
- Gerrard, J. A.**, 2006, The maillard reaction in food: Progress made, challenges ahead-Conference report from the eighth international symposium on the maillard reaction, *Trends in Food Science & Technology*, 17:324-330.
- Gertz, C. and Klostermann, S.**, 2002, Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104:762-771.
- Gianni, S., Armando, F., Gabriella, M., Massimo, R., Sauro, V. and Sergio, A.**, 2007, HPLC-MS validation of QualisaFood biosensor kit for cost-effective control of acrylamide levels in Italian coffee, *Food Control*, 18:1267-1271.
- Girma, K. B., Lorenz, V., Blaurock, S. and Edelman, F. T.**, 2005, Coordination chemistry of acrylamide, *Coordination Chemistry Reviews*, 249:1283-1293.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Goldmann, T., Perisset, A., Bertholet, M. C., Stadler, R. H., Peterssonc, E. V. and Hellenäs, K. E.**, 2006, Impact of extraction conditions on the content of acrylamide in model systems and food, *Food Additives and Contaminants*, 23(5):437-445.
- Govaert, Y., Arisseto, A., Loco, J. V., Scheers,E., Fraselle, S., Weverbergh, E., Degroodt, J. M. and Goeyens, L.**, 2006, Optimisation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometric method for the determination of acrylamide in foods, *Analytica Chimica Acta*, 556:275-280.
- Göbel, A. and Kliemant, A.**, 2007, The German minimization concept for acrylamide, *Food Additives and Contaminants*, 24:82-90.
- Gökmen, V. and Şenyuva, H. Z.**, 2006a, A generic method for the determination of acrylamide in thermally processed foods, *Journal of Chromatography A*, 1120:194-198.
- Gökmen, V. and Şenyuva, H. Z.**, 2006b, A simplified approach for the kinetic characterization of acrylamide formation in fructose-asparagine model system, *Food Additives and Contaminants*, 23(4):348-354.
- Gökmen, V., Palazoğlu, T. K. and Şenyuva, H. Z.**, 2006a, Relation between the acrylamide formation time-temperature history of surface and core fregions of French Fries, *Journal of Food Engineering*, 77:972-976.
- Gökmen, V., Senyuva, H. Z., Dülek, B. and Çetin, E.**, 2006b, Computer vision based analysis of potato chips - A tool for rapid detection of acrylamide level, *Molecular Nutrition and Food Research*, 50:805-810.
- Gökmen, V. and Şenyuva, H. Z.**, 2007, Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the maillard reaction, *Food Chemistry*, 103:196-203.
- Gökmen, V., Açar, Ö. Ç., Köksel, H. and Acar, J.**, 2007, Effect of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies, *Food Chemistry*, 104:1136-1142.
- Gökmen, V. and Palazoğlu, T. K.**, 2008, Acrylamide formation in foods during thermal processing with a focus on frying, *Food Bioprocess Technology*, 1:35-42.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gökmen, V., Acar, O., Serpen, A. and Morales, F. J.,** 2008a, Effect of leavening agents and sugars on the formation of hydroxymethylfurfural in cookies during baking, *European Food Research and Technology*, 226:1031-1037.
- Gökmen, V., Açar, Ö.Ç., Arribas-Lorenzo, G. and Morales, F.J.,** 2008b, Investigating the correlation between acrylamide content and browning ratio of model cookies, *Journal of Food Engineering.*, 87:380-385.
- Gökmen, V. and Palazoğlu, T. K.,** 2009, Measurement of evaporated acrylamide during frying of potatoes: Effect of frying conditions and surface area-to-volume ratio, *Journal of Food Engineering*, 93:172-176.
- Gökmen, V., Morales, F. J., Ataç, B., Serpen, A. and Arribas-Lorenzo, G.,** 2009, Multiple-stage extraction strategy for the determination of acrylamide in foods, *Journal of Food Composition and Analysis*, 22:142-147.
- Gökmen, V., Mogol, B. A., Lumaga, R. B., Fogliano, V., Kaplun, Z. and Shimoni, E.,** 2011, Development of functional bread containing nanoencapsulated omega-3 fatty acids, *Journal of Food Engineering*, 105:585-591.
- Graf, M., Amrein, T. M., Graf, S., Szalay, R., Escher, F. and Amado, R.,** 2006, Reducing the acrylamide content of a semi-finished biscuit on industrial scale, *LWT-Food Science and Technology*, 39:724-728.
- Granby, K. and Fagt, S.,** 2004, Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee, *Analytica Chimica Acta*, 520:177-182.
- Granby, K., Nielsen, N. J., Hedegaard, R. V., Christensen, T., Kann, M. and Skibste, L. H.,** 2008, Acrylamide–asparagine relationship in baked/toasted wheat and rye breads, *Food Additives and Contaminants*, 25(8):921-929.
- Granvogl, M. and Schieberle, P.,** 2006, Thermally generated 3-aminopropionamide as a transient intermediate in the formation of acrylamide, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(16):5933-5938.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Grivas, S., Jägerstad, M., Lingnert, H., Skog, K., Törnqvist, M. and Aman, P.,** 2002, acrylamide in food - mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods, Report from Swedish Scientific Expert Committee, 22p.
- Grob, K.,** 2007, Options for legal measures to reduce acrylamide contents in the most relevant foods, *Food Additives and Contaminants*, Supplement 1, 24:71-81.
- Guenther, H., Anklam, E., Wenzl, T. and Stadler, R. H.,** 2007, Acrylamide in coffee: Review of progress in analysis, formation and level reduction, *Food Additives and Contaminants*, 24:60-70.
- Halford, N. G., Curtis, T. Y., Muttucumaru, N., Postles, J. and Mottram, D.S.,** 2011, Sugars in crop plants, *Annals of Applied Biology*, 158:1-25.
- Hamlet, C.G., Sadd, P.A. and Liang, L.,** 2008, Correlations between the amounts of free asparagine and saccharides present in commercial cereal flours in the United Kingdom and the generation of acrylamide during cooking, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6145-6153.
- Hasegawa, K., Miwa, S., Tajima, T., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H. and Miwa, J.,** 2007, A rapid and inexpensive method to screen for common foods that reduce the action of acrylamide, a harmful substance in food, *Toxicology Letters*, 175:82-88.
- He, F. S., Zhang, S.L., Wang, H. L., Li, G., Zhang, Z. M., Li, F. L., Dong, X. M. and Hu, F.,** 1989, Neurological and electroneuromyographic assesment of the adverse effects of acrylamide on occupational exposed workers, *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 15:125-129.
- Hedegaard, R. V., Granby, K., Frandsen, H., Thygesen, J., and Skibsted, L. H.,** 2008, Acrylamide in bread. Efect of prooxidants and antioxidants, *European Food Research and Technology*, 227:519-525.
- Hidalgo, F. J., Delgado, R. M. and Zamora, R.,** 2009, Degradation of asparagine to acrylamide by carbonyl-amine reactions initiated by alkadienals, *Food Chemistry*, 116:779-784.
- Hidalgo, F. J., Delgado, R. M. and Zamora, R.,** 2010, Role of mercaptans on acrylamide elimination, *Food Chemistry*, 122:596-601.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hoenicke, K., Gatermann, R., Harder, W. and 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 carcinogenic risks to humans; International Agency for research on cancer: Lyon, France, 60:389-433.
- Ishihara, K., Matsunaga, A., Nakamura, K., Sakuma, K. and Koga, H.,** 2006, Examination of conditions inhibiting the formation of acrylamide in the model system of fried potato, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70(7):1616-1621.
- Jaeger, H., Janositz, A. and Knorr, D.,** 2010, The maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies, *Pathologie Biologie*, 58:207-213.
- Jiao, J., Zhang, Y., Ren, Y., Wu, X. and Zhang, Y.,** 2005, Development of a quantitative method for determination of acrylamide in infant powdered milk and baby foods in jars using isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1099:198-202.
- Jung, M., Choi, D. and Ju, J.,** 2003, A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in French fries, *Food Chemistry and Toxicology*, 68:1287-1290.
- Karasek, L., Wenzl, T. and Anklam, E.,** 2009, Determination of acrylamide in roasted chestnuts and chestnut-based foods by isotope dilution HPLC-MS/MS, *Food Chemistry*, 114:1555-1558.
- Keramat, J., LeBail, A., Prost, C. and Soltanizadeh, N.,** 2011a, Acrylamide in foods: Chemistry and analysis. A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 4:340-363.
- Keramat, J., LeBail, A., Prost, C. and Jafari, M.,** 2011b, Acrylamide in baking products: a review article, *Food and Bioprocess Technology*, 4:530-543.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kim, C. T., Hwang, E. S. and Lee, H. J.,** 2007, An improved LC-MS/MS method for the quantitation of acrylamide in processed foods, *Food Chemistry*, 101:401-409.
- Knol, J. J., Viklund, G. A. I., Linssen, J. P. H., Sjöholm, I. M., Skog, K. I. and Boekel, M. A. J. S.,** 2009, Kinetic modelling: A tool to predict the formation of acrylamide in potato crisps, *Food Chemistry*, 113:103-109.
- Knol, J. J., Linssen, J. P. H. and Boekel, M. A. J. S.,** 2010, Unravelling the kinetics of the formation of acrylamide in the Maillard reaction of fructose and asparagine by multiresponse modelling, *Food Chemistry*, 120:1047-1057.
- Knutsen, S. H., Dimitrijevic, S., Molteberg, E. L., Segtnan, V. H., Kaaber, L. and Wicklund, T.,** 2009, The influence of variety, agronomical factors and storage on the potential for acrylamide formation in potatoes grown in Norway, *Food Science and Technology*, 42:550-556.
- Konings, E. J. M., Ashby, P., Hamlet, G. and Thompson, G. A. K.,** 2007, Acrylamide in cereal and cereal products: A review on progress in level reduction, *Food Additives and Contaminants*, 24:47-59.
- Kotsiou, K., Tasioula-Margari, M., Kukurova, K. and Ciesarova, Z.,** 2010, Impact of oregano and virgin olive oil phenolic compounds on acrylamide content in a model system and fresh potatoes, *Food Chemistry*, 123:1149-1155.
- Lado, B. H. and Yousef, A. E.,** 2002, Alternative food preservation Technologies: efficacy and mechanisms, *Microbes and Infection*, 4:433-440.
- Lasekan, O. and Abbas, K.,** 2011, Investigation of the roasting conditions with minimal acrylamide generation in tropical almond (*Terminalia catappa*) nuts by response surface methodology, *Food Chemistry*, 125:713-718.
- Leung, K. S., Lin, A., Tsang, C. K. and Yeung, S. T. K.,** 2003, Acrylamide in Asian foods in Hong Kong, *Food Additives and Contaminants*, 20(12):1105-1113.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Levine, R. A. and Smith, R. E.,** 2005, Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,53:4410-4416.
- Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Slog, K., Törnqvist, M. and Aman, P.,** 2002, Acrylamide in food mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods, *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46:159-172.
- Liu, J., Zhao, G., Yuan, Y., Chen, F. and Hu, X.,** 2008, Quantitative analysis of acrylamide in tea by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Food Chemistry*, 108:760-767.
- Locas, C. P. and Yaylayan, V. A.,** 2008, Further insight into thermally and pH-induced generation of acrylamide from glucose/asparagine model systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,56:6069-6074.
- Low, M. Y., Koutsidis, G., Parker, J. K., Elmore, J. S., Dodson, A. T. and Mottram, D. S.,** 2006, Effect of citric acid and glycine addition on acrylamide and flavor in a potato model system, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,54:5976-5983.
- Marconi, O., Bravi, E., Perretti, G., Martini, R., Montanaria, L. and Fantozzi, P.,** 2010, Acrylamide risk in food products: The shortbread case study, *Analytical Methods*, 2:1686-1691.
- Mastovska, K. and Lehotay, S. J.,** 2006, rapid sample preparation method for LC-MS/MS or GC-MS analysis of acrylamide in various food matrices, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,54:7001-7008.
- Matissek, R. and Raters, M.,** 2005, Analysis of acrylamide in food. Chemistry and Safety of Acrylamid in Food, edited by Friedman and Mottram, Springer Science-Business Media, Inc, 295-302.
- Mestagh, F., De Meulenaer, B., Van Peteghem, C., Cromphout, C. and Thas, O.,** 2004, Towards a better understanding in acrylamide formation, degradation and reduction in model systems (and foodstuffs), *Czech Journal of Food Sciences*, 22:11-14.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mestdagh, F., Lachat, C., Baert, K., Moons, E., Kolsteren, P., Peteghem, C. V. and De Meulenaer, B.,** 2007, Importance of a canteen lunch on the dietary intake of acrylamide, *Molecular Nutrition and Food Research*, 51:509-516.
- Mestdagh, F., De Wilde, T., Fraselle, S., Govaert, Y., Ooghe, W., Degroodt, J. M., Verhe, R., Peteghem, C. V. and Meulenaer, B. D.,** 2008a, Optimization of the blanching process to reduce acrylamide in fried potatoes, *LWT - Food Science and Technology*, 41:1648-1654
- Mestagh, F., Maertens, J., Cucu, T., Delporte, K., Peteghem, C. V. and Meulenaer, B. D.,** 2008b, Impact of additives to lower the formation of acrylamide in a potato model system through pH reduction and other mechanisms, *Food Chemistry*, 107:26-31.
- Mestdagh, F., De Wilde, T., Delporte, K., Peteghem, C. V. and De Meulenaer, B.,** 2008c, Impact of chemical pre-treatments on the acrylamide formation and sensorial quality of potato crisps, *Food Chemistry*, 106:914-922.
- Mondal, A. and Datta, A. K.,** 2008, Bread baking-A review, *Journal of Food Engineering*, 86:465-474.
- Morales, F. J. and Arribas-Lorenza, G.,** 2008, The formation of potentially harmful compounds in churros, a Spanish fried-dough pastry, as influenced by deep frying conditions, *Food Chemistry*, 109:421-425.
- Morales, F. J., Martin, S., Açar, Ö. Ç., Arribas-Lorenza, G. and Gökmen, V.,** 2009, Antioxidant activity of cookies and its relationship with heat-processing contaminants: a risk/benefit approach, *European Food Research and Technology*, 228:345-354.
- Motwani, H. V. and Törnqvist M.,** 2011, Quantitative analysis by liquid chromatography–tandem mass spectrometry of glycidamide using the cob(D)alamin trapping method: Validation and application to in vitro metabolism of acrylamide, *Journal of Chromatography A*, 1218:4389-4394.
- Mottram, D. S. and Friedman, M.,** 2008, Symposium on the Chemistry and Toxicology of Acrylamide, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:5983.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mucci, L., Dickman, P., Steineck, G., Adami, H. and 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. A., Lindblad, P., Steineck, G. and Adam, H.,** 2004, Dietary acrylamide and risk of renal cell cancer, *International Journal of Cancer*, 109:774-776.
- Muhlendahl, E. K. and Otto, M.,** 2003, Acrylamide: more than just another food toxicant? *European Journal of Pediatrics*, 162:447-448.
- Mulla, M. Z., Bharadwaj, V. R., Annapure, U. S. and Singhal, R. S.,** 2011a, Effect of formulation and processing parameters on acrylamide formation: A case study on extrusion of blends of potato flour and semolina, *LWT - Food Science and Technology*, 44:1643-1648.
- Mulla, M. Z., Bharadwaj, V. R., Annapure, U. S., Variyar, P. S., Sharma, A. and Singhal, R. S.,** 2011b, Acrylamide content in fried chips prepared from irradiated and non-irradiated stored potatoes, *Food Chemistry*, 127:1668-1672.
- Murkovic, M.,** 2004, Acrylamide in Austrian foods, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 61:161-167.
- Mustafa, A., Fink, M., Kamal-Eldin, Petersson, E. V., Andersson, R. and Åmana, P.,** 2008, Effect of extraction pH on acrylamide content in fresh and stored rye crisp bread, *Food Chemistry*, 21:351-355.
- Mustafa, A., Fink, M., Kamal-Eldin, A. K., Rosén, J., Andersson, R. and Åmana, P.,** 2009, Interaction effects of fermentation time and added asparagine and glycine on acrylamide content in yeast-leavened bread, *Food Chemistry*, 112:767-774.
- Nemoto, S., Takatsuki, S., Sasaki, K. and Maitani, T.,** 2002, Determination of acrylamide in foods by GC/MS using ¹³C-labeled acrylamide as an internal standard, *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 43:371-376.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nielsen, N. J., Granby, K., Hedegaard, R. V. and Skibsted, L. H.,** 2006, A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous analysis of acrylamide and the precursors, asparagine and reducing sugars in bread, *Analytica Chimica Acta*, 557:211-220.
- Olsson, K., Svensson, R. and Roslund, C. A.,** 2004, Components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: variation by variety, year, storage temperature and storage time, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84:447-458.
- Ono, H., Chuda, Y., Ohnishi-Kameyama, M., Yada, H., Ishizaka, M., Kobayashi, H. and Yooshida, M.,** 2003, Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods, *Food Additives and Contaminants*, 20(3):215-220.
- Ou, S., Lin, Q., Zhang, Y., Huang, C., Sun, X. and Fu, L.,** 2008, Reduction of acrylamide formation by selected agents in fried potato crisps on industrial scale, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9:116-121.
- Ou, S., Shi, J., Huang, J., Zhang, G., Teng, J., Jiang, Y. and Yang, B.,** 2010, Effect of antioxidants on elimination and formation of acrylamide in model reaction systems, *Journal of Hazardous Materials*, 182:863-868.
- Ölmez, H., Tuncay, F., Özcan, N. and Demirel, S.,** 2008, A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market, *Journal of Food Composition and Analysis*, 21:564-568.
- Ötles, S. and Ötles, S.,** 2004a, Acrylamide in food (chemical structure of acrylamide), *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 3(5):723-730.
- Ötles, S. and Ötles, S.,** 2004b, Acrylamide in food (Formation of acrylamide and its damages to health), *Electronic Journal of Polish Agricultural Universitie*, 7(2): 1-12.
- Ötles, S. and Ötles, S.,** 2004c, Gıdalarda akrilamid: Akrilamid oluşumu ve sağlığa etkisi, *Toksikoloji Dergisi*, 2(3): 3-15.
- Ötles, S.,** 2007, Acrylamide and human health, *Case Studies in Food Safety and Environmental Health*, 6(1): 3-9.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Özkaynak, E.** 2006, Çeşitli pişirme tekniklerinin sigara böreğinde akrilamid oluşumu üzerine etkileri, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, Bornova İzmir, 111s.
- Özkaynak, E. ve and Ova, G.,** 2006, Akrilamid - Gıdalarda oluşan önemli bir kontaminant, *Türkiye 9. Gıda Kongresi 24-26 Mayıs 2006, Bolu.*
- Palazoğlu, T. K. and Gökmen, V.,** 2008, Reduction of acrylamide level in french fries by employing a temperature program during frying, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6162-6166.
- Palazoğlu, T. K., Savran, D. and Gökmen, V.,** 2010, Effect of cooking method (baking compared with frying) on acrylamide level of potato chips, *Journal of Food Science*, 75(1):25-29.
- Pardo, O., Yusà, V., Coscollà, C., León, N. and Pastor, A.,** 2007. Determination of acrylamide in coffee and chocolate by pressurised fluid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Food Additives and Contaminants*, 24(7):663-672.
- Paulsson, B., Granath, F., Grawe, J., Ehrenberg, L. and Tornqvist, M.,** 2001, The multiplicative model for cancer risk assessment: applicability to acrylamide, *Carcinogenesis*, 22(5):817-819.
- Pedreschi, F., Kaack, K. and Granby, K.,** 2004, Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 37:679-685.
- Pedreschi, F., Kaack, K. and Granby, K.,** 2006, Acrylamide content and color development in fried potato strips, *Food Research International*, 39:40-46.
- Pedreschi, F., Leon, J., Mery, D., Moyano, P., Pedreschi, R., Kaack, K. and Granby, K.,** 2007a, Color Development and acrylamide content of pre-dried potato chips, *Journal of Food Engineering*, 79:786-793.
- Pedreschi, F., Bustos, O., Mery, D., Moyano, P., Kaack, K. and Granby, K.,** 2007b, Colour kinetics and acrylamide formation in NaCl soaked potato chips, *Journal of Food Engineering*, 79:989-997.
- Pedreschi, F., Kaack, K. and Granby, K.,** 2008, The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries, *Food Chemistry*, 109:386-392.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pedreschi, F., Granby, K. and Risum, J.,** 2010a, Acrylamide mitigation in potato chips by using NaCl, *Food and Bioprocess Technology*, 3:917-921.
- Pedreschi, F., Segtnan, V. H. and Knutsen, S. H.,** 2010b, On-line monitoring of fat, dry matter and acrylamide contents in potato chips using near infrared interactance and visual reflectance imaging, *Food Chemistry*, 121:616-620.
- Pedreschi, F., Mariotti, S., Granby, K. and Risum, J.,** 2011, Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with conventional blanching, *LWT - Food Science and Technology* 44:1473-1476.
- Pelucci, C., Francheschi, S., Levi, F., Tricholopoulos, D. and Bosetti, C.,** 2003, Fried potatoes and human cancer, *International Journal of Cancer*, 105:558-560.
- Petersson, E. V., Ros´en, J., Turner, C., Danielsson, R. and Hellenˆas, K.,** 2006, Critical factors and pitfalls affecting the extraction of acrylamide from foods: An optimisation study, *Analytica Chimica Acta*, 557:287-295.
- Pittet, A., Perisset, A. and Oberson, J.,** 2004, Trace level determination of acrylamide cereal-based foods by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1035:123-130.
- Purlis, E.,** 2010, Browning development in bakery products - A review, *Journal of Food Engineering*, 99:239-249.
- Quayson, E. T. and Ayernor, G. S.,** 2007, Non-enzymatic browning and estimated acrylamide in roots, tubers and plantain products, *Food Chemistry*, 105:525-1529.
- Quan, Y., Chen, M., Zhan, Y. and Zhang, G.,** 2011, Development of an enhanced chemiluminescence ELISA for the rapid detection of acrylamide in food products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59:6895-6899.
- Ren, Y., Zhang, Y., Jiao, J., Cai, Z. and Zhang, Y.,** 2006, Isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry method for the determination of acrylamide in chocolate, *Food Additives and Contaminants*, 23(3):228-236.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rice, J. M.**, 2005, The carcinogenicity of acrylamide, *Mutation Research*, 580:3-20.
- Riediker, S. and Stadler, R. H.**, 2003, Analysis of acrylamide in food by isotope-dilution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1020:121-130.
- Roach, J. A. G., Andrzejewski, D., Gay, M. L., Nortrup, D. and Musser, S. M.**, 2003, Rugged LC-MS/MS survey analysis for acrylamide in foods, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:7547-7554.
- Rommens, C. M., Yan, H., Swords, K., Richael, C. and Ye, J.**, 2008, Low-acrylamide French fries and potato chips, *Plant Biotechnology Journal*, 6:843-853.
- Rosen, J. and Hellenas, K. E.**, 2002, Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Analyst*, 127:880-882.
- Rufian-Henares, J. A. and Morales, F. J.**, 2006, Determination of acrylamide in potato chips by a reversed-phase LC-MS method based on a stable isotope dilution assay, *Food Chemistry*, 97:555-562.
- Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L. and Törnqvist, M.**, 2003, Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:7012-7018.
- Sadd, P. A., Hamlet, C. G. and Liang, L.**, 2008, Effectiveness of methods for reducing acrylamide in bakery products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6154-6161.
- Sakamoto, J. and Hashimoto, K.**, 1986, Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice-effects on fertility and sperm morphology, *Archives of Toxicology*, 59:201-205.
- Sanny, M., Luning, P. A., Marcelis, W. J., Jinap, S. and Boekel, M. A. J. S. V.**, 2010, Impact of control behaviour on unacceptable variation in acrylamide in French fries, *Trends in Food Science and Technology*, 21:256-267.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Santis, N., Mendozai F., Moyanoa, P., Pedreschi, F. and Dejmek, P.,** 2007, Soaking in a NaCl solution produce paler potato chips, *LWT - Food Science and Technology*,40:307-312.
- Serpen, A. and Gökmen, V.,** 2007, Modeling of acrylamide formation and browning ratio in potato chips by artificial neural network, *Molecular Nutrition and Food Research*, 51:383-389.
- Serpen, A. and Gökmen, V.,** 2009, Evaluation of the maillard reaction in potato crisps by acrylamide, antioxidant capacity and colour, *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6):589-595.
- Shaikh, M. B., Tarade, K. M., Bharadwaj, V. R., Annapure, U. S. and Singhal, R. S.,** 2009, Effect of an alkaline salt (papad khar) and its substitute (2:1 sodium carbonate:sodium bicarbonate) on acrylamide formation in papads, *Food Chemistry*, 113:1165-1168.
- Sharp, D.,** 2003, Going Public on Acrylamide, *Journal of Health Communication*, 8:433-434.
- Shelby, M. D., Cain, K. T., Cornett, C.V. and Generoso, W. M.,** 1987, Acrylamide: Induction of heritable translocations in mal emice, *Environmental Mutagen*, 9:363-368.
- Shih, F. F., Boué, S. M., Daigle, K. W. and Shih, B. Y.,** 2004, Effects of flour sources on acrylamide formation and oil uptake in fried batters, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(3):265-268.
- Shin, D., Kim, C., Lee, Y., Choi, W., Na, Y. and Lee, K.,** 2010, Reduction of acrylamide by taurine in aqueous and potato chip model systems, *Food Research International*, 43:1356-1360.
- Studler, A., Blank, I. and Stadler, H.,** 2004, Thermal processing contaminants in foodstuffs and potential strategies of control, *Czech Journal of Food Sciences*, 22:1-10.
- Summa, C., Wenzl, T., Brohee, M., De La Calle, B. and Anklam, E.,** 2006, Investigation of the correlation of the acrylamide content and the antioxidant activity of model cookies, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,54:853-859.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Surdyk, N., Rosen, J., Andersson, R. and Aman, P.,** 2004, Effects of asparagine, fructose and baking conditions on acrylamide content in yeast-leavened wheat bread, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:2047-2051.
- Svensson, K., Abramsson, L., Becker, W., Glynn, A., Hellenas, K., Lind, Y. and Rosen, J.,** 2003, Dietary intake of acrylamide in Sweden, *Food and Chemical Toxicology*, 41:1581-1586.
- Svensson, K., Abramsson, L., Becker, W., Glynn, A., Hellenas, K., Lind, Y. and Rosen, J.,** 2003, Dietary intake of acrylamide in Sweden, *Food and Chemical Toxicology*, 41:1581-1586.
- Şenyuva, H. Z. and Gökmen, V.,** 2005a, Survey of acrylamide in Turkish foods by an in-house validated LC-MS method, *Food Additives and Contaminants*, 22(3):204-209.
- Şenyuva, H. Z. and Gökmen, V.,** 2005b, Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: Investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting, *Food Additives and Contaminants*, 22(3):214-220.
- Şenyuva, H.Z. and Gökmen, V.,** 2006, Interference-free determination of acrylamide in potato and cereal-based foods by a laboratory validated liquid chromatography–mass spectrometry method, *Food Chemistry*, 97: 539-545.
- Taeymans, D., Wood, J., Ashby, P., Blank, I., Studer, A., Starller, R.H., Gonde, P., Van Eijck, P., Laljie, S., Lingnert, H., Lindblom, M., Matissek, R., Muler, D., Tlimadge, D., O'Brien, J., Thornpson, S., Silvani, D. and Whitnore, T.,** 2004, A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation and control, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44:323-347.
- Takatsuki, S., Nemoto, S., Sasaki, K. and Maitani, T.,** 2003, Determination of acrylamide in processed foods by LC/MS using column switching, *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 44:89-95.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tardiff, R. G., Gargas, M. L., Kirman, C. R., Carson, M. L. and Sweeney, L. M.,** 2010, Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans, *Food and Chemical Toxicology*, 48:658-667.
- Tareke, E., Ryderbg, P., Eriksson, S. and Törnqvist, M.,** 2000, Acrylamide: A cooking carcinogen?, *Chemical Research in Toxicology*, 13:517-522.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson S. and Törnqvist, M.,** 2002, Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 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.
- Tareke, E., Lyn-cook, B., Robinson, B. and Ali, S. F.,** 2008, Acrylamide: A Dietary Carcinogen Formed in Vivo?, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6020-6023.
- Tateo, E. and Bononi, M.,** 2003, A GC/MS method for the routine determination of acrylamide in food, *Italian Journal of Food Science*, 15:149-151.
- Tateo, F., Bononi, M. and Andreoli, G.,** 2007, Acrylamide levels in cooked rice, tomato sauces and some fast food on the Italian market, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20:232-235.
- Tateo, T., Bononi, M. and Gallone, F.,** 2010, Acrylamide content in potato chips on the Italian market determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *International Journal of Food Science and Technology*, 45:629-634
- Taubert, D., Harlfinger, S., Henkes, L., Berkels, R. and Schömig, E.,** 2004, Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:2735-2739.
- Tritscher, A.,** 2004, Human health risk assesmentof processing-related compounds in food, *Toxicology Letters*, 149:177-186.
- Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J. and Taniguchi, H.,** 2004, Application of Ion-trap LC/MS/MS for Determination of Acrylamide in Processed Foods, *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 45(2):95-99.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tuncel, N. B., Yılmaz; N. and Şener, E.,** 2010, The effect of pea (*Pisum sativum* L.)-originated asparaginase on acrylamide formation in certain bread types, *International Journal of Food Science and Technology*, 45:2470-2476.
- Tuta, S, Palazoğlu, T. K. and Gokmen, V.,** 2010, Effect of microwave pre-thawing of frozen potato strips on acrylamide level and quality of French fries, *Journal of Food Engineering*, 97:261-266.
- Vass M., Amrein T. M., Schönbachler B., Esher F. and Amadom R.,** 2004, Ways to reduce the acrylamide formation in cracker products, *Czech Journal of Food Science*, 22:19-21.
- Vattem, D.A. and Shetty, K.,** 2003, Acrylamide in food: a model for mechanism and its reduction, *Innovations Food Science and Emerging Technology*, 4:331-338.
- Viklund, T., Ostliea, H., Lothe, O., Knutsen, S. H., Brathen, E. and Kita, A.,** 2006, Acrylamide in potato crisp-the effect of raw material and processing, *LWT - Food Science and Technology*,39:571-575.
- Viklund, G., Mendoza, F., Sjöholm, I. and Skog, K.,** 2007, An experimental set-up for studying acrylamide formation in potato crisps, *LWT - Food Science and Technology*,40:1066-1071.
- Viklund, G., Olsson, K. M., Sjöholm, I. M. and Skog, K.,** 2010, Acrylamide in crisps: Effect of blanching studied on long-term stored potato clones, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23:194-198.
- Vinci, R.M., Mestdagh, F., De Muera, N., Peteghem, C.V., De Meulenaer, B.,** 2010. Effective quality control of incoming potatoes as an acrylamide mitigation strategy for the French fries industry, *Food Additives and Contaminants*, 27(4):417-425.
- Wakaizumi, M., Yamamoto, H., Fujimoto, N. and Ozeki, K.,** 2009, Acrylamide degradation by filamentous fungi used in food and beverage industries, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108(5):391-393.
- Wenzl, T., Beatriz de la Calle, M. and Anklam, E.,** 2003, Analytical methods for the determination of acrylamide in food products; a review, *Food Additives and Contaminants*, 20(10):885-902.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wenzl, T., De la Calle, B., Gatermann, R., Hoenicke, K., Ulberth, F. and Anklam, E.,** 2004, Evaluation of the results from an inter-laboratory comparison study of the determination of acrylamide in crispbread and butter cookies, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379:449–457.
- Wenzl, T. and Anklam, E.,** 2007, European Union database of acrylamide levels in food: update and critical review of data collection, *Food Additives and Contaminants*, 24:5-12.
- Wenzl, T., Lachenmeier, D. W. and Gökmen, V.,** 2007, Analysis of heat-induced contaminants (acrylamide, chloropropanols and furan) in carbohydrate-rich food, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389:119-137.
- Wise, L. D., Gordon, L. R., Soper, K. A., Duchai, D. M. and Morissey, R. E.,** 1995, Developmental neurotoxicity evaluation of acrylamide in Sprague-Dawley rats, *Neurotoxicology and Teratology*, 17:189-198.
- Yaylayan, V., Wnorowski, A. and Locas, C.,** 2003, Why asparagin needs carbohydrates to generate acrylamide, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:1753-1757.
- Yuan, Y., Chen, F., Zhao, G. H., Liu, J., Zhang, H. X. and Hu, X. S.,** 2007, A comparative study of acrylamide formation induced by microwave and conventional heating methods, *Journal of Food Science*, 72(4):212-216.
- Yuan, Y., Zhao, G., Chen, F., Liu, J., Wua, J. and Hu, X.,** 2008, Correlation of methylglyoxal with acrylamide formation in fructose/asparagine maillard reaction model system, *Food Chemistry*, 108:885-890.
- Yusà, V., Quintás, Q., Pardo, A., Martí, P. and Pastor, A.,** 2006, Determination of acrylamide in foods by pressurized fluid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry used for a survey of Spanish cereal-based foods, *Food Additives and Contaminants*, 23(3):237-244.
- Zamora, R., Delgado, R. M. and Hidalgo, F. J.,** 2011, Strecker aldehydes and α -keto acids, produced by carbonyl–amine reactions, contribute to the formation of acrylamide, *Food Chemistry*, 128: 465-470.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zeng, X., Cheng, K. W., Jiang, Y., Lin, Z. X., Shi, J. J., Ou, S. Y., Chen, F. and Wang, M.,** 2009, Inhibition of acrylamide formation by vitamins in model reactions and fried potato strips, *Food Chemistry*, 116:34-39.
- Zeng, X., Cheng, K., Dua, Y., Kong, R., Lo, C., Chu, I.K., Chen, F. and Wang, F.,** 2010, Activities of hydrocolloids as inhibitors of acrylamide formation in model systems and fried potato strips, *Food Chemistry*, 121:424-428.
- Zhang, Y., Zhang, G. and Zhang, Y.,** 2005, Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods; review and recent developments, *Journal of Chromatography A*, 1075:1-21.
- Zhang, Y., Dong, Y. and Ren, Y.,** 2006, Rapid determination of acrylamide contaminant in conventional fried foods by gas chromatography with electron capture detector, *Journal of Chromatography A*, 1116:209-216.
- Zhang, Y. and Zhang, Y.,** 2007, Formation and reduction of acrylamide in maillard reaction: A review based on the current state of knowledge, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:521-542.
- Zhang, Y., Wang, J. and Zhang, Y.,** 2007a, Study on formation of acrylamide under low-moisture asparagine-sugar reaction system, *Food Chemistry*, 104:1127-1135.
- Zhang, Y., Ren, Y., Zhao, H. and Zhang, Y.,** 2007b, Determination of acrylamide in Chinese traditional carbohydrate-rich foods using gas chromatography with micro-electron capture detector and isotope dilution liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 584: 322-332.
- Zhang, Y. and Zhang, Y.,** 2008, Effect of natural antioxidants on kinetic behavior of acrylamide formation and elimination in low-moisture asparagine–glucose model system, *Journal of Food Engineering*, 85:105-115.
- Zhang, G., Huang, G., Xiao, L., Seiber, J., and Mitchell, A. E.,** 2011, Acrylamide formation in almonds (*Prunus dulcis*): Influences of roasting time and temperature, precursors, varietal selection, and storage, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59: 8225-8232.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zhou, X., Fan, L. Y., Zhang, W. and Cao, C. X.,** 2007a, Separation and determination of acrylamide in potato chips by micellar electrokinetic capillary chromatography, *Talanta*, 71:1541-1545.
- Zhou, Q. L., Zhang, Z. H. and Jing, Z. L.,** 2007b, Acrylamide, *Acta Crystallographica*, 63:3039.
- Zhu, Y., Li, G., Duan, Y., Chen, S., Zhang, C. and Li, Y.,** 2008, Application of the standard addition method for the determination of acrylamide in heat-processed starchy foods by gas chromatography with electron capture detector, *Food Chemistry*, 109:899-908.
- Zhu, F., Cai, Y., Keb, J. and Corke, H.,** 2010, Compositions of phenolic compounds, amino acids and reducing sugars in commercial potato varieties and their effects on acrylamide formation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 90:2254-2262.
- Zyzak, D., Sanders, R., Stokanovic, M., Tallmadge, D., Eberhart, B. and Ewald, D.,** 2003, Acrylamide formation mechanism in heated foods, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:4782-4787.

ÖZGEÇMİŞ



1980 yılında İzmir’de doğmuş, ilk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamlamıştır. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden 2002 yılında mezun olmuştur. 2003 yılında E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başlamıştır. 2006 yılında Yüksek Lisans öğrenimini tamamlamıştır. 2004 yılında Gıda, Tarım Hayvancılık Bakanlığı Ordu İl Müdürlüğüne atanmıştır. 2007 yılında İzmir Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğüne tayin olmuştur. 2008 yılında E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Doktora öğrenimine başlamıştır. Halen, İzmir Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde Moleküler Biyoloji biriminde çalışmaktadır.

EKLER

- EK 1 Laboratuvarda Pişirilen İzmir Gevrekleri**
- EK 1A Farklı Sıcaklık ve Sürelerde Pişirilen İzmir Gevrekleri
- EK 1B Farklı Sürelerde Kaynatılan Farklı Pekmez Çözeltilerine Daldırılarak
Pişirilen İzmir Gevrekleri
- EK 1C KCl İlave Edilerek Pişirilen İzmir Gevrekleri

EKLER

EK-1. LABORATUVARDA PIŞİRİLEN İZMİR GEVREKLERİ

EK 1A. Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen İzmir gevrekleri

İzmir gevrekleri şekil verildikten sonra, 75°C'daki üzüm pekmezi çözeltisine 10 s daldırıldıktan sonra 280, 285 ve 290°C'da pişirilmiştir.

- 280°C'da pişirilen İzmir gevrekleri 8,5; 10,0 ve 11,5 dakika pişirilmiştir.



280°C/8,5dk



280°C/10,0dk



280°C/11,5 dk

- 285°C'da pişirilen İzmir gevrekleri 8,0; 9,5 ve 11,0 dakika pişirilmiştir.



285°C/8,0dk



285°C/9,5dk



285°C/11,0 dk

- 290°C'da pişirilen İzmir gevrekleri 7,5; 9,0 ve 10,5 dakika pişirilmiştir.



290°C/7,5dk



290°C/9,0dk



290°C/10,5 dk

EK 1B. Farklı sürelerde kaynatılan farklı pekmez çözeltilerine daldırılarak pişirilen İzmir gevrekleri

İzmir gevrekleri 0, 4, 8, 12 saat kaynatılmış üzüm pekmezi, dut pekmezi ve yanık şeker çözeltisine, 290°C’da 9 dakika pişirilmiştir.

Üzüm pekmezine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevrekleri:



1.Piştirme



2.Piştirme



3.Piştirme



4.Piştirme

Dut pekmezine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevrekleri:



1.Piştirme



2.Piştirme



3.Piştirme



4 Piştirme

Yanık şeker çözeltisine daldırıldıktan sonra pişirilen İzmir gevrekleri:



1.Piştirme



2.Piştirme



3.Piştirme



4.Piştirme

EK 1C. KCl ilave edilerek pişirilen İzmir gevrekleri

Akrilamid oluşumunun önlenmesine yönelik çalışmalar kapsamında, İzmir gevreği hamuruna NaCl %25 ve %50 oranlarında azaltılarak, azaltılan miktar kadar KCl ilave edilmiştir.



%0 KCl

%25 KCl

%50 KCl