

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KATI FAZ EKTRAKSİYON METODU İLE LC/MSMS CİHAZI
KULLANILARAK İŞLENMİŞ GIDALARDA AKRİLAMİD TAYİNİ VE
ÇEŞİTLİ ÖN İŞLEMLERİN PATATES KIZARTMASINDAKİ AKRİLAMİD
OLUŞUMU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Aydın YILDIZ

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DIYARBAKIR

Kasım 2014

TEŞEKKÜR

Bu alıŐma boyunca maddi ve manevi anlamda desteğini gördüğüm fikirlerini, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve bu tezin ortaya çıkmasında büyük pay sahibi olan danışman hocam Doç.Dr. Sait ERDOĞAN'a saygı ve teŐekkürlerimi sunarım.

ÇalıŐmalarımı yaparken bana yardımcı olan mesai arkadaşlarım Gıda Mühendisleri Serap AKÇADAĞ YILDIZ ve Emine TANAMAN'a, İzmir Gıda Kontrol laboratuvarından Gıda Mühendisi Dr. Esra ALPÖZEN'e, yine çalıŐmam boyunca desteğini esirgemeyen Diyarbakır İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nda çalışan arkadaşım Gıda Mühendisi Nevzat BAYRAM'a, eğitim hayatım boyunca desteğini esirgemeyen arkadaşlarım Yrd. Doç.Dr. Hüseyin ALKAN ve Dr. Cezmi KAYAN'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Bu çalışmanın tamamlanabilmesi için gerekli olan alt yapıyı sundukları için Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Diyarbakır Gıda Kontrol Laboratuar Müdürlüğü'ne ve maddi manevi destek veren tüm mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatımın her anında desteklerini ve sevgilerini hissettiğim başta annem ve babam olmak üzere değerli aileme ve çalıŐmalarım sırasında bir süre ihmal ettiğim eşime teşekkür eder, biricik çocuklarım Elif Sude ile Muhammed Remzi'ye sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ABSTRACT	VII
ÇİZELGE LİSTESİ	IX
ŞEKİL LİSTESİ	X
KISALTMA VE SİMGELER	XII
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Gıdalarda Isıl İşlem	3
2.2. Akrilamid	4
2.2.1. Gıdalarda Akrilamid Oluşumu	6
2.2.2. Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizmaları	7
2.2.2.1. Maillard Reaksiyonu ile Akrilamid Oluşumu	9
2.2.2.2. Yağlardan Akrilamid Oluşumu	15
2.2.2.3. Akrolein ve Akrilik Asit Üzerinden Akrilamid Oluşumu	15
2.2.2.4. Asparajinin Enzimatik Dekarboksilasyonu ile Akrilamid Oluşumu	16
2.2.3. Akrilamidin Oluştığı Gıdalar	17
2.2.4. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler	19
2.2.4.1. Gıdadaki İndirgen Şekerlerin Etkisi	19
2.2.4.2. Gıdadaki Aminoasitlerin Etkisi	20
2.2.4.3. İşlem Süresinin ve Sıcaklığının Etkisi	21
2.2.4.4. Gıda Matriksinin Etkisi	23
2.2.4.5. Gıda pH'sının Etkisi	23
2.2.4.6. Gıda Neminin Etkisi	24
2.2.4.7. Depolama Koşullarının Etkisi	25
2.2.4.8. Kızartma İşleminde Kullanılan Yağın Etkisi	26
2.2.5. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Azaltma Yolları	27
2.2.5.1. Çeşitli Ön İşlemler Uygulanarak Akrilamid Oluşumunun Azaltılması	27
2.2.5.2. Ana Reaktantların Miktarının veya Çeşidinin Değiştirilmesi ile Akrilamid Miktarının Azaltılması	30
2.2.5.3. Çeşitli Katkı Maddeleri Eklenerek Akrilamid Miktarının Azaltılması	31
2.2.5.4. Sıcaklık ve Sürenin Değişimi ile Akrilamid Miktarının Azaltılması	32
2.2.6. Akrilamid'in İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	33

2.2.6.1. Akrlamid'in Kanserojen Etkisi	37
2.2.6.2. Akrlamid'in Üreme ve Gelişim Sistemi Üzerine Etkisi.....	38
2.2.6.3. Akrlamid'in Nörotoksik Etkisi.....	39
2.2.7. Gıdalarda Akrlamid'in Yasal Limiti	40
2.3. Akrlamid Analiz Yöntemleri	41
2.3.1. Kromatografi.....	42
2.3.1.1. Sıvı Kromatografisi.....	43
- Yüksek Basıncılı (Performanslı) Sıvı Kromatografisi (HPLC)	43
- İyon Değişirme Kromatografisi	46
- Size Exclusion (Eleme) Kromatografisi.....	47
- Chiral Ayırma Kromatografisi	47
2.3.1.2. Gaz Kromatografisi.....	47
2.3.2. Kütle Spektrometresi (MS)	48
2.3.3. Akrlamid Analizi için Sıvı Kromatografi Metodları.....	53
2.3.4. Akrlamid Analizi İçin Gaz Kromatografi Metodları	59
2.3.4.1. Brom Türevlendirmeli Gaz Kromatografisi Metodları	59
2.3.4.2. Brom Türevlendirmesiz Gaz Kromatografisi Metodları.....	61
2.3.5. Diğer Analiz Yöntemleri.....	64
3. MATERYAL VE METOT	65
3.1. Materyal	65
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	65
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler.....	70
3.2. Metot	72
3.2.1. Katı Faz Ekstraksiyon (SPE) Metodu.....	73
3.2.1.1. SPE Metodunda Maddelerin Ayrılma Prensipleri.....	73
3.2.1.2. SPE Metodunun Diğer Örnek Hazırlama Yöntemlerine, (özellikle sıvı-sıvı ekstraksiyonuna) Göre Avantajlı Yönleri	75
3.2.2. Kalibrasyon Standartlarının Hazırlanması	78
3.2.3. Metodun LOD, LOQ, Geri Kazanım ve Ölçüm Belirsizliğinin Belirlenmesi	81
3.2.3.1. Teşhis Limiti (LOD)-Tespit Limiti (LOQ) Değerlerinin Belirlenmesi.....	81
3.2.3.2. % Geri Kazanım Değerinin Belirlenmesi	81
3.2.3.3. Ölçüm Belirsizliğinin Belirlenmesi	84
3.2.3.4. Linearity (Doğrusallık)	86
3.3.3. Kromatografik Koşullar	86

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	89
4.1. Piyasadan Örneklerin Toplanarak Analiz Edilmesi	90
4.1.1. Bisküvi-Bebe Bisküvisi Çalışma Sonuçları	90
4.1.2. Kraker Çalışma Sonuçları	91
4.1.3. Ekmek Çalışma Sonuçları.....	92
4.1.4. Simit Çalışma Sonuçları.....	93
4.1.5. Hazır Kek Çalışma Sonuçları.....	94
4.1.6. Bebek Maması (Tahıl Bazlı) Çalışma Sonuçları.....	95
4.1.7. Kavrulmuş Kahve Çalışma Sonuçları	96
4.1.8. Kavrulmuş Kuruyemiş Çalışma Sonuçları.....	97
4.1.9. Patates-Mısır Cipsi Çalışma Sonuçları	99
4.1.10. Diyarbakır Kadayıfı Çalışma Sonuçları.....	100
4.1.10.1. Diyarbakır Kadayıfının Tarihçesi	100
4.1.10.2. Diyarbakır Kadayıfının Yapılışı.....	100
4.1.10.3. Diyarbakır Kadayıfının Ayırt Edici Özellikleri	102
4.2. Çeşitli Ön İşlemlerin Patates Kızartmasındaki Akrilamid Miktarı Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi.....	104
4.2.1. Birinci Grup Çalışması ve Yorumlanması	106
4.2.2. İkinci Grup Çalışması ve Yorumlanması.....	108
4.2.3. Üçüncü Grup Çalışması ve Yorumlanması.....	109
4.2.4. Genel Değerlendirme	111
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	121
6. KAYNAKLAR	123
EKLER	139
ÖZGEÇMİŞ.....	143

ÖZET

KATI FAZ EKTRAKSİYON METODU İLE LC/MSMS CİHAZI KULLANILARAK İŞLENMİŞ GIDALARDA AKRİLAMİD TAYİNİ VE ÇEŞİTLİ ÖN İŞLEMLERİN PATATES KIZARTMASINDAKİ AKRİLAMİD OLUŞUMU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Aydın YILDIZ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2014

Bu araştırmanın 1. kısmında, 2002 yılına kadar gıdalarda olduğu bilinmeyen Akrilamid maddesi araştırılmıştır. Bunun için piyasadan akrilamid oluşma potansiyeli olan ürünler (**bisküvi, bebe bisküvisi, çubuk kraker, hazır kek, Türk Kahvesi, patates cipsi, simit, ekmek, kavrulmuş badem, kavrulmuş fındık, kavrulmuş yer fıstığı, sarı leblebi, sade leblebi, kabak çekirdeği, kaju ve Diyarbakır Kadayıfı**) temin edilerek katı faz ekstraksiyon yöntemi (SPE) ile LC/MSMS cihazında analiz edilmiştir. Analiz metodu için daha önce yapılan benzer çalışmalar incelenmiş ve modifiye edilerek yeni bir metod oluşturulmuştur. Metodun teşhis (LOD) ve tespit (LOQ) limitleri sırasıyla 3,50 µg/kg ve 11,67 µg/kg olarak bulunmuştur. Geri kazanım oranı fapastan temin edilen T3037QC kodlu kalite kontrol materyali kullanılarak % 101,79 olarak bulunmuştur. Geri kazanım oranı için ayrıca standart ekleme metodu kullanılmış ve buradaki geri kazanım oranı da % 97,90 olarak bulunmuştur. Metodun rölatif ölçüm belirsizliği % 4,13 olarak bulunmuştur. Çalışmalar 3 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve ortalama olarak sonuç verilmiştir. Çalışmalardan elde edilen veriler ne Türkiye’de ne de Avrupa’da hala resmi bir Akrilamid ‘**Maksimum Kalıntı Limitleri**’ yönetmeliği olmadığı için Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)’nin 2007-2008 yılları

arasında gerçekleştirdiği ‘Gıdalarda Akrilamid İzleme Programı’ verilerinden yola çıkarak çok tüketilen bazı gıdalarda akrilamid için ‘Gösterge Değerler’ adı altında oluşturduğu liste baz alınarak yorumlanmıştır. Sonuç olarak bazı ürünlerin akrilamid miktarları bu listedeki değerleri geçerken, bazı ürünlerin akrilamid miktarlarının bu değerlerin altında kaldığı görülmüştür .

Araştırmanın 2. kısmında, halk arasında çok tüketilen ve kızartılınca akrilamid oluşma potansiyeli yüksek bir ürün olan patatese, kızartılmadan önce çeşitli ön işlemler (oda sıcaklığındaki distile suda farklı sürelerde bekletme, 70°C’deki distile sıcak suda farklı sürelerde bekletme, çeşitli konsantrasyonlarda NaCl ve CaCl₂ içeren oda sıcaklığındaki distile suda bekletme ve çeşitli konsantrasyonlarda NaCl ve CaCl₂ içeren 70°C’deki distile sıcak suda bekletme) uygulanarak, oluşan akrilamid miktarını azaltma yöntemleri araştırılmıştır. Tüm kızartma işlemleri 170°C’de 7 dakika kızartılarak gerçekleştirilmiş olup ayrıca, 170, 180 ve 190°C’de de ön işlem uygulanmamış patatesler 7 dakika kızartılmış ve sıcaklığın da akrilamid oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Bu çalışma için sıcaklık dereceli patates kızartma makinası (fritöz), patates kesme makinası, 2 lt hacminde dereceli ve kapaklı pvc kap, 200°C’ye kadar ölçebilen termometre ve temel mutfak araç-gereçleri kullanılmıştır. Kızartma yağı olarak ayçiçeği yağı kullanılmıştır.

Sonuç olarak patatese kızartılmadan önce uygulanan toplam 20 ayrı yönteminde az ya da çok Akrilamid miktarında azalmaya sebep olduğu ve hem görsel hem de akrilamid azaltma oranıyla en etkili yöntemin ‘**5g/L NaCl ve 70°C su içinde 7 dakika bekletme**’ olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, LC/MSMS, SPE

ABSTRACT

DETERMINATION OF ACRYLAMIDE IN PROCESSED FOODS BY SOLID PHASE EXTRACTION METHOD USING A LC/MSMS INSTRUMENT AND INFLUENCE OF VARIOUS PRETREATMENTS ON ACRYLAMIDE FORMATION IN POTATO FRYING

Ph.D. THESIS

Aydın YILDIZ

UNIVERSITY OF DICLE

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

In the first part of this study, acrylamide, whose formation in foods had not been known until 2002, was investigated. For this purpose, products having potential of acryl amide formation (**biscuit, baby biscuit, stick cracker, ready cake, Turkish Coffee, potato chip, bagel, bread, roasted almond, roasted hazelnut, roasted peanut, yellow roasted chickpea, plain roasted chickpea, pumpkin seed, cashew and Diyarbakır kadayıf**) were obtained from market and analyzed by solid state extraction method using LC/MSMS instrument. To find a proper analysis method, a variety of studies and reports were investigated and modified to develop a new method. Detection limit (LOD) and quantification limit (LOQ) of the method were found to be 3,50 µg/kg and 11,67 µg/kg, respectively. Ratio of the recovery was found as 101,79 % by using T3037QC coded quality control material obtained from fapas. In addition, standard addition method was employed for recovery and this ratio was found as 97,90. The relative measurement uncertainty of method was found to be % 4,13. Studies were carried out three parallel and the results were given as average. The results were interpreted in terms of a list called “**Indicative Value**” for some of the most consumed foods starting from data of “**Monitoring Program of Acryl amide in Foods**” carried out by European Commission (EC) European Food Safety Agency (EFSA) between 2007 and 2008, since neither in Turkey nor in

Europe there have still been no an official regulation of “**Maximum Residue Limit**” for acryl amide. Consequently, some results exceeded these values, while some of them less than them.

In the second part of the study, various pretreatments (holding in distilled water for different times at room temperature, holding in distilled water for different times at 70°C, holding in distilled water containing NaCl and CaCl₂ at different concentrations for different times at room temperature and holding in distilled water containing NaCl and CaCl₂ for different times at 70°C) were applied to potato, which is very popular and consumed product, and has a great potential of acrylamide formation when it is fried, before drying to investigate methods for reducing amount of acryl amide formation. All drying processes were performed at 170°C for 7 min, except those were not pretreated which were dried at 170, 180 and 190°C for 7 min to study effect of temperature on acrylamide formation.

A temperature graduated potato drying machine (chip pan), a potato cutting machine, a graduated and capped PVC container of 2 lt volume, a thermometer capable of measure up to 200°C and basic kitchen equipment were used in the study. Sunflower oil was employed as the drying oil.

In conclusion, it was determined that totally 20 different methods applied to potato before drying cause a reduce in amount of acryl amide more or less, and the most efficient method as both visual and ratio of acryl amide reduction was ‘**holding it in water containing 5g/L NaCl at 70°C for 7 min**’.

Keywords: Acrylamide, LC-MSMS, SPE

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2. 1. Akrilamidin bazı polar ve apolar çözücülerdeki çözünürlüğü	4
Çizelge 2. 2. Akrilamidin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	5
Çizelge 2. 3. Yapılan bazı çalışmalarda bulunan akrilamid düzeyleri	18
Çizelge 2. 4. Patates nişastası ve sudan oluşan gıda sistemlerinin ısıtılması ile aminoasitler ve D-glukozdan oluşan akrilamid miktarları	21
Çizelge 2. 5. Gıdalarda gösterge akrilamid değerleri.....	40
Çizelge 2. 6. Avrupa Birliği üyesi ülkelerde akrilamid analizi için kullanılan yöntemler.....	42
Çizelge 2. 7. Çeşitli numune enjeksiyon sistemleri ve özellikleri	49
Çizelge 2. 8. Gıdalarda akrilamid analizi ile ilgili LC, LC-MS ve LC-MSMS cihazları ile yapılan bazı çalışmalar.....	55
Çizelge 2. 9. Gıdalarda akrilamid analizi ile ilgili GC, GC-MS ve GC-MSMS cihazları ile yapılan bazı çalışmalar	62
Çizelge 3. 1. SPE metodunda sıklıkla kullanılan çözücüler ve polariteleri	76
Çizelge 3. 2. Akrilamid analizlerinde kullanılan SPE kartuşlar ve özellikleri	76
Çizelge 3. 3. Akrilamid ve D ₃ -akrilamid standartlarının hazırlanışı.....	78
Çizelge 3. 4. Metodun LOD ve LOQ değerleri.....	81
Çizelge 3. 5. Fapas çalışması % geri kazanım değeri	82
Çizelge 3. 6. Akrilamid analiz metodunun ölçüm belirsizliği	85
Çizelge 4. 1. Gıdalarda akrilamid için gösterge değerleri.....	89
Çizelge 4. 2. Bisküvi-Bebe bisküvisi çalışma sonuçları	90
Çizelge 4. 3. Kraker çalışma sonuçları	91
Çizelge 4. 4. Ekmek çalışma sonuçları	92
Çizelge 4. 5. Simit çalışma sonuçları	93
Çizelge 4. 6. Hazır kek çalışma sonuçları.....	94
Çizelge 4. 7. Bebek maması (tahıl bazlı) çalışma sonuçları	95
Çizelge 4. 8. Kavrulmuş kahve çalışma sonuçları	96
Çizelge 4. 9. Kavrulmuş kuruyemiş çalışma sonuçları	98
Çizelge 4. 10. Patates-mısır cipsi çalışma sonuçları	99
Çizelge 4. 11. Diyarbakır kadayıfı çalışma sonuçları	103
Çizelge 4. 12. Patates çalışma planı ve uygulanan ön işlemler.....	105
Çizelge 4. 13. Patates çalışması 1. grup sonuçları	106
Çizelge 4. 14. Patates çalışması 2. grup sonuçları	108
Çizelge 4. 15. Patates çalışması 3. grup sonuçları	109

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1. Gıdalarda termal proses sırasında gerçekleşen olaylar	3
Şekil 2. 2. Akrilamid'in Moleküler Yapısı	5
Şekil 2. 3. Farklı Şekillerde Akrilamid Oluşum Mekanizmaları	9
Şekil 2. 4. Maillard reaksiyonu ile Aroma oluşumunun basitleştirilmiş şeması	12
Şekil 2. 5. Maillard Reaksiyonu.....	13
Şekil 2. 6. Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu	14
Şekil 2. 7. Asparajinin enzimatik dekarboksilasyonu ve akrilamid oluşumu	16
Şekil 2. 8. Akrilamidin glisidamide dönüşümü	36
Şekil 2. 9. HPLC cihazının şematik gösterimi	45
Şekil 2. 10. Kütle Spektrometresi Blok Diyagramı.....	48
Şekil 2. 11. ESI iyon kaynağı çalışma prensibi şematik gösterimi	51
Şekil 2. 12. ESI iyon kaynağı dış görünümü.....	51
Şekil 2. 13. Kütle analizörü şematik diyagramı	52
Şekil 2. 14. Akrilamidin türevlerine ait spektrumlar.....	60
Şekil 3. 1. Akrilamid analizlerinin yapıldığı Agilent 6460 LC/MSMS cihazı.....	65
Şekil 3. 2. pH Metre Cihazı	66
Şekil 3. 3. Santrifüj Cihazı.....	66
Şekil 3. 4. Vorteks Karıştırıcı.....	67
Şekil 3. 5. Hassas Terazî	67
Şekil 3. 6. Ultrasonik Su Banyosu	68
Şekil 3. 7. Blender.....	68
Şekil 3. 8. Orbital çalkalayıcı.....	69
Şekil 3. 9. Pipet Standı.....	69
Şekil 3. 10. Katı faz ekstraksiyon (SPE) süzme düzeneği ve yapısı.....	76
Şekil 3. 11. Akrilamid kalibrasyon standartlarının bindirilmiş kromatogramları	79
Şekil 3. 12. Akrilamid kalibrasyon standartlarının kromatogramları ve spektrumları.....	80
Şekil 3. 13. Standart ekleme metodu kalitatif kromatogram ve spektrum	83
Şekil 3. 14. Standart ekleme metodu kantitatif kromatogram ve spektrum	83
Şekil 3. 15. Akrilamid Analizinde muhtemel gelebilecek belirsizlik kaynakları.....	84
Şekil 3. 16. Akrilamid kalibrasyon grafiği.....	86
Şekil 3. 17. HPLC cihazında binary pump değerleri	87
Şekil 3. 18. MS/MS cihazında source parametreleri.....	87
Şekil 3. 19. MS/MS cihazında acquisition optimizasyon değerleri	87
Şekil 4. 1. Bisküvi örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu	91

Şekil 4. 2. Kraker örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu.....	92
Şekil 4. 3. Ekmek örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu	93
Şekil 4. 4. Simit örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu	94
Şekil 4. 5. Hazır kek örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu	95
Şekil 4. 6. Bebek maması (tahıl bazlı) örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu	96
Şekil 4. 7. Kahve örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu	97
Şekil 4. 8. Kavrulmuş kuru yemiş örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu ..	97
Şekil 4. 9. Patates-mısır cipsi örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu.....	99
Şekil 4. 10. Diyarbakır Burma Kadayıfı	102
Şekil 4. 11. Diyarbakır Kadayıfı örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu...	103
Şekil 4. 12. P ₁ ,P ₂ ve P ₃ 'ün kızartılmadan sonraki son halleri	107
Şekil 4. 13. P ₄ ,P ₅ ,P ₆ ve P ₇ 'nin referans değer P ₂ 'ye göre görsel kıyaslaması	107
Şekil 4. 14. P ₉ ,P ₁₀ ,P ₁₁ ,P ₁₂ ,P ₁₃ ,P ₁₄ ,P ₁₅ ve P ₁₆ 'nın referans değer P ₈ 'ye göre görsel kıyaslaması.	109
Şekil 4. 15. P ₁₈ ,P ₁₉ ,P ₂₀ ,P ₂₁ ,P ₂₂ ,P ₂₃ ,P ₂₄ ve P ₂₅ 'in referans değer P ₁₇ 'ye göre görsel kıyaslaması	110
Şekil 4. 16. Üç grup çalışma sonuçlarına göre akrilamid miktarında en yüksek azalmayı gösteren ön işlemlerin (P ₇ ,P ₁₄ ve P ₂₄) görselleri.....	111
Şekil 4. 17. P ₂₄ ve P ₂₅ 'in görsel kıyaslaması	112
Şekil 4. 18. P ₁ -P ₂ -P ₃ -P ₄ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları	113
Şekil 4. 19. P ₅ -P ₆ -P ₇ -P ₈ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları	114
Şekil 4. 20. P ₉ -P ₁₀ -P ₁₁ -P ₁₂ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları.....	115
Şekil 4. 21. P ₁₃ -P ₁₄ -P ₁₅ -P ₁₆ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları	116
Şekil 4. 22. P ₁₇ -P ₁₈ -P ₁₉ -P ₂₀ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları	117
Şekil 4. 23. P ₂₁ -P ₂₂ -P ₂₃ -P ₂₄ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları	118
Şekil 4. 24. P ₂₅ kodlu patates örneğini kromatogram ve spektrumu	119

KISALTMA VE SİMGELER

ADI	: Acceptable Daily Intake
ALARA	: As Low As Reasonably Achievable
APA	: Aminopropiyonamid
APCI	: Atmospheric Pressure Chemical İonization
BHT	: Butilhidroksitoluen
CAS	: Chemical Abstracts Service
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CI	: Chemical İonization
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EC	: European Commission
EFSA	: European Food Safety Authority
EI	: Elektron Impact İyonizasyon
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EPA	: Environmental Protection Agency
ESI	: Elektrospray İyon Kaynağı
FAB	: Fast Atom Bombardment
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	: Food and Drug Administration
GC	: Gas Chromatography
GC/MSMS	: Mass Spectrometry with Gas Chromatography
HBr	: Hidrojen Bromür
HMF	: Hidroksi Metil Furfural
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
JIFSAN	: Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition
KBr	: Potasyum Bromür
LC/MSMS	: Mass Spectrometry with Liquid Chromatography
LD ₅₀	: Lethal Doz 50
LOD	: Limit of Dedection
LOQ	: Limit of Quantification
MALDI	: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
MRM	: Multiple Reaction Monitoring
MS	: Mass Spectrometry

NCI	: Negative Chemical Ionization
NIH	: National Institutes of Health
NIR	: Near Infrared Specktroscopy
NOAEL	: No Observed Advers Effect Level
NTP	: National Toxicology Program
PAH	: Poli Aromatik Hidrokarbon
PCI	: Positive Chemical Ionization
pH	: Power of Hidrojen
r^2	: Correlation Coefficient
RPM	: Revolutions per minute
RSD	: Relatif Standart Sapma
SCF	: Scientific Committee on Food
SIM	: Selected Ion Monitoring
WHO	: World Health Organization

1. GİRİŞ

Akrilamid (2-propenamid- $\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$) erime noktası 84.5°C , kaynama noktası 192.6°C , yoğunluğu 30°C ' de 1.122 g/mL , molekül kütlesi 71.08 g/mol olan, beyaz renkli katı bir kristaldir.

Akrilamid, sanayide kullanılan poliakrilamid sentezinde monomer olarak yer almaktadır (Lingnert ve ark. 2002). Poliakrilamid atık ve içme sularında bulunan parçacık ve kirliliklerin uzaklaştırılmasında yararlanılan bir kimyasal olup, kâğıt, boya yapıştırıcı, tekstil sanayisi ile kozmetik ürünleri yapımında kullanılmaktadır (Vattem ve Shetty 2003). Poliakrilamid malzemeler çok az miktarda akrilamid içermekle beraber bu akrilamid suya veya gıdaya temas yoluyla geçebilmektedir (Tritscher 2004).

Daha önceleri akrilamidin sadece poliakrilamid sentezinde kullanıldığı düşünülürken, 2002 yılında İsveç Ulusal Gıda Örgütü (Swedish National Food Administration) ve Stockholm Üniversitesi birlikte yaptıkları çalışmanın sonuçlarını Upsala'da açıklamışlardır. Bu sonuçlara göre; Akrilamid, nişasta bazlı gıdaların ısıtma işlem görmesi sonucu kendiliğinden oluşabilmektedir (Tareke ve ark. 2002), (Ren ve ark. 2006), (Doğan ve Meral 2006), (Özkaynak ve Ova 2006), (Göbel ve Kliemant 2007), (Capuano ve Fogliano 2011), (Keramat ve ark. 2011a).

Yıllardan beri gıdaların işlenmesi amacıyla ısıtma işlem uygulanmaktadır. Isıtma işlem görmüş gıdalarda meydana gelen en önemli reaksiyon, esmerleşme reaksiyonu olarak da bilinen Maillard reaksiyonudur. Maillard reaksiyonu, gıdalarda istenen bazı özellikleri sunmasının yanı sıra, birtakım zararlı bileşiklerin de oluşumuna yol açabilmektedir. Akrilamid de bu istenmeyen zararlı bileşiklerden biridir.

Akrilamidin bu şekilde nişasta bazlı gıdalarda ısıtma işlem sonrası tespit edilmesi büyük yankı bulmuştur. Bunun nedeni, bu monomerin kemirgenler için kanıtlanmış kanserojen ve insanlar için kanıtlanmış nörotoksin etkisidir. Ayrıca Akrilamid 1994 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından, Grup 2A 'İnsanda kanserojenik etki yapma olasılığı bulunan bileşikler' sınıfına konulmuştur (IARC 1994).

Akrilamidin gıdalarda oluşumunu gıdanın bileşimi ve ısıtma işlem koşulları etkilemektedir. Nişasta bazlı ürünlerde ısıtma işlem denildiğinde akla Maillard

reaksiyonu ve dolayısıyla mailarda reaksiyonuna katılan asparajin ve karboniller gelmektedir. Asparajin tek başına çok fazla miktarda akrilamid oluşturma yeteneğine sahip değilken, asparajinin yanında karbonil varlığı ciddi miktarda akrilamid oluşumuna neden olmaktadır.

Akrilamidin, Maillard reaksiyonunun dışında okside olmuş lipidler, 3-APA (3-aminopropiyonamid) bileşiği, akrolein bileşiği ve azotlu bileşikler vasıtasıyla da oluştuğu ifade edilmektedir (Taeymans ve ark. 2004), (Ciesarova ve ark. 2006), (Knol ve ark. 2009), (Halford ve ark. 2011).

Akrilamidin patates kızartması, kızartılmış ekmek, kahvaltılık tahıllar, bisküvi, kraker, kuruyemiş (kavrulmuş), unlu mamuller, kahve, patlamış mısır ve şerbetli tatlılarda oluştuğu belirtilmektedir (Surdyk ve ark. 2004), (Zhang ve Zhang 2007), (Eerola ve ark. 2007), (Ölmez ve ark. 2008), (Gökmen ve Palazoğlu 2008), (Chen ve ark. 2008).

Gıdalardaki indirgen şekerler, yağlar, aminoasitler, karbonhidratça zengin matriksler, gıdanın nemi, pH'ı ve genetik faktörler gıdalarda oluşan akrilamid miktarını etkilemektedir (Claeys ve ark. 2005a), (De Vleeschouwer ve ark. 2009a), (Friedman ve Levin 2008).

Akrilamid dışarıdan eklenen bir katkı maddesi olmadığı ve çeşitli koşulların bir araya gelmesi sonucu kendiliğinden oluşmasından dolayı sınırlandırılması sıkıntılı ve dünyada ve ülkemizde üst limitleri henüz belirlenmemiş bir analittir.

Son 10 yıllık döneme baktığımızda genelde yapılan çalışmalar akrilamid analiz yöntemleri ile akrilamidin oluşumu ve azaltma yöntemleri üzerine yoğunlaşmıştır.

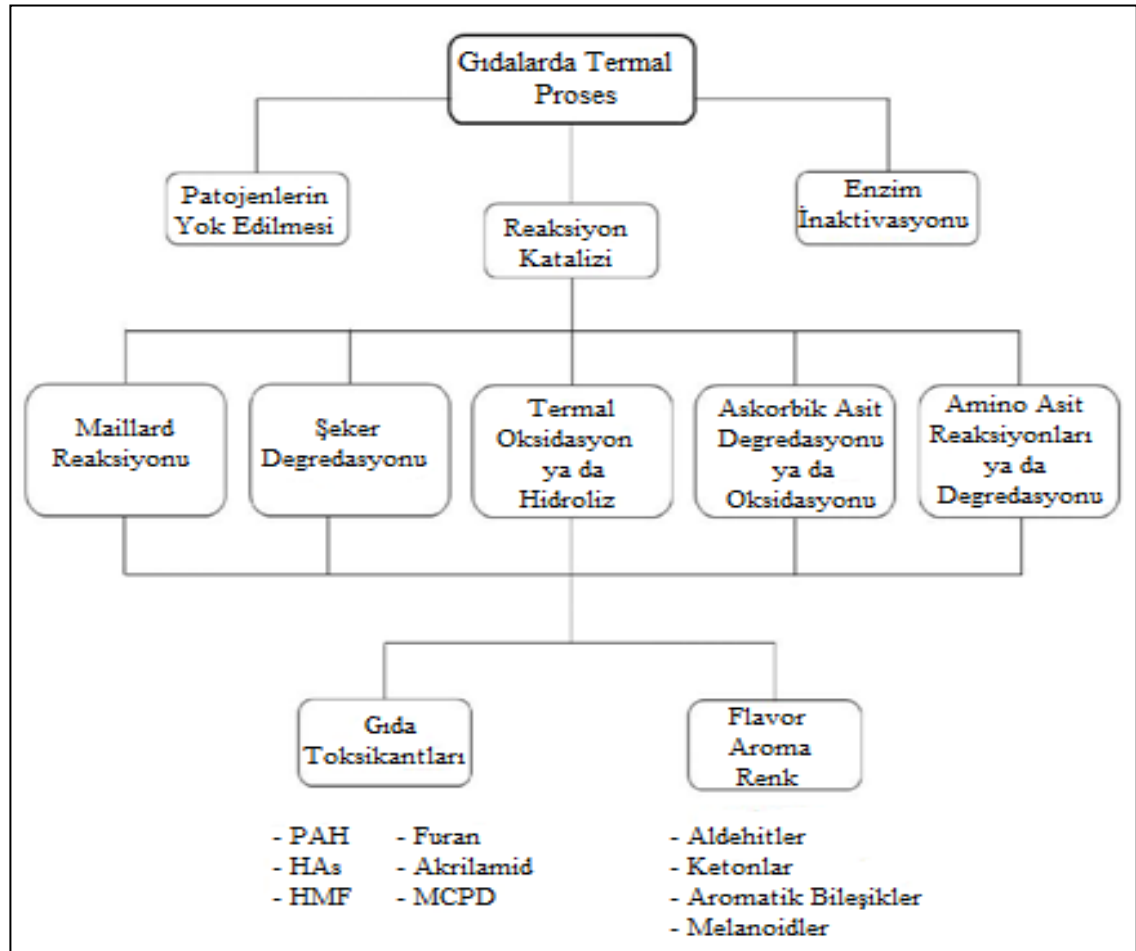
Yapılan çalışmalara bakıldığında, akrilamid analizi için sıklıkla kullanılan yöntemler Gaz Kromatografisi (GC), Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC/MS), Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (LC/MSMS)'dir (Wenzl ve ark. 2003).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Gıdalarda Isıl İşlem

Isıl işlemler (kızartma, fırında pişirme, kavurma, vb.), gıdaların duyuusal ve mikrobiyolojik kalitesini artırmada geçmişten bugüne kadar kullanılan en önemli tekniklerdendir. Bu işlemlerde gıda maddeleri 90°C ile 250°C arasında değişen sıcaklıklara maruz kalabilmektedir. Bu işlem bir taraftan gıdanın lezzet ve aromasını artırıcı rol üstlenirken diğer taraftan gıdaların besin değerini ve güvenliğini azaltan birtakım zararlı bileşiklerin (termal proses kontaminantları) oluşmasına sebebiyet verebilmektedir (Tritscher 2004).

Zararlı olan başlıca termal proses kontaminantları; Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, furan, heterosiklik aminler, akrilamid, hidrosimetilfurfural ve kloropropanollerdir.



Şekil 2. 1. Gıdalarda termal proses sırasında gerçekleşen olaylar (Kocadağlı 2011).

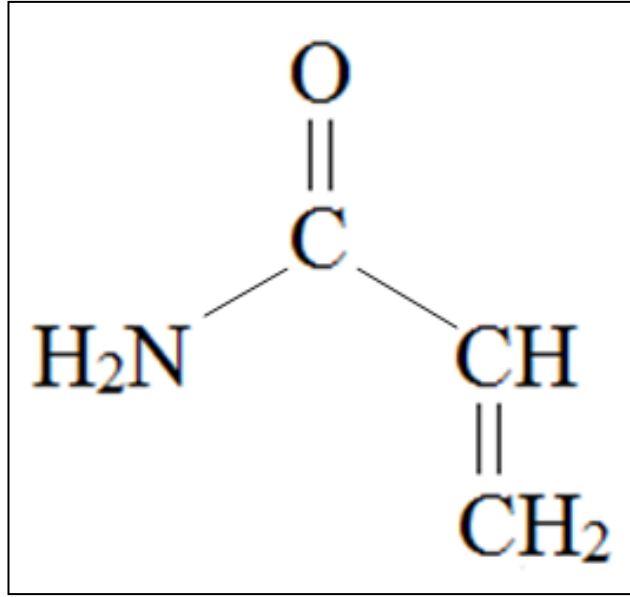
2.2. Akrilamid

IUPAC ismi 2-propenamid olan akrilamid ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$), oda sıcaklığında beyaz, kristal formda bir maddedir. Reaktif elektrofilik çift bağ ve amid grubu içeren akrilamid hem zayıf asidik hem de bazik özellik gösterebilmektedir.

Akrilamid ilk kez C. Maurea'a tarafından, 1893 yılında 10°C 'de akril klorürün doymuş benzen çözeltisine yavaş yavaş kuru amonyak eklenerek kaynatıldıktan sonra süzülerek amonyum klorürün uzaklaştırılması ve soğutulmuş akrilamidin çöktürülmesi ile elde edilmiştir (Aktaş 2008).

Çizelge 2. 1. Akrilamidin bazı polar ve apolar çözücülerdeki çözünürlüğü (Eriksson 2005)

Çözücüler	Çözünürlük (30°C 'de g/100ml)
Su	215.5
Metanol	155
Dimetilsülfoksit	124
Dimetilformamid	119
Etanol	86.2
Aseton	63.1
Piridin	61.9
Asetonitril	39.6
Etilen glikol monobutil eter	31
Dioksan	30
Etil asetat	12.6
Kloroform	2.66
Dikloroetan	1.50
Benzen	0.35
Karbontetraklorid	0.038
n-heptan	0.0068



Şekil 2. 2. Akrilamid'in moleküler yapısı

Çizelge 2. 2. Akrilamidin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Molekül Kütlesi	71,02 g/mol
Erime Noktası	84,5°C
Kaynama Noktası	192,6°C
Yoğunluk	1,13 g/cm ³
Cas Numarası	79-06-1

1950'lerden beri endüstriyel uygulamalarda kullanılan akrilamid sentetik bir monomerdur. Poliakrilamid gibi çeşitli polimerlerin üretiminde hammadde olarak kullanılmakta olup sigara dumanının bileşenlerinde de bulunmaktadır. Poliakrilamid, su ve atık su proseslerinde suyun arıtılmasında kullanılmasının yanı sıra pulp, kâğıt ve maden sanayisinde de kullanılan bir polimerdir (Lingnert ve ark. 2002).

Akrilamidin yapısında doymamış karbonil grubu olduğundan elektrofiliktir ve bu yüzden karboksilatlar, aminler ve tiyoller gibi biyolojik moleküllerde yaygın bulunan nükleofilik gruplarla kolaylıkla reaksiyona girebilir (Mills ve ark. 2009).

Akrilamid polimeri toksik özellik göstermezken, monomeri toksik özellik gösterebilmektedir (IARC 1994).

2.2.1. Gıdalarda Akrilamid Oluşumu

Sigara dumanında akrilamidin tespit edilmesi, biyolojik materyallerin ısıtılması sonucunda akrilamid oluşumunun bir göstergesi olmuştur. Isıl işlem görmüş gıdalarda tanımlanması ise kızartılmış yemler ile beslenen farelerde akrilamid ile hemoglobine arasındaki moleküler etkileşimin keşfedilmesine dayanmaktadır. Bunun sonucunda kızartılmış yemlerle beslenen farelerde hemoglobine bağlı akrilamid miktarı, kızartılmamış yemlerle beslenen farelerdeki hemoglobine bağlı akrilamid miktarına göre oldukça yüksek çıkmıştır (Tareke ve ark. 2000).

2002 yılının Nisan ayında Stokholm Üniversitesinden bir grup araştırmacı ve İsveç Ulusal Gıda İdaresi ortaklaşa basın açıklaması düzenleyerek nişastaca zengin gıdaların kızartılması veya fırında pişirilmesi sırasında yüksek miktarlarda akrilamid oluştuğunun tespit edildiğini deklare etmişlerdir. (Tareke ve ark. 2002). Bu açıklama kanserojenik bir monomer olan akrilamidin gıdalarda da oluştuğunun ilk tespiti olması münasebetiyle çok dikkat çekmiş ve akabinde dünyanın çeşitli yerlerindeki birçok araştırmacı birbirinden bağımsız olarak yaptıkları tarama çalışmalarında birçok gıda maddesinde değişik miktarlarda akrilamid tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Ahn ve ark. 2002), (Ono ve ark. 2003). Akrilamidin ısıl işlem görmüş çok sayıda gıda maddesinde tespit edilmesi tüm dünyada büyük ilgi görmüş ve konu '**ciddi problem**' olarak ele alınmıştır. Bunun başlıca sebebi, akrilamidin kemirgenler için kanıtlanmış kanserojen ve insanlar için kanıtlanmış nörotoksin etkisi ile Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından '**insan için olası kanserojen**' olarak sınıflandırılmış (grup 2A) olmasıdır (IARC 1994).

Isıl işlem görmüş nişasta bakımından zengin gıdalarda akrilamid tespit edildiğinin bildirilmesinin hemen sonra Avrupa Komisyonu (EC) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) akrilamid konusunda veritabanı oluşturma kararı almışlardır. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü (WHO) İsviçre'de 2002 yılının haziran ayında '**Gıdalarda Bulunan Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkileri**' konulu ortak toplantıda, gıdalardaki akrilamid varlığı hakkında uluslararası bir veritabanı kurulması gerektiğini bildirerek, tüm ilgili tarafları konuya ilişkin verilerini ve devam eden çalışmalarını paylaşmaya davet etmişlerdir. Bu çaba sonucunda Gıda Güvenliği ve Uygulamalı Beslenme Ortak Enstitüsü (JIFSAN), akrilamid ile ilgili

'<http://www.acrylamide-food.org>' adında resmi bir site açmıştır. Araştırmacılar buldukları analitik verileri bu web sitesi aracılığıyla WHO'ya ulaştırabilmektedirler.

Bunun yanı sıra Avrupa Komisyonu, halk sağlığı açısından muhtemel riskin değerlendirilmesi için Gıda Bilimsel Komitesi'ni (SCF) toplamıştır. Komite 3 Temmuz 2002'de yayınladığı bildiriye, gıda maddelerinde akrilamid miktarlarının ALARA (as low as reasonably achievable) prensibine uygun şekilde mümkün olan en düşük seviyelere indirilmesi gerektiğini, akrilamid miktarların düşürülmesi ve üst limitlerin belirlenmesi için daha fazla veriye ihtiyaç olduğunu bildirmiştir (EC SCF 2002).

Avrupa Komisyonu 20-21 Ekim 2003 tarihinde, Avrupa Birliği'ne üye ülkelerin temsilcileri, çeşitli gıda sektörleri temsilcileri ve tüketici temsilcilerinin bir araya geldiği bir toplantı düzenlemiştir. Bu toplantı neticesinde, toplantıya katılan temsilcilere gıdalarda oluşan akrilamid miktarlarının azaltılması için yapılması gereken şeyler öneri şeklinde bildirilmiştir.

2.2.2. Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizmaları

Isıl işleme tabi tutulan nişasta bazlı gıdalarda akrilamid varlığının tespitinin ardından akrilamid oluşumunda esas mekanizmanın şeker varlığında serbest asparajinin termal degradasyonunu kapsayan maillard reaksiyonu olduğu bildirilmiştir (Mottram ve ark. 2002), (Stadler ve ark. 2002, 2004), (Zyzak ve ark. 2003). Maillard reaksiyonu aynı zamanda enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak ta tanımlanmaktadır. Söz konusu reaksiyon karmaşık olmasına karşın, önemli lezzet ve aroma bileşiklerini oluşturması bakımından istenen bir reaksiyondur (Stadler ve ark. 2004).

Asparajinin akrilamid oluşumundaki etkisini daha iyi anlamak için yapılan bir çalışmada patates model sisteminde karbonil içeren bileşiklerin (glukoz, fruktoz, 2-deoksiglukoz, riboz, gliseraldehid, gloksal ve dekanal) akrilamid oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak karbonil kaynaklarının asparajin ile ısı etkisiyle tepkimesi sonucu akrilamid oluşturabileceği bulunmuştur (Zyzak ve ark. 2003).

İndirgen şeker olarak glukoz içeren sisteme asparajin, aspartik asit, glutamin, glutamik asit, valin ve lizin'den oluşan aminoasit karışımını ilave ederek 175°C'de yapılan çalışmada aspartik asit, glutamin ve lizin karışımında akrilamid oluşumunun gözlemlenmediği bildirmiştir (Becalski ve ark. 2003).

Asparajinin Maillard reaksiyonundaki önemini ortaya koymak üzere yapılan bir çalışmada asparajin ve diğer aminoasitlere glukoz ya da 2,3-bütandion (diasetil) varlığında 120-185°C sıcaklık aralığında ısıtma işlemi uygulanmış ve sadece asparajinin önemli ölçüde akrilamid oluşturduğu gözlemlenmiştir (Mottram ve ark. 2002).

Yapılan bir çalışmada ısıtma işlemi uygulanmamış gıdalarda akrilamid oluşumunun gerçekleşmediği, proteince zengin gıdalarda ısıtma işlemi sonrasında kabul edilebilir seviyede (5-50 ppb) akrilamid oluştuğu, karbonhidratça zengin gıdalarda ise çok daha yüksek seviyelerde (150-4000 ppb) akrilamid oluştuğu belirtilmiştir (Tareke ve ark. 2002). Bu durum karbonhidratça zengin gıdaların pişirilmeleri sırasında bazı reaksiyonların akrilamid oluşumundan sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır (Granda 2005).

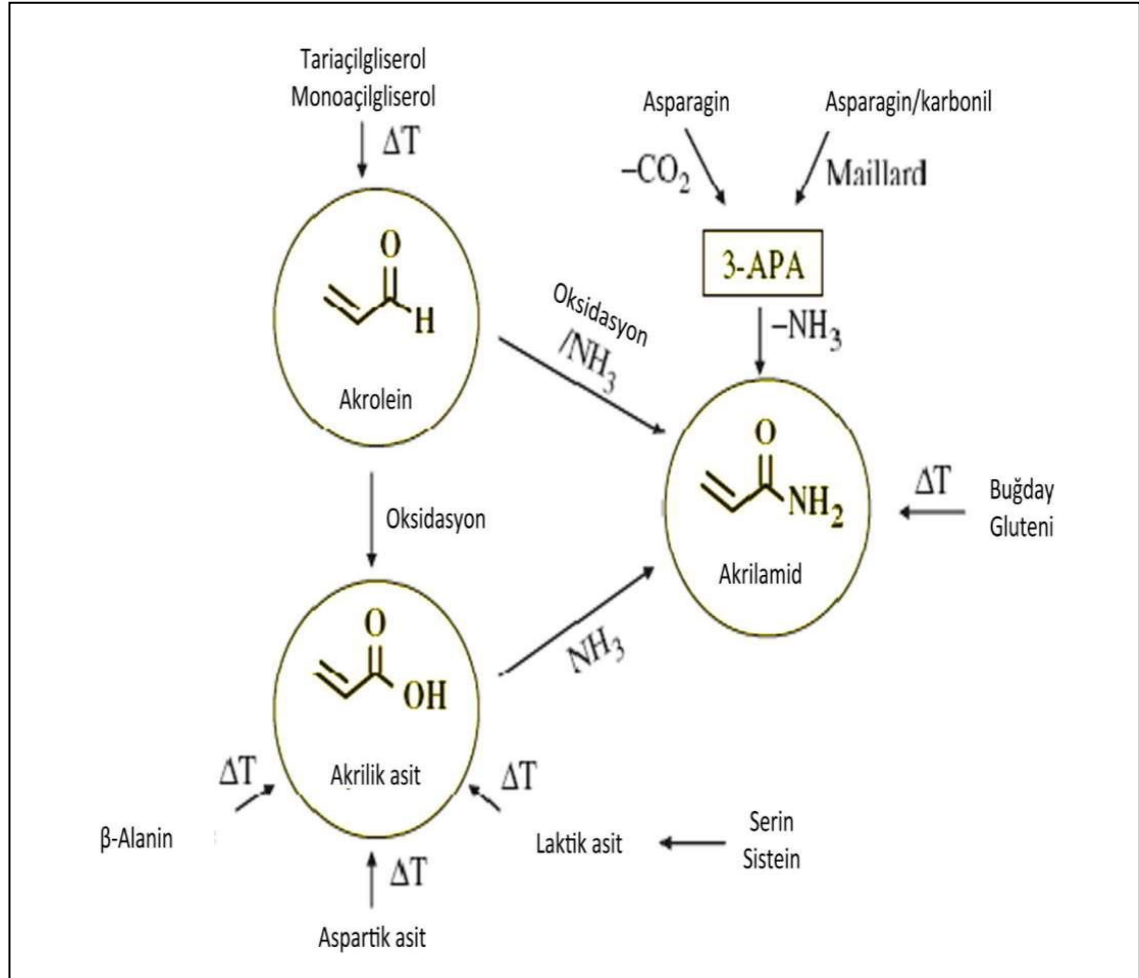
Akrilamidin hangi aminoasitten oluştuğunu belirlemek için yapılan bir çalışmada bazı aminoasitlerle Maillard reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Glukoz 185°C'de sırayla asparajin, aspartik asit, glutamik asit, glisin, sistein ve metionin ile muamele edilmiş ve sonuç olarak aminoasidin 1 molü için oluşan akrilamid miktarları; Asparajin için 221 mg/mol, glisin, sistein ve metionin için 0,5 mg/mol'den daha az ve son olarak glutamik ve aspartik asit için ise 0,5-1 mg/mol olarak tespit edilmiştir (Mottram ve ark. 2002).

Yapılan bir çalışmada akrilamid oluşumunun sıcaklık ve süreye bağlı değişimi incelenmiştir. Çalışma sonucunda akrilamid monomerinin oluşması için ortam sıcaklığının 120°C'yi geçmesi gerektiği belirlenmiştir. Akrilamidin en yüksek miktarda oluştuğu ortam sıcaklığı ise 160-180°C arası olarak bulunmuştur (Mottram ve ark. 2002), (Tareke ve ark. 2002), (Gertz ve Klostermann 2002), (Gutsche ve ark. 2002), (Haase ve ark. 2003).

Başka bir çalışmada patates kızartmak için kullanılan yağın sıcaklığı 185°C'den 165°C'ye düşürülmüş ve kızarmış patateslerde oluşan akrilamid miktarı %50, aynı şekilde 190°C'den 150°C'ye düşürülmüş ve oluşan akrilamid miktarı %65 oranında azaltılabildiği (Haase ve ark. 2003).

Patatesin kaynar su içerisinde pişirilmesi sırasında tespit edilebilir düzeyde akrilamid oluşmadığı bildirilmiştir (Ahn ve ark. 2002), (Biedermann ve ark. 2002a).

Gıdalarda akrilamid oluşumunun en önemli yolu Maillard reaksiyonudur. Bunun dışında da akrolein bileşiği, azotlu bileşikler, 3-aminopropiyonamide ve okside olmuş lipidler üzerinden de akrilamid oluşabilmektedir. (Gökmen ve Şenyuva 2006b), (Doğan ve Meral 2006).



Şekil 2. 3. Farklı şekillerde akrilamid oluşum mekanizmaları (Guenther ve ark. 2007)

2.2.2.1. Maillard Reaksiyonu ile Akrilamid Oluşumu

Gıda kimyası alanında çok önemli olan Maillard reaksiyonu, ilk olarak 1912 yılında reaksiyona ismini veren Fransız kimyacı Louis Camille Maillard tarafından rapor edilmesine rağmen, bu reaksiyonun karmaşık yapısı ve maillard reaksiyonu ürünlerinin analizi için gerekli teknolojinin yetersizliği nedeniyle 1950'lerin ortasına kadar ayrıntılı olarak araştırılamamıştır. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC) ve kütle spektrometresi (MS) gibi enstrümantal analiz cihazlarının gelişmesi ile Maillard reaksiyonu üzerine çalışmalar ivme kazanmıştır (Lee ve

Shibamoto 2002). Maillard reaksiyonu ile ilgili ilk tutarlı çalışmayı 1953 yılında John Edward Hodge adında bir kimyager yapmıştır.

Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak ta bilinen Maillard reaksiyonu, ısıtılma işlem görmüş gıdalarda meydana gelen reaksiyonlar içinde en önemli reaksiyon zinciri olarak öne çıkmaktadır. Bu reaksiyon düşük molekül ağırlığına sahip uçucu hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar, aldehitler, esterler, eterler ile daha az uçucu ya da uçucu olmayan orta ve yüksek molekül ağırlığına sahip polifenoller, peptidler, kahverengi pigmentler gibi sayısız kimyasal yapının oluşmasına yol açmaktadır (Maillard 1912), (Lee ve Shibamoto 2002), (Mottram ve ark. 2006).

Maillard reaksiyonu, ısıtılma işlem görmüş gıdalarda renk ve aroma oluşumundan birinci derece sorumlu mekanizmadır. Maillard reaksiyonu sonucu oluşan 550 civarında uçucu bileşen tanımlanmış durumdadır. Bu bileşiklerin büyük çoğunluğu heterosiklik yapıda olup, furanlar, pirazinler, piroller, piridinler, imidazoller, tiyofenler, tiyazoller ve oksazoller'dir. Bu bileşiklerin 300'den fazlası ise ısıtılma işlem görmüş gıdaların uçucu bileşenleri arasında tanımlanmıştır. Bu durum gıdanın aroma özelliklerinin oluşumunda Maillard reaksiyonunun ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Mottram ve ark. 2006).

Maillard reaksiyonu bir aminoasit veya proteindeki amino grubu ile (asparajin) karbonil grubu içeren bir indirgen şekerin (glukoz, fruktoz) kondensasyon reaksiyonu ile başlar. Reaksiyonun ilk basamağında aminoasit ya da amin gibi nükleofilik bileşikler indirgen şekerlerin karbonil gruplarına kolayca eklenerek imin (Schiff bazı) oluştururlar ve bir molekül su açığa çıkar. Aldoz şekerin reaksiyonunda oluşan iminde a-pozisyonunda bulunan hidroksil grubunun varlığı nedeniyle imin, 1,2-eneaminol üzerinden dönüşüme girer. Moleküldeki bu Amadori tipi dönüşüm ile Amadori ürünü olarak adlandırılan aminoketoz bileşiği (glukozdan: 1-amino-1-deoksiketoz) oluşur. Fruktoz gibi bir ketoz şekerin varlığında ise benzer bir mekanizma ile Heyns bileşiği olarak adlandırılan aminoaldoz (fruktozdan: 2-amino-2-deoksialdoz) meydana gelir (Belitz ve ark. 2009).

Maillard reaksiyonu mekanizmasının üzerinden farklı karbonhidratların akrilamid oluşumu üzerine etkisinin incelendiği birçok çalışma yapılmıştır.

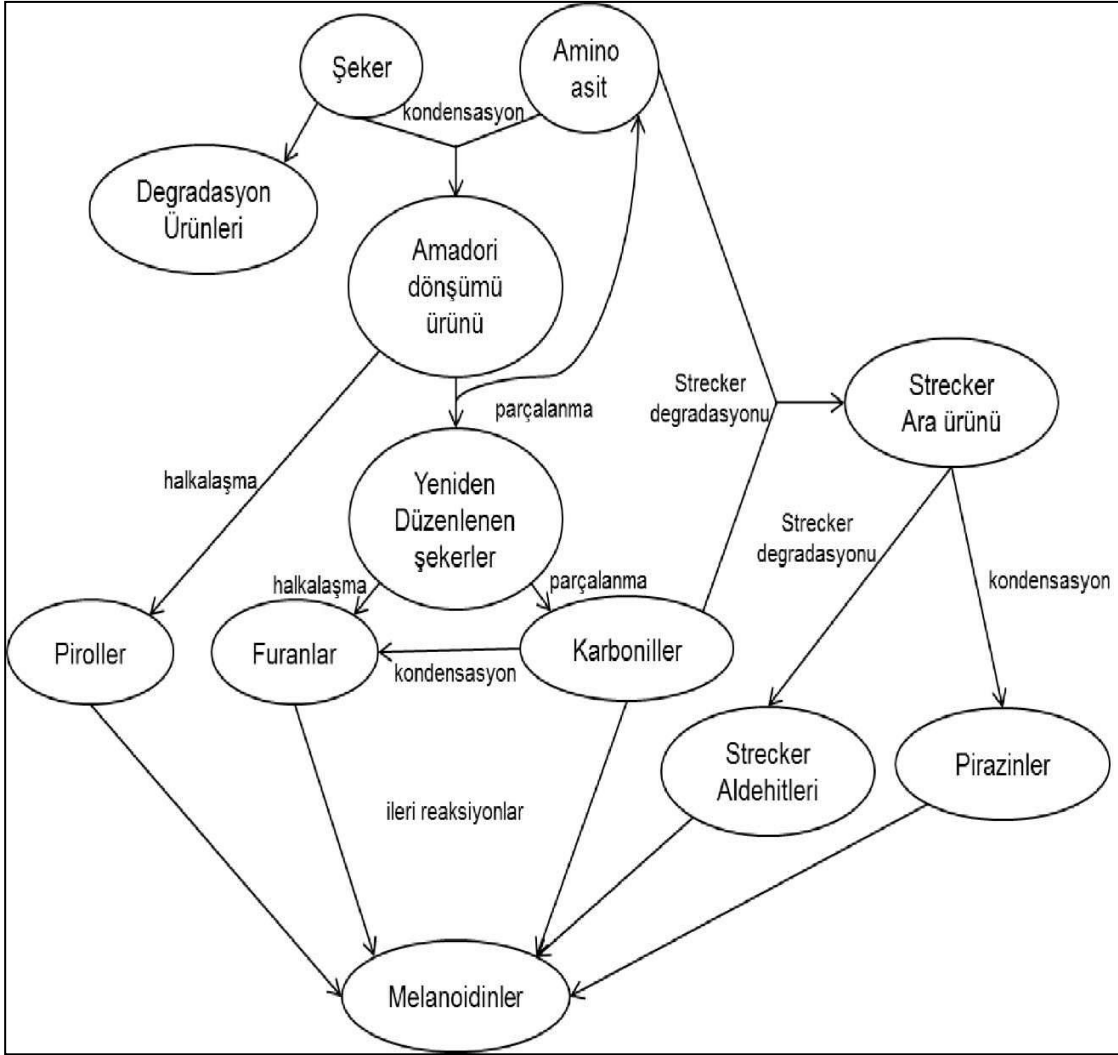
Yapılan bir çalışmada asparajın ile indirgen şekerlerin reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid miktarı incelenmiştir. Buna göre akrilamid oluşumunda en etkin şekerin fruktoz, en az etkin şekerin de sakkaroz olduğu sonucuna varılmıştır. Fruktoz varlığında akrilamid oluşumunun diğer şekerlere göre 2 kat daha fazla oluşunda fruktozun L-hidroksi grubunun önemli rol oynadığı belirtilmiştir (claeys ve ark. 2005b).

Başka bir çalışmada patates model sisteminde farklı karbonillerin akrilamid oluşturabilme yeteneği incelenmiş ve glukoz, 2-deoksiglukoz, riboz, gliseraldehid, gliksal ve dekanal gibi farklı karbonhidrat kaynaklarının asparajınle akrilamid oluşturduğu tespit edilmiştir (Zyzak ve ark. 2003).

Bir diğer çalışmada 180°C'de asparajın aminoasidiyle glukoz, fruktoz, galaktoz, laktoz ve sükroz gibi karbonil grupları ısıtılmış ve tüm karbonil gruplarından yaklaşık miktarlarda akrilamid oluştuğu bildirilmiştir (Stadler ve ark. 2002).

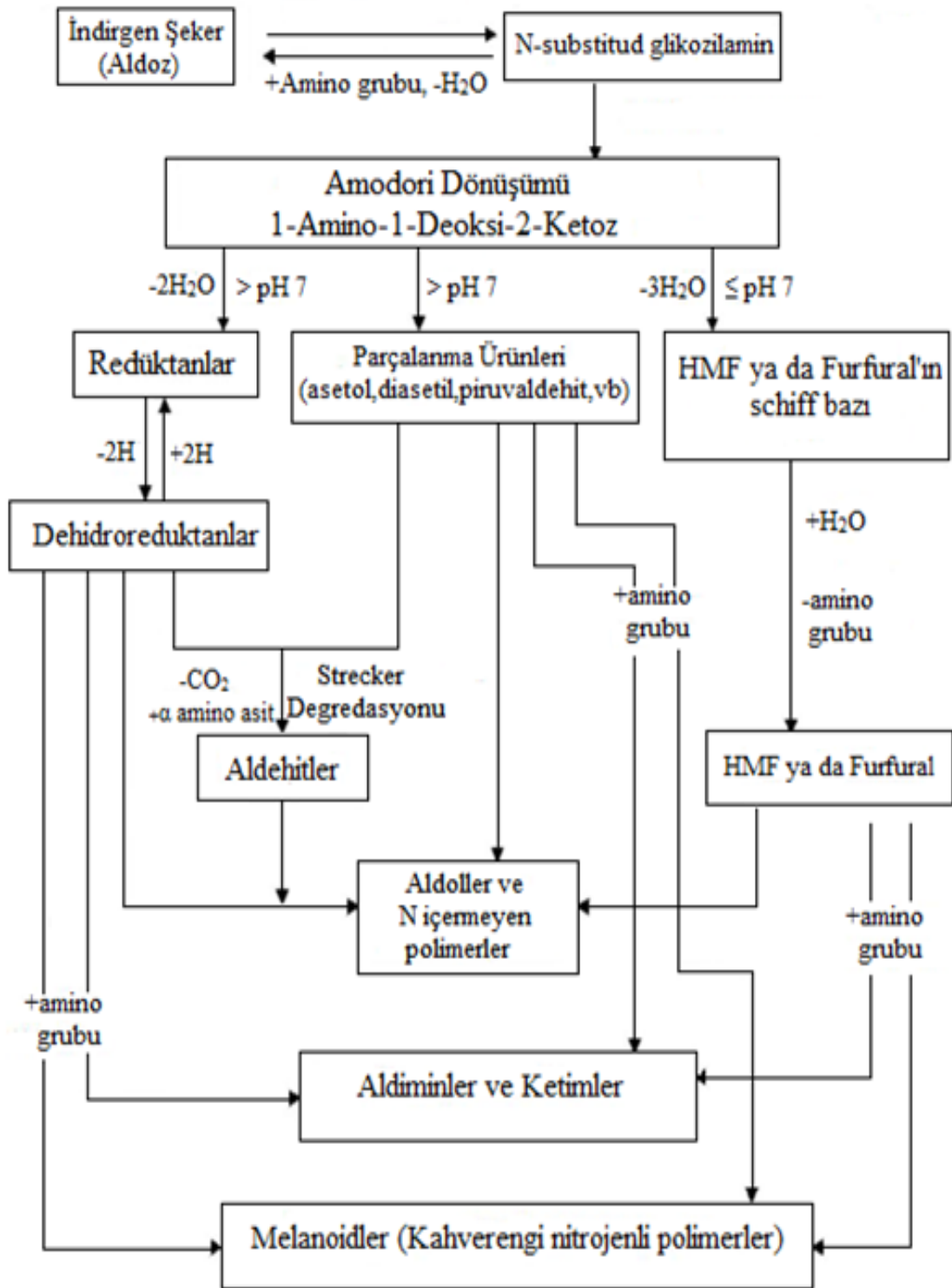
Diğer bir çalışmada ise, asparajın ile farklı 5 monosakkarit ve 2 disakkarit 30 dakika boyunca 170°C'de ısıtılmış ve tüm şekerlerden akrilamid oluştuğu ve en yüksek akrilamid miktarının glukoz içeren sistemde oluştuğu bildirilmiştir. Yine bu çalışmada indirgen bir şeker olmayan sukrozun da indirgen şekerlere yakın oranda akrilamid oluşturduğu bildirilmiştir (Schieberle ve ark. 2005).

Maillard reaksiyonu ile oluşan bir diğer bileşikte nükleofilik ve elektrofilik ara ürünler arasında gerçekleşen kondensasyon reaksiyonu sonucu oluşan melanoidinlerdir. Melanoidinler azotlu kahverengi polimerik yapıda bileşikler olup, ekmek ve bisküvi gibi fırıncılık ürünlerinin yüzeyindeki esmer rengi oluştururlar. Melanoidinlerin yapısı hakkında bilgi kısıtlı olmasına rağmen Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarında oluşan furan veya pirol bileşiklerinin tekrarlanan birimlerinden polikondensasyon reaksiyonları ile oluşan polimerler oldukları bilinmektedir (Belitz ve ark. 2009).

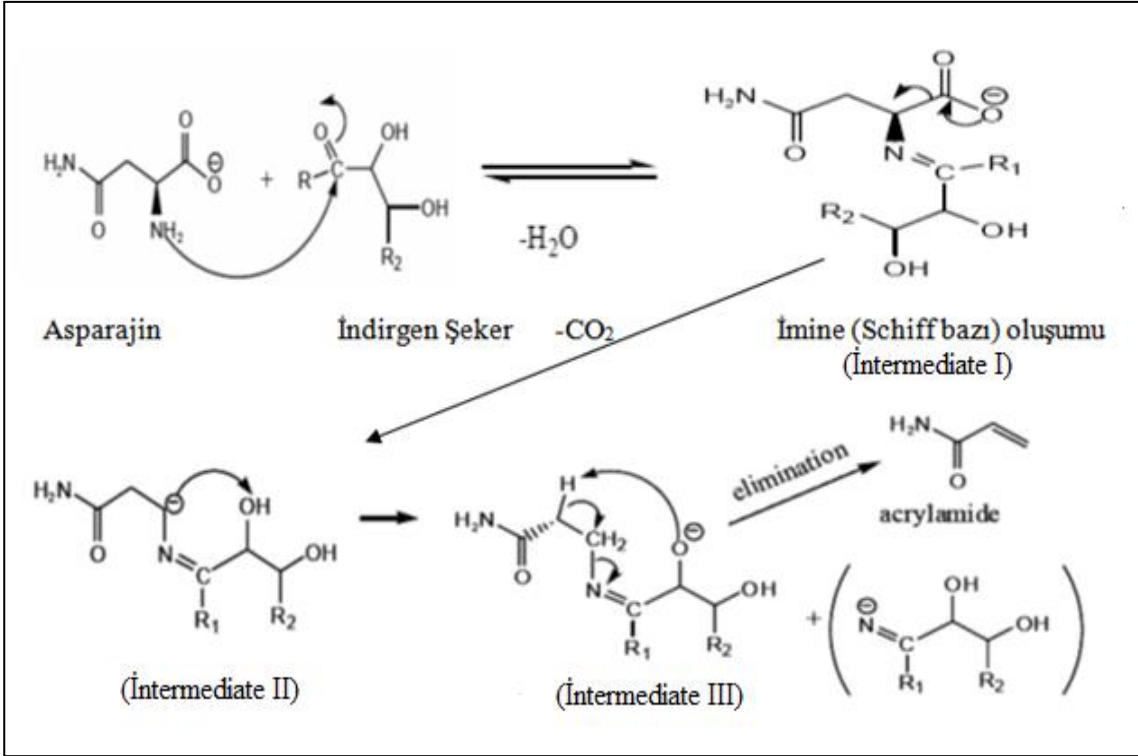


Şekil 2. 4. Maillard reaksiyonu ile aroma oluşumunun basitleştirilmiş şeması (Jousse ve ark. 2002)

Maillard reaksiyonu gıdada tat, renk ve koku oluşumunu sağlamasına rağmen, gıdaların işlenmesi ve muhafazası sırasında kayıplara neden olmaktadır. Son yıllardaki çalışmalarda ortaya çıkan diyabet, kalp rahatsızlıkları ve diğer bazı hastalıklarla olan ilişkileri nedeniyle Maillard reaksiyonu dikkat çekici hale gelmiştir. Özellikle 1980'lerde, iyi pişmiş ya da yanmış bifteklere kanserojen heterosiklik aromatik aminlerin tespit edilmesi ve bu bileşiklerin Maillard reaksiyonu ile oluştuğunun ortaya konması ile konu çok daha fazla ilgi uyandırmıştır (Negishi ve ark. 1984). Son olarak 2002 yılında pişmiş ve kızarmış nişasta bazlı gıdalarda akrilamid tespit edilmesi ve akrilamidin 'insan için olası kanserojen' olarak nitelendirilen (grup 2A) bir bileşik olması nedeniyle, gıda ve kimya biliminde çok büyük yankı uyandırmıştır.



Şekil 2. 5. Maillard Reaksiyonu (Hodge 1953)



Şekil 2. 6. Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu (Eriksson 2005).

İntermediate I (Ana basamak): Asparajin ve indirgen şekerlerden schiff bazının oluşması

İntermediate II (Anahtar basamak): Intermediate I dekarboksilasyonla Intermediate II ye dönüşür (Schiff bazının dekarboksilasyonu)

İntermediate III (Son Basamak) : İntermediate II'deki dekarboksilasyon negatif yüklü α -karbonunun, α -hidroksi grubundaki hidrojenin uzaklaştırılabilmesi için direkt gerçekleşir. Bunun sonucunda bu reaksiyonun aktivasyon enerjisi düşer. Dekarboksilasyondan sonra oluşan α -hidroksi anyonu (molekül içindeki güçlü baz) altı üyeli halka yapısındaki asidik α -hidrojenini uzaklaştırabilir. Böylece son aşama başlar ve akrilamide degradasyon gerçekleşir (Claeys ve ark. 2005).

2.2.2.2. Yağlardan Akrilamid Oluşumu

Yapılan bir çalışmada yağların akrilamid oluşumundaki muhtemel etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak; yağların yüksek sıcaklıkta parçalanması sonucu akrolein bileşiği oluşturduğu ve bu bileşiğin oksidasyonu sonucu oluşan akrilik asidin amonyak ile tepkimeye girerek akrilamid oluşturduğu bildirilmiştir (Yasuhara ve ark. 2003).

Başka bir çalışmada yağların asparajin ile birlikte ısıtılması sonucu akrilamid oluşturduğu ve daha yüksek oranda doymamış yağ asiti içeren balık yağının, hayvansal yağ ve mısır yağına oranla yaklaşık on kat daha fazla akrilamid oluşturduğu rapor edilmiştir (Ehling ve ark.2005). Bir diğer çalışmada patates örneklerinde yapılan çalışmada yemeklik yağ ilavesinin akrilamid miktarında belirgin bir değişikliğe sebep olmadığı bildirirken (Biedermann ve ark. 2002), ısı işlem sırasında patateslere yağ ilavesinin akrilamid miktarını artırdığı bildirilmiştir (Tareke ve ark. 2002).

Bu çalışmalar göz önüne alınarak, lipidlerin akrilamid oluşumunda tek başına önemli bir akrilamid öncü maddesi olmadığı ancak, ısı transferine katkı sağlamaları açısından akrilamid oluşumuna dolaylı etkilerinin olduğu sonucuna varılabilmektedir.

2.2.2.3. Akrolein ve Akrilik Asit Üzerinden Akrilamid Oluşumu

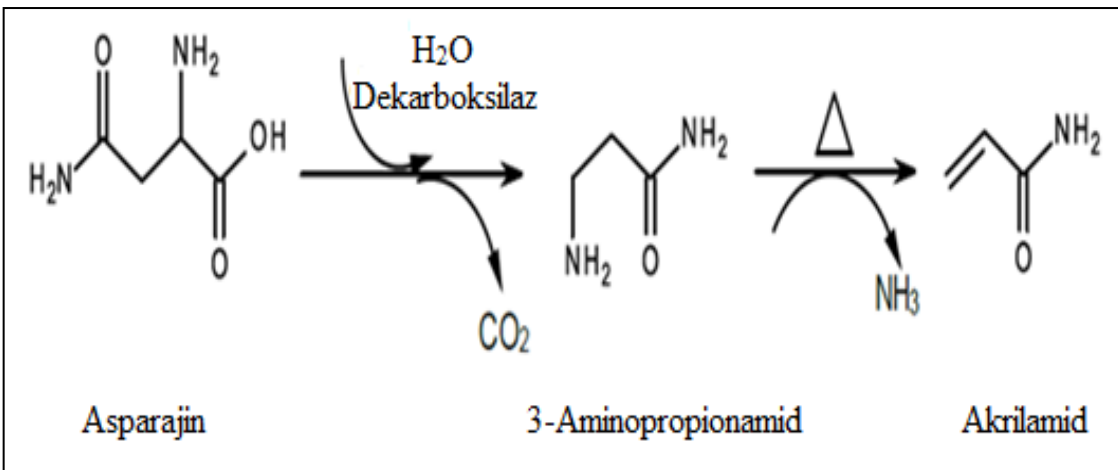
Akrolein bileşiğinin oksidasyonu sonucu oluşan akrilik asit, akrilamid oluşumu için muhtemel bir ara üründür. Isıl işlem görmüş gıdalarda akrilik asit oluşumuna yol açabilecek birtakım reaksiyonlar söz konusudur. Bu reaksiyonlardan birisi, aspartik asidin glukoz ya da fruktoz varlığında ısıtıldığında dikkate değer miktarda akrilik asit oluşturmasıdır. Aspartik asit dışındaki aminoasitler de akrolein kaynağı olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada 185°C sıcaklıkta metiyoninin ve glukozun ısıl işleme tabi tutulması sonucunda akrilamid oluştuğu ve bu oluşumun metiyoninin parçalanma ürünleri olan akrolein ve amonyak üzerinden gerçekleştiği bildirilmiştir (Mottram ve ark. 2002). Serin, sistein gibi aminoasitlerin ısıl işlem sonucu piruvik asit yoluyla laktik asite dönüşebileceği ve amonyak varlığında akrilamid oluşturabileceği bildirilmiştir. (Yaylayan ve Stadler 2005).

Akrilik asit üzerinden akrilamid oluşabilmesi için bir azot kaynağı gereklidir. Bu azot aminoasitlerin deaminasyonundan sağlanabilmektedir. Asparajin, glutamin ve sisteinin 180°C'de ısıtıldıklarında amonyak oluşturdukları bildirilmiştir (Sohn ve Ho 1995).

Akrolein ve akrilik asit üzerinden gerçekleşen akrilamid oluşumu, ortamda bir indirgen şeker bulunduğunda oluşan akrilamid miktarı yanında çok düşük kaldığından ve serbest amonyak gerektirmesi ile reaksiyonun etkili olması için nispeten yüksek sıcaklıkları gerektirmesinden dolayı gıdalarda akrolein ve akrilik asit üzerinden akrilamid oluşumu çok dikkat çekici değildir (Yaylayan ve Stadler 2005), (Mestdagh ve ark. 2008).

2.2.2.4. Asparajinin Enzimatik Dekarboksilasyonu ile Akrilamid Oluşumu

Maillard reaksiyonu ile dekarboksile Schiff bazı doğrudan akrilamid oluştururabildiği gibi hidrolize olarak 3-aminopropionamide (APA) dönüşerek de akrilamid oluşturabilmektedir. 3-APA'dan, amonyak ayrılması ile akrilamid oluşabilmektedir. Bu yüzden 3-APA akrilamidin etkili bir öncü maddesi olarak kabul edilmektedir. Bu reaksiyonun, asparajin ve indirgen şekerler arasında gerçekleşen reaksiyondan 10 kat daha güçlü olduğu belirtilmiştir (Granvogl ve Schieberle 2006), (Bagdonaite ve ark. 2006), (Serpen ve Gökmen 2007), (Wenzl ve ark. 2007), (Knutsen ve ark. 2009).



Şekil 2. 7. Asparajinin enzimatik dekarboksilasyonu ile akrilamid oluşumu (Granvogl ve ark. 2004)

Nişasta bazlı gıdalarda yapılan bir çalışmada akrilamid ile 3-propiyonamid arasında güçlü bir lineerite tespit edilmiştir (Channell ve ark. 2008).

LC/MSMS'de yapılan bir çalışmada, çiğ patates ile yeşil ve kavrulmuş kahvede akrilamidin öncü maddesi olduğu düşünülen 3-APA araştırılmıştır. 3-APA miktarının patatesin cinsine göre değiştiği belirtilirken, kahvede 3-APA tespit edilememiştir (Bagdonaite ve ark. 2006).

Yapılan bir başka çalışmada 3-APA'dan akrilamid oluşum veriminin asparajine oranla çok daha yüksek olduğu ve ortamdaki şeker çıkarıldığında dahi akrilamid oluşumunun belirgin derecede artış gösterdiği bildirilmiştir (Granvogl ve ark. 2004). Birçok gıda maddesinde 3-APA miktarı serbest asparajin miktarına oranla oldukça düşük seviyede olmasına rağmen 3-APA'dan akrilamid oluşum veriminin asparajine oranla daha yüksek olması bu reaksiyonu önemli kılmaktadır. 3-APA bileşiği yüksek nemli ortamlarda dahi maillarda reaksiyonu gerçekleşmeden akrilamid oluşturabilmektedir. Bu bileşik, asparajin içeriği düşük hammaddelerden akrilamid oluşumunu açıklaması bakımından önem kazanmaktadır.

Yukarıdaki peptid oluşumları dışında akrilamid oluşumunu açıklayan başka bir teoriye göre, azot içeren bileşikler (protein, aminoasit) akrolein bileşiği olmadan da hidroliz, dekarboksilasyon ve yeniden yapılanma gibi geçişlerle direkt akrilamid oluşturabilmektedir (Grivas ve ark. 2002), (Claeys ve ark. 2005).

2.2.3. Akrilamidin Oluşturduğu Gıdalar

En yüksek akrilamid miktarının karbonhidratça zengin gıdaların 120°C'nin üzerinde ısıtılması ile (100-4000 µg/kg) olduğu, en düşük akrilamid miktarının ise proteince zengin gıdalarda (<100 µg/kg) olduğu bildirilmiştir (Tareke ve ark. 2002), (Mestagh ve ark. 2007).

İtalya'da yapılan bir çalışmada domates sosu, pişirilmiş pirinç ve fast food türü gıdalarda akrilamid miktarları incelenmiş ve sonuç olarak; pirinç ve domates sosu için akrilamid düzeyleri 50 µg/kg'ın altında bulunurken, fast foodlarda pişirme yöntemine bağlı olarak, 294 µg/kg'a kadar yükseldiği belirtilmiştir (Tateo ve ark. 2007).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada bisküvi, kraker, bebek bisküvisi, ekmek, tost ekmeği, fındık füresi, kırmızıbiber, hamburger, pide, kakao, kahve, patates cipsi, zeytin,

2. KAYNAK ÖZETLERİ

tavuk şnitzel, omlet, pilav, mısır, hazır çorba, bebek maması, tulumba tatlısı, kadayıf, Kemalpaşa tatlısı, helva, pekmez, tahin, çikolata, çilek reçeli gibi farklı gıda örneklerinde akrilamid düzeyleri araştırılmış ve sonuç olarak gıda grupları ve aynı gıda gruplarındaki farklı markalar arasında büyük farklılıklar saptanmıştır. Patates cipsinde 834 µg/kg, kızartılmış patatesten 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, kırmızıbiber, çilek reçeli, kakao, omlet, bebek maması, pide, kadayıf ve pilavda 10 µg/kg'dan düşük akrilamid düzeyleri belirlenmiştir. (Ölmez ve ark. 2008).

Çizelge 2. 3. Yapılan bazı çalışmalarda bulunan akrilamid düzeyleri (Alpözen 2012)

Gıdanın Adı	Ortalama (µg/kg)	Aralık (µg/kg)	Örnek Sayısı	Kaynak
Patates kızartması (evde)	63	60-66	2	Ölmez ve ark. 2008
Patates kızartması (restoranda)	403	355-436	9	Ölmez ve ark. 2008
Türk kahvesi	266	200-336	4	Ölmez ve ark. 2008
Kahve (orta kavrulmuş)	25	25	2	Svensson ve ark. 2003
Kavrulmuş kahve	221	79-975	---	Gökmen ve Palazoğlu 2008
Bisküvi	198	< 10-648	16	Ölmez ve ark. 2008
Diyabetik bisküvi	270	10-1695	125	Göbel ve Kliemant, 2007
Tatlı bisküvi	443	< 68-1150	15	Eerola ve ark. 2007
Tuzlu bisküvi	179	134-224	2	Eerola ve ark. 2007
Bebek bisküvisi	106	5-432	130	Göbel ve Kliemant 2007
Bademli bisküvi	356	5-2110	81	Göbel ve Kliemant 2007
Kraker	247	26-587	18	Ölmez ve ark. 2008
Ekmek	38	10-133	10	Chen ve ark. 2008
Tost Ekmeği	164	41-474	5	Ölmez ve ark. 2008
Ekmek kırıntısı	95	< 10-226	5	Ölmez ve ark. 2008
Patates cipsi	834	59-2336	8	Ölmez ve ark. 2008
Patates cipsi	1377	5-4653	---	Gökmen ve Palazoğlu 2008
Patates cipsi	539	100-1470	15	Eerola ve ark. 2007
Patates kızartması	540	300-1100	7	Svensson ve ark. 2003
Patates kızartması	310	34-688	8	Svensson ve ark. 2003
Haşlanmış Patates	< 30	---	---	Svensson ve ark. 2003
Kahvaltılık Tahıllar	220	< 30-1400	14	Svensson ve ark. 2003
Kahvaltılık Tahıllar	84	5-545	47	Göbel ve Kliemant 2007
Popcorn	300	260-350	3	Eerola ve ark. 2007
Mısır cipsi	425	109-835	9	Ölmez ve ark. 2008
Mısır gevreği	---	49(max.)	8	Arisseto ve ark. 2009
Fırıncılık ürünleri	120	< 10-441	4	Ölmez ve ark. 2008
Kek	68	43-89	9	Chen ve ark. 2008
Kavrulmuş fındık	128	< 10-421	5	Ölmez ve ark. 2008
Kavrulmuş badem	260	207-313	2	Ölmez ve ark. 2008
Çikolata	75	37-100	5	Ölmez ve ark. 2008
Helva	93	< 10-229	7	Ölmez ve ark. 2008
Zeytin	82	< 10-216	8	Ölmez ve ark. 2008
Tulumba tatlısı	241	10-701	5	Ölmez ve ark. 2008
Kemalpaşa tatlısı	512	445-578	2	Ölmez ve ark. 2008
Pekmez	95	< 10-297	4	Ölmez ve ark. 2008
Kakao	< 10	---	3	Ölmez ve ark. 2008

2.2.4. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Akrilamid oluşumu için elzem bileşenler indirgen şekerler ve asparajin aminoasididir. Bunların yanında gıda matrisi, gıdanın pH'sı, gıdanın nemi, gıdanın bulunduğu ortam koşulları ile sıcaklık ve süre gibi işlem koşulları da akrilamid oluşumunu etkilemektedir (Robert ve ark. 2004). Ayrıca yağda kızartılan gıdalarda akrilamid oluşumunda kullanılan yağ çeşidinin de etkisinin olduğu bildirilmektedir (Becalski ve ark. 2003), (Gertz ve ark. 2002).

2.2.4.1. Gıdadaki İndirgen Şekerlerin Etkisi

Yapılan çalışmalar özellikle 100°C'nin üzerinde akrilamid oluşum reaksiyonunun meydana gelebilmesi için indirgen şekerlerin gerekliliğini göstermiştir (Stadler ve Scholz 2004).

Yapılan bir çalışmada glikoz, fruktoz ve sakkaroz indirgen şekeri ile asparajin aminoasidi arasında 140-200°C arasında akrilamid oluşturma yeteneği araştırılmıştır. Asparajin-glikoz sisteminde akrilamidin asparajin-fruktoz sistemine göre daha hızlı oluştuğu, en az akrilamidin asparajin-sakkaroz sisteminde oluştuğu tespit edilmiştir (Amrein ve ark. 2004), (Claeys ve ark. 2005b), (Amrein ve ark. 2007).

Başka bir çalışmada patates cipslerinde akrilamid oluşumunda kullanılan patatesteki aminoasit ve şeker içeriklerinin etkisi araştırılmış ve çiğ patateslerdeki glukoz ve fruktoz konsantrasyonları ile patates cipsindeki akrilamid miktarı arasında lineer bir ilişki bulunmuştur ($r^2=0,97$) (Williams 2005).

Yapılan bir diğer çalışmada akrilamid oluşumunda fruktozun glukozla oranla daha etkili olduğu belirlenmiştir (Biedermann ve ark.2002), (Becalski ve ark. 2003).

İndirgen bir şeker olmayan sakkarozun akrilamid oluşumundaki etkisinin incelendiği bir çalışmada sakkarozun ısıl işlem etkisi ile iki indirgen monosakkarite hidrolize olduğu ve akrilamid oluşturabildiği rapor edilmiştir (Taeymans ve ark. 2004). Bunun yanında aynı bisküvi formülasyonunda 205°C'de 11 dakika uygulanan ısıl işlemde glukoz yerine sakkaroz kullanılmasının akrilamid miktarını azalttığı belirlenmiştir. Buna bu sıcaklık ve sürenin sakkaroz hidrolizi için yetersiz kaldığı açıklaması getirilmiştir (Gökmen ve ark. 2007).

Asparajinle birlikte glukoz, fruktoz, sakkaroz, sorbitol, gliseraldehit ve glikolaldehit şekerlerinin kullanıldığı bir sistemde tüm sistemlerin 250°C' de akrilamid oluşturduğu, daha yüksek sıcaklıklarda ise akrilamid miktarının arttığı gözlenmiştir. 250°C'de asparajin-glikolaldehit sisteminin akrilamid oluşumu açısından, asparajin-glukoz sistemine göre daha etkili olduğu; 350°C'de ise asparajin-sakkaroz sisteminin asparajin-glukoz sistemine göre daha etkili olduğu bildirilmiştir (Yaylayan ve ark. 2003).

2.2.4.2. Gıdadaki Aminoasitlerin Etkisi

2002 yılında çeşitli araştırma grupları tarafından akrilamid oluşum reaksiyonunda asparajinin önemi bildirilmiştir (Mottram ve ark. 2002), (Stadler and Scholz 2004).

Akrilamid oluşumu için en ideal ortamın asparajin/glikoz oranının 0,5 olduğu ortam olduğu ifade edilmektedir. Yapılan bir çalışmada düşük asparajin ve fruktoz içeren una, fruktoz ilavesinin akrilamid oluşumunu etkilemediği, ama asparajin ilavesinin akrilamid oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir (Claeys ve ark. 2005a). Akrilamid oluşumunda undaki asparajin, patatesteki indirgen şeker gibi belirleyici etkiye sahiptir (Claeys ve ark.2005a), (Vicklund ve ark. 2006), (Fiselier ve ark. 2006), (Hamlet ve ark. 2008).

Yapılan bir çalışmada aminoasit ve indirgen şekerlerin pirolizi patates cipsi sisteminde denenmiş ve asparajinin akrilamid oluşumunda temel aminoasit olduğu bildirilmiştir (Zyzak ve ark. 2003).

Bir diğer çalışmada indirgen şekerlerin asparajin aminoasidi ile ısıtıldıklarında oluşturdukları N-glikozidlerin önemli miktarda akrilamid oluşturduğu, glutamin ve metiyonin aminoasitleriyle oluşan N-glikozidlerin ise çok düşük miktarlarda akrilamid oluşturdukları bildirilmiştir (Stadler ve ark. 2002).

Zencefilli, pekmezli ekmek ile yapılan bir çalışmada asparajin miktarının akrilamid oluşumunda önemli etken olduğu bildirilmiştir (Amrein ve ark. 2004).

Yapılan başka bir çalışmada 140 ve 200°C'de asparajin-glikoz sisteminde asparajin dışındaki aminoasitlerin (lisin, sistein, glutamin, alanin) akrilamid oluşumundaki etkileri incelenmiştir. Sisteme sistein ya da lisin ilavesinin akrilamid

oluşumunu azalttığı, glutamin ilavesinin akrilamid oluşumunu arttırdığı, alaninin ilavesinin ise etkisiz olduğu bildirilmiştir (Claeys ve ark. 2005a), (Claeys ve ark. 2005c).

Çizelge 2. 4. Patates nişastası ve sudan oluşan gıda sistemlerinin ısıtılması ile aminoasitler ve D-glukozdan oluşan akrilamid miktarları (Zyzak ve ark. 2003).

Aminoasit	Akrilamid (µg/kg)
Sadece nişasta var	< 50
Sadece asparajin var	117
Asparajin ve nişasta var	9270
Glutamin (nişasta var)	156
Alanin, Arjinin, Aspartik Asit, Sistein, Lizin, Metiyonin, Treonin ya da Valin (nişasta var)	< 50

2.2.4.3. İşlem Süresinin ve Sıcaklığının Etkisi

Çeşitli gıda ürünlerinde yapılan birçok çalışma göstermiştir ki gıdalarda oluşan akrilamid miktarı yüksek sıcaklıklarda (120°C ve üzeri) meydana gelir. İşlem süresi uzadıkça da bu miktar daha da artmaktadır (Becalski ve ark. 2003), (Kita ve ark. 2004), (Anonymous 2006a), (Tareke ve ark. 2002), (Mottram ve ark. 2002), (Rydberg ve ark. 2003), (Surdyk ve ark.2004). Akrilamid miktarının en yüksek düzeye ulaştığı sıcaklık ise 160-180°C arası olarak rapor edilmiştir (Tareke ve ark. 2002), (Mottram ve ark. 2002).

Isıl işlem gören parmak patateslerde akrilamid oluşumuna sıcaklığın etkisinin incelendiği bir çalışmada; 100°C'ye kadar 19 dakikalık ısıtma sonunda akrilamid içeriğinde bir değişim olmamıştır. 120°C'de ise küçük bir artış (+ 30 µg/kg) saptanmıştır. Bu durum akrilamid oluşumu için 100°C'nin üzerinde bir sıcaklığa gereksinim olduğunu göstermektedir (Tareke ve ark. 2002).

Bir başka çalışmada akrilamid miktarının artışında kızartma sıcaklığının yanı sıra kızartma süresinin de etkili olduğu; ancak, kızartma sıcaklığının, kızartma süresinden daha etkili olduğu belirlenmiştir. Sabit kızartma sıcaklığında kızartma süresine ve sabit

kızartma süresinde kızartma sıcaklığına bağlı artışın lineer özellik gösterdiği bildirilmiştir (Gökmen ve ark. 2006).

Başka bir çalışmada asparajın ve indirgen şekerlerin model reaksiyonlarında en fazla akrilamid miktarının 175°C'de oluştuğu, bunun üzerindeki sıcaklıklarda akrilamid miktarının azaldığı rapor edilmiştir (Mottram ve ark. 2002). Bu azalmanın nedeninin akrilamidin 175°C'nin üzerinde bozularak polimerize olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Beş farklı sıcaklık (150-290°C) ve beş farklı süre (15-35 dak.) kullanılarak yapılan bir çalışmada, ekmek kabuğunda akrilamid miktarının sıcaklık ve süre arttıkça arttığı rapor edilmiştir (Surdyk ve ark. 2004).

Farklı şekillerdeki patateslerle yapılan bir çalışmada 120°C'de dikkate değer miktarda akrilamid oluşmaya başlandığı, yüksek yüzey/hacim oranlı ürünlerde 160-180°C'de 2-5 dakikalık işlem süresinde maksimum akrilamid konsantrasyonunun oluştuğu bildirilmiştir (Taubert ve ark. 2004).

Patateslerin 200°C sabit sıcaklıkta ve farklı sürelerde kızartılması sonucu oluşan akrilamid miktarlarının incelendiği bir çalışmada; başlangıçta akrilamid miktarının zamanla üssel olarak arttığı, 20. dakikadan sonra azaldığı, 60. dakikada ise en fazla azalmanın olduğu bildirilmiştir (Rydberg ve ark. 2003).

Pirinç, patates ve buğday flekleri kullanarak yapılan bir çalışmada hazırlanan keklerde 180°C'lik fırında çeşitli pişirme sürelerinde oluşan akrilamid miktarları incelenmiştir. Elde edilen veriler; 10 ve 20 dakikalar arasında akrilamid oluşumunda hızlı bir artış, 20-35 dakikalar arasında maksimum değere ulaşma ve sonra yavaş lineer bir azalma şeklinde olup her üç üründe de benzerdir. Pirinç, patates ve buğday keklerindeki maksimum akrilamid konsantrasyonları sırayla 3200, 6800 ve 1100 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu ürünlerde maksimum akrilamid miktarına ulaşıldıktan sonra akrilamid miktarlarında zamana bağlı bir azalma görülmüştür. Bu azalmanın diğer gıda bileşenleri ile akrilamid arasındaki ikincil reaksiyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Elmore ve ark. 2005).

2.2.4.4. Gıda Matriksinin Etkisi

Proteinlerin akrilamid oluşumu üzerinde inhibisyon etkisinin olmasından dolayı kızartılmış et veya balık ürünleri, patates veya hububat ürünleriyle kıyaslandığında daha düşük akrilamid içermektedirler. (Vattem and Shetty 2003), (Biedermann and Grob 2003), (Tareke, 2003).

Yapılan bir çalışmada mısır ve buğday ununa patatesteki kadar asparajın ilave edildiğinde, patatestekinin ancak beşte biri kadar akrilamid oluşabildiği, bunun yanında akrilamidin mısır ve buğday ununda patatese göre daha yavaş parçalandığı belirtilmiştir (Claeys ve ark. 2005a).

Türkiye’de yapılan bir çalışmada proteince zengin et bazlı ürünlerde ızgara şeklinde pişirilme sonrasında oluşan akrilamid miktarları araştırılmıştır. Araştırma göstermiştir ki; ızgara şeklinde pişirilmiş tavuklardaki akrilamid miktarı 23-28 ppb aralığındayken, ızgarada pişirilmiş kırmızı etlerde bu değerler 49-250 ppb aralığında değişmektedir (Kaplan ve ark. 2009).

Bir başka çalışmada hem laboratuvar ortamında hazırlanmış hem de restoranlarda hazırlanmış gıdalar akrilamid miktarları bakımından analiz edilmiş ve sonuç olarak protein oranı yüksek gıdalarda (et, tavuk, biftek, hamburger) ortalama akrilamid miktarı 5-50 µg/kg seviyesindeyken karbonhidrat oranı yüksek gıdalarda bu miktar 150-4000 µg/kg seviyesinde bulunmuştur (Tareke ve ark. 2002). Bu çalışmada ayrıca patates cipsinin kızarmış şeker pancarından yaklaşık 34 kat, kızarmış şeker pancarının da tavada kızartılmış patatesten yaklaşık 2 kat daha fazla akrilamid içerdiği bildirilmiştir.

2.2.4.5. Gıda pH’sının Etkisi

pH’ın değişimi akrilamidin öncül bileşiklerinden olan aminoasitteki amino grubunu etkilediği gibi diğer öncül bileşik olan şekerin reaktivitesini de etkilemektedir. Akrilamid oluşumu için ideal pH’ın 7-8 olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Rydberg ve ark. 2003). pH değerinin düşürülmesiyle asparajinin serbest protosuz α -amino grubu, protonlu amine dönüşürerek (NH_3^+) akrilamid oluşumu için elzem olan schiff bazı oluşumunu engeller.

Yapılan bir çalışmada asparajın ve glukoz içeren sistemde pH'ın 7'den 4'e düşürülmesiyle akrilamid oluşumunun % 99 oranında azaltıldığı bildirilmiştir (Jung ve ark. 2003).

Patates cipsleriyle yapılan bir çalışmada; patates dilimlerini asidik çözeltiler içerisinde farklı sürelerde bekletmenin ve haşlamanın patates cipslerinde oluşacak akrilamid miktarını nasıl etkileyeceği araştırılmıştır. Sonuç olarak en yüksek azalmanın % 90 ile, % 98'lik asetik asit çözeltisinde patates dilimlerinin 20°C'de 60 dakika bekletilmesi ile elde edildiği tespit edilmiştir. %50'lik bir azalma ise hem % 98'lik asetik hem de % 98'lik sitrik asit çözeltilerinde 70°C'de 3 dakika haşlama sonucunda elde edilmiştir (Kita ve ark. 2004).

Yapılan bir çalışmada mısır ve patates cipsini kızartma veya fırında pişirmeden önce sitrik asit çözeltisine daldırmanın akrilamid oluşumunu önemli derecede azalttığı belirtilmiştir (Jung ve ark. 2003).

Rendelenmiş ve homojenize edilmiş patateslerde farklı konsantrasyonlarda sitrik asit kullanımının akrilamid oluşumuna etkisinin incelendiği bir çalışmada, patatesler 180°C'lik fırında 25 dakika bekletilmiş ve pH düşüşüne bağlı olarak oluşan akrilamid miktarında bir azalma tespit edilmiştir (Rydberg ve ark. 2003).

Bir başka çalışmada zencefilli, pekmezli ekmekte akrilamid içeriğini düşürmek için ürünün esmerleşme ve lezzet özellikleri de dikkate alınarak 5000 mg/kg'ı geçmeyecek şekilde sitrik asit ilavesinin uygun olabileceği belirtilmiştir (Amrein ve ark. 2004).

2.2.4.6. Gıda Neminin Etkisi

Yapılan çalışmalarda genel olarak yüksek nem içeren örneklerdeki akrilamid oluşumunun çok düşük miktarlarda olduğu belirtilmiştir.

Maillard reaksiyonu için optimum nem düzeyi % 12-18 aralığıdır. Gıda matriksinin nem içeriği azaldıkça oluşacak akrilamid miktarında artış olacağı bildirilmiştir (Claeys ve ark. 2005a), (Vicklund ve ark. 2006).

Yapılan bir çalışmada patates, buğday ve pirinç frekleri kullanarak hazırlanan keklerde 180°C'de fırında pişirme işleminde pişirme süresine karşılık keklerdeki % nem içeriğinin değişimine göre oluşan akrilamid miktarlarını incelemişler. Sonuç olarak; %

5'in üzerinde nem oranına sahip olan keklerde akrilamid oluşumunun oldukça düşük olduğu, % 5'in altında nem oranına sahip keklerde ise nem miktarı ile akrilamid miktarı arasında ters orantılı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Elmore ve ark. 2005).

Bir başka çalışmada akrilamid oluşumunun patateslerde suyun buharlaşması ile güçlü bir artış gösterdiği rapor edilmiştir (Amrein 2005).

Yapılan bir başka çalışmada, ekmek ve bisküvilerde nemin artması ile akrilamid oluşumunun azaldığı tespit edilmiştir (Sadd ve ark. 2008). Başka bir çalışmada ise çavdardan yapılan unlu mamullerde nem düzeyleri ile akrilamid oluşumu arasında korelasyon bulunamamıştır (Curtis ve ark. 2010).

Bir diğer çalışmada düşük nem oranlarında akrilamidin oluşumunun hızlanmasının yanı sıra parçalanmasının da hızlı olduğunu bildirilmiştir (Biedermann ve ark. 2002).

Başka bir çalışmada 100 g ekmek hamuruna eklenen 5 g suyun akrilamid miktarında % 25' lik bir artışa sebep olduğu bildirilmiştir. Bu durum, gıda matriksi içerisindeki kuru madde miktarı ile akrilamid miktarı arasında gözlenen ilişkinin başka etmenlerden de etkilenebileceğini göstermektedir (Amrein ve ark. 2004).

2.2.4.7. Depolama Koşullarının Etkisi

Depolama koşulları da akrilamid oluşumunu etkilemektedir. Yapılan bir çalışmada patatesler için en iyi depolama koşulunun solunumun azaldığı 3-4°C civarı olduğu bildirilmiştir. Fakat bu dereceler gibi düşük sıcaklıkta depolama aynı zamanda patateslerde indirgen şeker miktarının artmasına (düşük sıcaklık tatlanması) neden olmaktadır. İndirgenmiş şeker miktarının artması bir taraftan patatesi donmaya karşı korurken diğer taraftan yüksek indirgen şeker oranı, akrilamid oluşumunu arttırmaktadır. Bunun yanında patatesleri 10°C civarı gibi orta derecelerde depolamanın düşük sıcaklık tatlanmasını azalttığı fakat bu depolama şeklinin de çimlenmeyi durdurucuların kullanımına neden olduğu ve hastalık problemlerini beraberinde getirdiği bildirilmiştir (Olsson ve ark. 2004).

Bir diğer çalışmada toz haline getirilmiş patates cipsleri oda sıcaklığında kapalı bir şekilde yaklaşık 100 gün depolanmış ve bu sürenin sonunda akrilamid miktarında doğrusal bir azalma olduğu bildirilmiştir (Honicke ve ark. 2004).

2.2.4.8. Kızartma İşleminde Kullanılan Yağın Etkisi

Akrilamidin oluştuğu yollardan biri yağların yüksek sıcaklıklara ısıtıldığında, gliserolün parçalanarak akroleine dönüşmesidir. Bunun dışında yağdaki doymamışlık düzeyinin artmasıyla da akrolein oluşumu artmaktadır. Ayrıca çoklu doymamış yağ asitlerinin ve onların bozunma ürünlerinin oksidasyonu sonucu da akrilamid oluşabilmektedir. Bunların dışında kullanılan yağın cinsi de akrilamid oluşumunu etkileyebilmektedir (Taeymans ve ark. 2004), (Claeys ve ark. 2005a).

Patates ile yapılan bir çalışmada 175°C'de patates dilimleri zeytinyağı, mısır yağı ve parafinde 10 ve 15 dakika kızartılmıştır. Sonuç olarak kızartma yağı cinsinin oluşan akrilamid miktarını etkileyebileceği ve en yüksek akrilamid miktarının zeytinyağı kullanıldığında oluştuğu bildirilmiştir (Becalski ve ark. 2003).

Başka bir çalışmada patateslerin kızartılmasında zeytinyağı kullanımının mısır yağına göre daha yüksek akrilamid oluşturduğu bildirilmiştir (Tareke 2003).

Kızartma yağı olarak ayçiçek ve palm yağının kullanıldığı 2 ayrı sistemde ayçiçek yağından oluşan sistemin, palm yağından oluşan sisteme göre oksidasyon etkisinden dolayı daha yüksek düzeyde akrilamid oluşturduğu, lipid oksidasyonu ile akrilamid oluşumu arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Ayrıca düşük karbonhidrat içeren veya karbonhidrat içermeyen gıdalarda lipid oksidasyonunun akrilamid oluşumunda önemli bir etken olduğu rapor edilmiştir (Capuano ve ark. 2010).

Başka bir çalışmada kızarmış patateslerde kolza yağında, ayçiçek ve palm yağına oranla daha yüksek akrilamid oluştuğu bildirilmiştir (Gertz ve ark. 2002).

Bir başka çalışmada oksidasyona karşı oldukça hassas olan soya yağı kullanılarak, yağ oksidasyonunun akrilamid oluşumu üzerine etkisi incelenmiş ve yağ oksidasyonunun parmak patatesin kızartılması sırasında oluşan akrilamid miktarına önemli bir etkisinin olmadığı, bunun yanında yağ oksidasyonunun yağ ile patatesler arasındaki ısı transferini etkileyebileceği ve dolayısıyla akrilamid oluşumunun yağ çeşidinden etkilenebileceği bildirilmiştir (Mestdagh ve ark. 2007).

2.2.5. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Azaltma Yolları

2002 yılının nisan ayında Stokholm üniversitesinin ve İsveç Ulusal Gıda İdaresinin nişastaca zengin gıdaların kızartılması veya fırında pişirilmesi sırasında yüksek miktarda akrilamid oluştuğunu bildirmesinin akabinde akrilamid oluşumunun azaltılması amacıyla birçok çalışma yapılmıştır.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde gıdalarda akrilamid oluşumunun çeşitli ön işlemlerin uygulanması, işlem parametrelerinin değiştirilmesi, ana reaktantların miktarının veya çeşidinin değiştirilmesi ya da çeşitli katkı maddelerinin ilavesi ile mümkün olabildiği görülmektedir.

2.2.5.1. Çeşitli Ön İşlemler Uygulanarak Akrilamid Oluşumunun Azaltılması

- **Haşlama ya da suda bekletme:** Gıdaları ısıtma işlemi öncesi haşlamanın ya da suda bekletmenin akrilamid oluşumunu azalttığı belirtilmektedir. Haşlama işlemi yüzeydeki nişastayı jelatinize ederek yağ absorpsiyonunu azaltmanın yanı sıra asparajinin gıdadan ayrılmasını da sağlamaktadır (Claeys ve ark. 2005a), (Foot ve ark. 2007). Ayrıca haşlama işlemi ürünün pH'ını da düşürerek akrilamid oluşumunu azaltmaktadır (Tareke ve ark. 2002).

Yapılan bir çalışmada, kızartma öncesi uygulanan haşlama süresi ve haşlama sıcaklığının kızartma sonrası patates cipsi ve patates kızartmasında akrilamid düzeyine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak; patates cipslerinde patates kızartmasına göre, haşlama sırasında şeker kaybının fazla olması nedeni ile daha düşük akrilamid düzeyleri tespit edilmiştir (Mestagh ve ark. 2008a).

Bir başka çalışmada kızartmadan önce 85°C suda 3,5 dakika haşlama işleminin 120, 150 ve 180°C'de kızartılan haşlanmış patates cipslerinin akrilamid içeriğini önemli oranda azalttığı bildirilmiştir. Haşlama işlemi patates cipslerinde oluşan akrilamid miktarlarını 120, 150 ve 180°C'lerde sırasıyla % 68, % 75 ve % 49 oranında düşürmüştür. Haşlama patates dokusundan glukoz ve asparajinin uzaklaştırılmasını sağlayarak kızarmış patates dilimlerinde daha düşük akrilamid oluşumuna neden olmuştur (Pedreschi ve ark. 2005).

Başka bir çalışmada distile suda bekletmenin patatesin glukoz, fruktoz ve sukroz içeriğini çok az değiştirdiği asparajini ise hiç değiştirmediği, sıcak suda bekletmenin

glukozda ve asparajinde ortalama olarak % 76 ve % 68 azalma sağladığı bildirilmiştir. Sıcak suda bekletilen patates dilimlerinde kızartma yüksek sıcaklıkta (190°C) yapıldığında bile oluşan akrilamid oldukça düşük miktarda (28 ppb) bulunmuştur (Pedreschi ve ark. 2004).

4 ve 8°C'de depolanan patateslerde haşlama işleminin akrilamid oluşumu üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada; 6, 12 ve 18 hafta depolama sonrasında 3 dakika 80°C'de haşlanan ve 3 dakika yağda kızartılan patateslerde akrilamid oranları araştırılmıştır. Sonuç olarak haşlama işleminin akrilamid oluşumunu % 51-73 civarında azalttığı bildirilmiştir (Viklund ve ark. 2010).

Bir diğer çalışmada kızartma işleminden önce suda bekletmenin etkisinin yeterli olmadığı ancak kısa bir kaynatma işlemi ile akrilamid miktarının azaltılabileceği bildirilmiştir. Ayrıca patates dilimleri 2 saat oda sıcaklığında suda bekletilmiş sonra kızartılmış ve bu işlemin patates cipslerinde oluşan akrilamid oluşumunu azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Williams 2005).

- **Diğer ön işlemler:** Gıda sisteminin pH'sını düşürmek, asparajinin α -amino grubunun protonlanmasını sağlayarak, asparajinin karbonille nükleofilik eklenme reaksiyonunu ve dolayısıyla akrilamid oluşumunu engelleme şeklinde etki gösterir (Zhang ve Zhang 2007).

Yapılan bir çalışmada kızartılmış patates cipsi 170°C'de 3 dakika kızartma öncesinde % 0,1-2'lik taurin çözeltisine 30 dakika daldırılmış ve akrilamid oluşumunda kayda değer bir azalma meydana gelmiştir (Shin ve ark. 2010).

Bir diğer çalışmada hamur pH'nın sitrik asit ilavesi ile 7,40'tan 3,28'e düşürülmesinin bisküvide oluşan akrilamid miktarında % 67 oranında bir azalma sağladığı, ancak bisküvilerde asidik tadın gelişimi ve yüzey renginde homojen olmayan görünümün kabul edilemeyen sınıra yakın olduğu bildirilmiştir (Gökmen ve ark. 2007).

Yapılan bir başka çalışmada, patates dilimlerine 150, 170 ve 190°C'de kızartma öncesinde 3 farklı işlem uygulanarak akrilamid miktarındaki değişim LC/MSMS cihazında incelenmiştir. Birinci işlemde patatesler sırasıyla 0, 40 ve 90 dakika saf suya daldırılmış, ikinci işlemde patatesler farklı sıcaklık ve sürelerde (50°C'de 30 ve 70 dakika, 70°C'de 8 ve 40 dakika, 90°C'de 2 ve 9 dakika) sıcak suda haşlanmıştır. Üçüncü işlemde ise patatesler % 1 ve 2'lik sitrik asit içeren çözeltilerde 30 dakika bekletilmiştir.

Sonuç olarak; 90 dakika suda bekleyen patateslerde glikoz miktarı yaklaşık % 32 azalmıştır. Suda bekletilen patates dilimlerinde akrilamid oluşumunda 150, 170 ve 190°C'de kızartılan patateslerde sırasıyla % 27, % 38 ve % 20 azalma belirlenmiştir. İkinci işlemde yapılan haşlama sonucunda glikoz ve asparajin miktarlarında % 76 ve % 68 oranında azalma belirlenmiştir. Yine ikinci işlemde yapılan 50°C'de 70 dakika haşlanıp 3 farklı sıcaklıkta kızartılan patateslerde çok düşük akrilamid miktarı (< 28 µg/kg) tespit edilmiştir. %1 ve 2'lik sitrik asit çözeltisinde 30 dakika bekletilen ve sonra 150°C'de kızartılan patateslerde akrilamid miktarında % 70 oranında bir azalma tespit edilmiştir. (Pedrechi ve ark. 2004).

Bir diğer çalışmada, haşlama suyuna kalsiyum iyonları, sodyum iyonları, asetik asit ve sitrik asit ilave edilerek patatesler 65°C'de 5 dakika haşlandıktan sonra 170°C'de 3 dakika kızartılmıştır. Bu 4 bileşiğin de haşlama suyuna atılmasının patateslerde akrilamid oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Mestagh ve ark. 2008c).

Yapılan bir diğer çalışmada 150 ve 180°C'de eşit miktarda asparajin ve fruktoz içeren sisteme, +1 ve +2 değerlikli katyonlar ilave edilerek akrilamid oluşumu incelenmiştir. Sonuç olarak +2 değerlikli katyon ilavesinin akrilamid oluşumunu neredeyse tamamen önlediği, +1 değerlikli katyon ilavesinin ise akrilamid oluşumunu yarı yarıya düşürdüğü bildirilmiştir. Patateslerin kızartma öncesinde CaCl₂ içeren suda bekletilmesinin, akrilamid oluşumunu % 95 oranında azalttığı, bunun yanında patateslerin duyuşal özelliklerinin de bu işlemde olumsuz etkilenmediği bildirilmiştir (Gökmen ve ark. 2007).

Bir başka çalışmada bisküvilerde kalsiyum tuzlarının % 0,5 oranında kullanılması ile duyuşal özelliklerde, tekstürde ve renkte herhangi bir değişim olmadan akrilamid miktarının % 70 oranında azaltılabileceği bildirilmiştir (Açar ve ark. 2010).

Patates cipslerini NaCl çözeltisinde bekletmenin akrilamid oluşumu üzerinde etkilerinin incelendiği bir çalışmada; 1. grup patates dilimleri kızartma öncesinde 85°C'de 3,5 dakika haşlanırken, 2. grup patates dilimleri aynı koşullarda haşlandıktan sonra 25°C'de, 0,02 g/L'lik sodyum klorür çözeltisinde 5 dakika hafifçe karıştırılarak beklemiştir. İki grup örnekte 120, 140, 160 ve 180°C'da kızartılmıştır. Araştırma sonucunda, kızartma öncesinde NaCl çözeltisinde bekletilen 2. grup patates

cipslerindeki akrilamid miktarının 1. gruptaki örneklere göre % 90 oranında azaldığı bildirilmiştir (Pedreschi ve ark. 2007b).

2.2.5.2. Ana Reaktantların Miktarının veya Çeşidinin Değiştirilmesi ile Akrilamid Miktarının Azaltılması

Akrilamid oluşumundaki ana bileşenler indirgen şeker ve asparajin aminoasididir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki; bu iki bileşenin miktarını azaltıcı veya çeşidini değiştirici yöntemler oluşacak akrilamid miktarını da azaltmaktadır.

Yapılan bir çalışmada bisküvi üretiminde indirgen şeker yerine sakkaroz kullanımının akrilamid oluşumunu % 70 oranında azalttığı bildirilmiştir. (Graf ve ark. 2006).

Başka bir çalışmada fırıncılık ürünlerinde glukoz yerine sükroz kullanımının akrilamid miktarında azalmaya neden olduğu, ancak bisküvilerde yüzey renginin oluşumunda indirgen şekerlerin sükroz ile yer değiştirmesi sonucunda istenilen esmerleşmenin gerçekleşmediği bildirilmiştir (Amrein ve ark. 2004), (Gökmen ve ark. 2007).

Reaksiyon ortamına asparajinaz enzimi ilavesi, asparajinin aspartik asit ve amonyağa enzimatik yolla hidrolizine neden olduğundan, asparajin miktarını dolayısıyla akrilamid oluşum miktarını azaltmaktadır.

Yapılan bir çalışmada hamura asparajin enzimi ilavesinin krakerlerde akrilamid oluşumunu % 70 oranında azalttığı bildirilmiştir (Vass ve ark. 2004).

Başka bir çalışmada, bezelye orjinli asparajinaz enziminin; buğday, kepek ve tam un ekmeklerinde akrilamid miktarındaki etkisi incelenmiştir. % 0, 1, 3, 5 oranlarında 2 gün çimlendirilmiş bezelye unu ekmeğe katılmıştır. Beyaz buğday ekmeğinde akrilamid oluşumunda kayda değer bir azalma tespit edilmemiştir. Fakat kepek ve tam un ekmeklerinde % 57 ve % 68 oranında azalma olduğu bildirilmiştir (Tuncel ve ark. 2010).

Bir diğer çalışmada patates püresi ile hazırlanan gıdalarda asparajinaz enzimi uygulaması ile akrilamidin % 99 oranında azaltılabildiği gösterilmiştir (Zyzak ve ark. 2003).

Akrilamid oluşumunu engellemesi ve son ürünün karakteristik özelliklerini etkilememesi bakımından asparajinaz enzimi oldukça etkilidir. Ancak maliyeti nedeniyle ucuza satılan gıdalarda (ekmek, bisküvi, patates cipsi vb.) uygulanması pek mümkün görülmemektedir (Claus ve ark. 2008b).

2.2.5.3. Çeşitli Katkı Maddeleri Eklenerek Akrilamid Miktarının Azaltılması

Isıl işleme tabi tutulan gıdalarda oluşan akrilamid miktarını azaltmanın yollarından biri de dışarıdan antioksidan, vitamin, organik asit, tuz ve karbonat gibi katkı maddelerinin eklenmesidir. Yapılan çalışmalar gıdalarda oluşan akrilamid miktarının azaltılmasında antioksidan maddelerin kullanılmasının olumlu veya olumsuz sonuçları olabileceğini göstermiştir. Her ne kadar antioksidan eklenmesi ile akrilamid oluşumu arasında pozitif ya da negatif bir ilişkinin varlığı tam olarak doğrulanmasa da antioksidanların Maillard reaksiyonunda oluşan serbest radikal ara ürünlerden reaktif serbest elektronları kopararak faydalı bir etkisinin olabileceği belirtilmektedir (Zhang ve Zhang 2007), (Friedman ve Levin 2008).

Yapılan bir çalışmada BHT (butilhidroksitoluen), E vitamini ve susam gibi antioksidanların daha yüksek akrilamid oluşumuna neden olduğu, flavonoid içeren antioksidanların ise akrilamid miktarını düşürücü etki yaptığı bildirilmiştir (Tareke 2003), (Claeys ve ark. 2005a), (Hedegaard ve ark. 2008).

CaCl_2 , NaHSO_3 , ferulik asit, kateşin ve L-sisteinin akrilamid oluşumundaki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, hepsinin akrilamid oluşumunu önlediği, CaCl_2 'ün ise akrilamid oluşumunu % 85'e kadar azalttığı rapor edilmiştir (Ou ve ark. 2008).

BHA, BHT, ferulik asit ve C vitamini gibi antioksidanların akrilamid oluşumundaki etkilerinin incelendiği bir çalışmada antioksidanların akrilamid oluşumunu önleyemediği hatta akrilamid oluşumunu arttırdığı, fakat bu antioksidanların oksidasyon ürünlerinin akrilamidi ve öncü maddesi olan asparajini parçalayarak akrilamid oluşumunu önlediği ifade edilmektedir (Ou ve ark. 2010).

Sadd ve ark. (2008), tarafından yapılan bir çalışmada, unlu mamullerin hamuruna karbonat ve klorür şeklinde ilave edilen kalsiyum metalinin akrilamid oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir

Bir diğerk çalışmada patates model sistemine ilave edilen sisteyinin akrilamid miktarında % 92, lizinin % 39 ve glisinin % 24 azalma sağladığı bildirilmiştir (Mestdagh ve ark. 2008a).

Diğerk bir çalışmada patates cipslerini kızartılmadan önce glutamin veya glisin içeren suda haşlamannın akrilamid miktarını % 30, aynı çalışmada ekmek hamuruna eklenen glisinin de ekmek kabuğunda akrilamid miktarını % 50-90 civarında azalttığı bildirilmiştir (Brathen ve ark. 2005).

Başka bir çalışmada patates cipslerini kızartılmadan önce % 3'lük glisin veya lizin çözeltilisine daldırmanın akrilamid oluşumunu % 80 azalttığı bildirilmiştir (Kim ve ark. 2005).

Zencefilli-pekmezli ekmek ile yapılan bir çalışmada kabartma ajanı olarak amonyum bikarbonat kullanımının akrilamid oluşumunu yükselttiği, sodyum bikarbonat kullanımının ise akrilamid oluşumunu 1/3 oranında düşürdüğü bildirilmiştir. Ortamda amonyak varlığı akrilamid oluşumunda önemli bir etken olarak görölmektedir (Amrein ve ark. 2004).

Bir başka çalışmada askorbik asidin Maillard reaksiyonunda bir indirgen şeker gibi davrandığı ve bu asidin indirgenme ürünlerinin aminoasitler ve peptitlerle reaksiyona girerek Maillard reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid miktarını azalttığı bildirilmiştir (Rydberg ve ark. 2003).

2.2.5.4. Sıcaklık ve Sürenin Değişimi ile Akrilamid Miktarının Azaltılması

Akrilamid oluşumunda işlem sıcaklığı ve işlem süresi etkili olmaktadır. Kızartma-kavurma işlemlerinin çok yüksek sıcaklık ve sürede gerçekleşmesini önlemek akrilamid oluşum miktarını düşürebilmektedir. Ancak, patates kızartması gibi ürünlerde düşük sıcaklık ve kısa süre uygulamaları ürünün fazla yağ çekmesine ve gevrek bir yapı oluşmamasına neden olabilmektedir (Anonim 2003).

Patateslerin kızartılması sırasında, (170°C'de 2 dakika + 150°C'de 2 dakika), (170°C'de 1 dakika + 150°C'de 3 dakika) ve (190°C'de 1 dakika + 150°C'de 3 dakika) gibi farklı sıcaklık-süre uygulamalarının akrilamid oluşumunu azaltabileceği bildirilmiştir (Palazoğlu ve Gökmen 2008).

Bir diğerk çalışmada patatesleri düşük sıcaklıkta ve vakum altında kızartmanın akrilamid oluşum miktarını % 94 oranında azalttığı bildirilmiştir (Granda ve ark. 2004).

Asparajin-şeker sistemlerinde akrilamid oluşumunun araştırıldığı bir çalışmada, asparajin-glikoz sisteminin 199°C'de 18 dakika ısıtıldığında akrilamid oluşumunun arttığı, asparajin-fruktoz sistemde, sıcaklığın artırılarak sürenin kısaltılması (200°C'de 15 dakika) ve sıcaklığın düşürülerek sürenin uzatılması (150°C'de 35 dakika) ile akrilamid oluşumunun arttığı, asparajin-sakkaroz model sisteminde ise, akrilamid oluşumunun sıcaklığın artırılıp sürenin kısaltılması ile artarken, sıcaklığın düşürülüp ısıtma süresinin uzaması ile azaldığı ifade edilmektedir (Zhang ve ark. 2007a).

2.2.6. Akrilamid'in İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Akrilamidin insan sağlığı açısından önemini daha iyi anlamak için bazı terimlerin bilinmesi faydalı olacaktır.

NOAEL (No Observed Advers Effect Level) (mg/kg) : Deney hayvanlarına yaşam sürelerinin % 70-80'ini kapsayacak sürede test edilen katkı maddesini verip, hiçbir yan etkinin gözlemlenmediği dozdur.

ADI (Acceptable Daily Intake) (mg/kg) : İnsanlarda günlük alınmasına izin verilebilen güvenli doz olarak kabul edilir.

İnsanlarda güvenli olan doza (ADI) ulaşılabilmesi için NOAEL değeri, güvenlik faktörüne bölünür. Güvenlik faktörü, genellikle 100 olarak kullanılır. Ancak gıda katkısının toksisite verilerinde herhangi bir şüpheli durum olduğunda bu değer 1000'e kadar çıkabilir. Ya da epidemiyolojik verilerle gıda katkısının güvenliği kanıtlandı ise güvenlik faktörü 100 den küçük olabilir. Diğerk bir deyişle deney hayvanlarında hiçbir yan etki yaratmayan dozun yüzde biri insanlarda genellikle güvenli kabul edilmiştir. Bu yöntem 1954 yılından beri gıda katkıları ve gıdalardaki kimyasal kirlilikler için uygulanmaktadır. Geride kalan 50 yılı aşkın sürede edinilen deneyimler bu uygulamanın yeterli koruma sağladığını göstermektedir

(<http://www.turktox.org.tr/gida/index.php?p=limitdegerler>, 2014).

NOAEL değerinden ADI değerine aşağıdaki işlem yapılarak ulaşılır;

$$\frac{\text{NOAEL (mg/kg/deney hayvanı)}}{\text{Güvenlik faktörü (10x10)}} = \text{ADI (mg/kg/insan)}$$

Güvenlik faktörünün hesaplanması;

10: Deney hayvanı sonuçlarının insana uyumlandırılması
(4.0 Toksikokinetik x 2.5 Toksikodinamik farklılık)

10: İnsanlar arasındaki bireysel farklılık
(3.2 Toksikokinetik x 3.2 Toksikodinamik farklılık)

Alara Prensibi (as low as reasonably achieveable) : Radyasyondan korunmada bütün faktörlerin değerlendirilerek mümkün olan en düşük dozun alınması prensibidir.

LD₅₀ (lethal doz 50) : Kontrollü koşullar altında test hayvan populasyonlarının en az % 50'sini öldürmek için gerek duyulan toksik maddenin miktarı ya da konsantrasyonudur.

Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü (IARC) 1994 yılında akrilamidi "Grup 2A" yani insanda kanserojenik etki yapma olasılığı bulunan bileşikler grubuna dâhil ettiğinde (IARC 1994), akrilamid sadece çevresel bir kontaminant olarak değerlendiriliyordu. Akrilamidin, 2002 yılında ısıtılmış nişasta bazlı gıdalarda kendiliğinden oluştuğu deklare edildikten sonra gıdalarda akrilamid oluşumu, miktarı ve insan sağlığı açısından önemi dikkat çekici bir hal almıştır.

Dünya sağlık örgütü (WHO) ve Dünya tarım örgütü (FAO) 2005 yılında özellikle nişasta bazlı gıdaların, işlenmesi ya da yüksek sıcaklıkta pişirilmesi sırasında yüksek miktarlarda akrilamid oluşturabileceklerini ve bu gıdaların insan sağlığı açısından ciddi riskler taşıyabileceğini bildirmiştir (Jiao ve ark. 2005), (Zhang ve ark. 2006).

Akrilamidin sudaki yüksek çözünürlüğü nedeni ile vücutta (süt ve plasenta dâhil) çok geniş bir alana yayılabildiği bildirilmiştir (Tritscher 2004), (Granby ve Fagt 2004), (Friedman ve Levin 2008).

Akrilamidin insan vücudunda enzimatik bir reaksiyonla, mutajenik ve kanserojenik olduğu düşünülen glisidamide (2,3-epoksipropionamid) dönüştüğü

belirtilmektedir (Claeys ve ark. 2005a), (Rommens ve ark. 2008), (Wakaizumi ve ark. 2009).

Akrilamid ve metabolitleri dokularda RNA, DNA ve proteine (hemoglobun gibi) bağlanmaktadır. Akrilamid metabolitlerinden biri olan glisidamid, DNA bileşikleri oluşturmada akrilamide oranla çok daha reaktiftir. Akrilamid verilmiş kemirgenlerde, incelenen tüm dokularda dikkate değer miktarda glisidamid-DNA bileşikleri olduğu ve tekrarlayan akrilamid yükleme diyetleri neticesinde bileşiklerin miktarının dikkate değer seviyelere ulaştığı tespit edilmiştir. Akrilamid ya da glisidamid verilmiş farelerin karaciğer, akciğer, testis, akyuvar ve böbreklerinde, sıçanların ise karaciğer, tiroid, testis, meme bezleri, kemik iliği, akyuvar ve beyinlerinde glisidamid-DNA bileşikleri tespit edilmiştir (Açar 2010).

Akrilamid ve glisidamid aynı zamanda hemoglobun aminoasitlerine de kovalent olarak bağlanmakta ve N-ucundaki valine bağlanarak oluşturduğu bileşikler, insanlarda akrilamide maruz kalma miktarlarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Diyet yoluyla akrilamide maruz bırakılan kemirgenler ve insanlarda akrilamid ve glisidamidin hemoglobun ile yaptıkları bileşiklerin miktarlarının ölçüldüğü çalışmalarda, fareler, sıçanlar ve insanlarda glisidamid oluşum miktarlarında türlerden kaynaklanan farklılıkların ortaya çıkabileceği belirtilmiştir (fare > sıçan > insan) (JECFA 2005).

Yine yapılan hayvan denemelerde yüksek dozlardaki akrilamidin üreme ve sinir sistemini etkilediği, metabolik ürünü olan glisidamidin ise DNA'yı bağlayarak genetik hasara yol açtığı bildirilmiştir (Paulsson ve ark. 2001), (Dybing ve Sanner 2003), (Baardseth ve ark. 2006a).

Akrilamide maruz kalmanın, akrilamidin metaboliti olan glisidamid aracılığı ile insanlarda ve hayvanlarda sinir sistemi hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Calleman ve ark. 1990), (Costa ve ark. 1992), (Bergmark ve ark. 1993), (Calleman 1996).

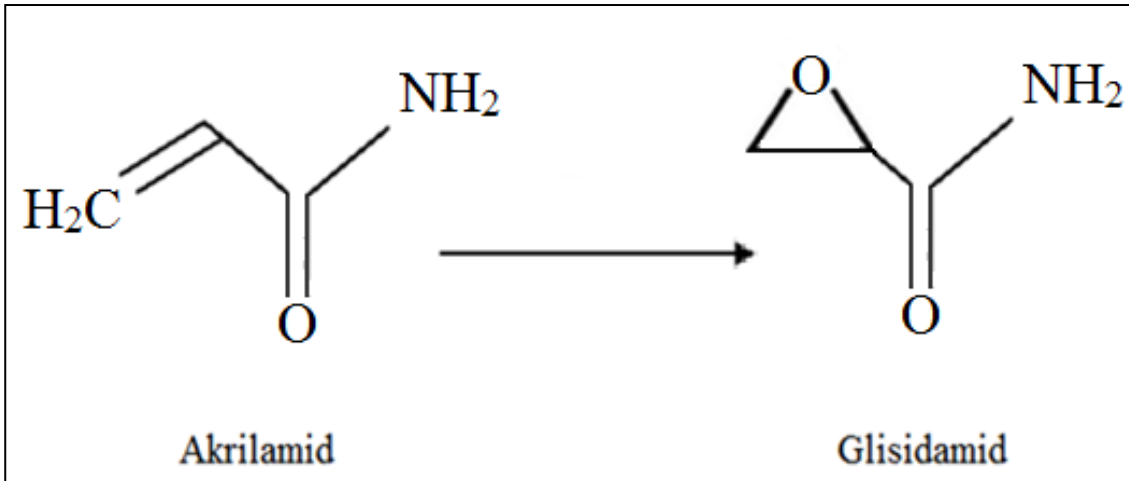
Hayvanlar için toksik etkinin oluşabilmesi için tek seferde 100 mg/kg vücut ağırlığından fazla miktarda akrilamide maruz kalınması gerekmektedir. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda LD₅₀ değeri 107-203 mg/kg vücut ağırlığı olarak bulunmuştur (EC SCF, 2002; JECFA, 2005).

Sinir sistemine etkisi (sinirlerde morfolojik değişiklik) için JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) 0,2 mg/kg vücut ağırlığı/gün

NOAEL değerini belirlemiştir. Ayrıca, reproduktif ve gelişimsel etkilerin 2,0 mg/kg vücut ağırlığı/gün NOAEL değerinde kemirgenlerdeki erkek fertilitesi ve testisler üzerinde etkisi olduğu tahmin edilmektedir (Blank 2005).

Akrilamidin toksik etki gösterdiği birincil bölge sinir sistemidir. Tekrarlanan akrilamide maruz bırakma denemelerinde, günlük 20 mg/kg vücut ağırlığı ya da daha fazla akrilamide maruz bırakılan kemirgenlerin periferik sinirlerinde ciddi lezyonlar olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra, iskelet kaslarının zayıflaması, testiküler atrofi, eritrosit parametrelerinin azalması gibi etkiler gözlemlenmiştir. Günlük 5 mg/kg vücut ağırlığı dozun uygulandığı 90 günlük çalışmada periferik sinir lezyonları gözlemlenmiş, dozun günlük 1 mg/kg vücut ağırlığına düşürülmesi ile periferik sinirlerde sadece elektron mikroskopu ile belirlenebilen hasarın olduğu, günlük dozun 0,2 mg/kg vücut ağırlığına düşürülmesi durumunda ise hiçbir etkinin gözlemlenmediği bildirilmiştir. Solunum ya da deri yoluyla akrilamide maruz kalan insanlarda nöropatolojik etkiler gözlemlenmekle birlikte, insanlarda maruz kalma dozuna bağlı sonuçları ortaya koyacak yeterli veri bulunmamaktadır (AÇAR 2010).

Yapılan bir çalışmada; tolere edilebilir günlük akrilamid alım miktarları incelenmiş ve tolere edilebilir günlük alım düzeyleri; nerotoksisite için 40 µg/kg-gün, glisidamid için 16 µg/kg-gün ve kanser riski için de 2,6 µg/kg-gün olarak bulunmuştur (Tardiff ve ark. 2010).



Şekil 2. 8. Akrilamidin glisidamide dönüşümü (Motwani ve Törnqvist 2011).

2.2.6.1. Akrilamid'in Kanserojen Etkisi

Oral yolla alınan yüksek dozda akrilamidin deney hayvanlarında kansere yol açmasından dolayı insanlar için de potansiyel kanserojen olduğu düşünülmekte fakat gıdalarla alınan düşük miktarda akrilamidin insanlarda kansere neden olup olmadığı hakkında yeterli veri bulunmadığı ifade edilmektedir (Anonim 2004a). Buna karşın 2005 yılında JECFA, işlenmiş veya yüksek sıcaklıkta pişirilmiş nişasta bazlı gıdaların önemli düzeylerde akrilamid içerebileceklerini ve bu gıdaların insan sağlığı için ciddi riskler taşıyabileceğini duyurmuştur (Zhang ve ark. 2006)

1997 yılında WHO (World Healty Organization)'nun bir birimi ve amacı kanserin muhtemel nedenlerini araştırmak olan IARC (The International Agency for Research on Cancer), akrilamidi '**İnsanlar için muhtemel kanser yapıcı madde**' olarak tanımladığında akrilamidin gıdalarda oluştuğu henüz bilinmiyordu.

ABD'nin aralarında CDC (Centers for Disease Control and Prevantion), FDA (Food and Drug Administration) ve NIH (National Institutes of Healty)'in bulunduğu kuruluşların oluşturduğu birimi NTP (National Toxicology Program), laborotuardaki deney hayvanları ile yapılan çalışmaları dikkate alarak 2011 yılında yayımladığı son raporunda akrilamidi '**İnsanda kanser yapma olasılığı yüksek madde**' olarak sınıflandırmıştır.

EPA (The US Environmental Protection Agency) akrilamidi '**insanlar için muhtemel kanserojen madde**' olarak sınıflandırmıştır.

<http://www.cancer.org/cancer/cancercauses/othercarcinogens/athome/acrylamide>, 2014)

Minnesota Üniversitesi'nde Gıda ve Beslenme Bölümü Profesörlerinden Theodore P. Labuza'aya göre (2011 yılında bir sözlü görüşme sırasında); kanserlerin % 30'u gıdalardan alınan akrilamid kaynaklıdır (Kocadağlı 2011).

Yapılan bir çalışmada insanlar için yaşam boyu tüketilen günlük akrilamid miktarının 1 µg akrilamid/kg vücut ağırlığı düzeyinde olması durumunda, kanser olma riskinin 10000'de 7-45 arasında olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada İsveç'te kalın bağırsak, böbrek ve mesane kanseri ile gıda tüketimiyle akrilamid alımı arasındaki ilişki incelenmiş ve yeterli istatistiksel veri olmadığından teşhis edilebilir düzeyde akrilamid içeren gıda tüketimi ile kanser riski arasında yüksek bir ilişki saptanamadığı

bildirilmiş, ancak kolon kanseri ile gıda yoluyla akrilamide maruz kalma arasında bir ilişki bulunduğu rapor edilmiştir (Mucci ve ark. 2003).

İtalya ve İsviçre'de 1991-2000 yılları arasında hastanede yatan 79 yaş altı insanlarla yapılan vaka-kontrol çalışmasında kızarmış patates ve patates cipsi tüketimi ile çeşitli kanser çeşitleri (ağız boşluğu, yutak, yemek borusu, gırtlak, kalın bağırsak, kolon, rektum, yumurtalık) arasındaki ilişki incelenmiştir. Sonuç olarak; fırınlanmış patates tüketimi ile kanser riski arasında önemli bir ilişki bulunamamasına rağmen kendi içerisinde kızartılmış patates tüketimiyle kalın bağırsak kanseri arasında açık bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada seçilen popülasyonda fırınlanmış patates tüketiminin örneğin ABD ile kıyaslandığında oldukça az olması ve çalışmada incelenen Güney Avrupa popülasyonunun Kuzey Avrupa ve ABD halkına göre farklı pişirme tekniklerinin olması gibi sınırlandırıcı faktörler rol oynamıştır (Pelucci ve ark. 2003).

Sonuç olarak akrilamidin gıda yoluyla alımı ile kanserojen etki arasındaki ilişkinin daha net ortaya konabilmesi için daha fazla çalışma yapılması ve veri toplanması gerekmektedir.

2.2.6.2. Akrilamid'in Üreme ve Gelişim Sistemi Üzerine Etkisi

Akrilamidin metabolik ürünü olan glisidamid DNA'yı bağlayarak, hücrelerde genetik hasara yol açmaktadır (Dybing ve Sanner 2003), (Motwani ve Törnqvist 2011). Glisidamidin hücre içinde ve hücre dışında genotoksik etkileri bulunmaktadır. 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 ve ark. 2008).

Yapılan bir çalışmada 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 rapor edilmiştir (Sakamoto ve Hashimoto 1986), (Chapin ve ark. 1995), (Wise ve ark. 1995).

Yapılan bir çalışmada kızartılmış yiyeceklerle beslenen hayvanlarda, kızartılmış yiyecek tüketmeyen hayvanlara kıyasla yüksek düzeylerde hemoglobin bağlayıcı ve

DNA bağlayıcı özellikler ve hayvan hücrelerinde kromozom anomali görülmüştür (Tareke ve ark. 2000), (Mucci ve ark. 2003).

Bir başka çalışmada Sıçanların kanında akrilamidin hemoglobini bağlayarak N-valin (2-karbometil) oluşturduğu belirlenmiştir (Tareke ve ark. 2000).

Sıçanlarla yapılan diğer bir çalışmada üreme toksisitesinin NOAEL değeri günlük 0,5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (Tritscher 2004).

Akrilamidin farelerin ve sıçanların spermatidlerinde mutasyonlara neden olduğu ve memeli üreme hücresi mutajeni olduğu düşünülmektedir (Shelby ve ark. 1987), (Adler ve ark. 2002).

2.2.6.3. Akrilamid'in Nörotoksik Etkisi

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 bildirilmiştir (He ve ark. 1989).

Akrilamide maruz kalan işçilerin, periferik nöropati (his bozukluğu) belirtileri sergilemesi bu bileşiğin insan üzerinde nörotoksik etkisinin olduğunu göstermektedir (Calleman ve ark.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 ve ark. 1989).

Sıçanlarla yapılan içme suyu çalışmasında periferik nöropati (his bozukluğu) oluşumu için NOAEL değeri günlük 0,5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş olup daha yüksek düzeylerde merkezi sinir sistemi nöropatisi de gözlemlenmiştir (Tritscher 2004).

2.2.7. Gıdalarda Akrilamid'in Yasal Limiti

Isıl işlem görmüş karbonhidrat bazlı gıdalarda akrilamid düzeyleri ile ilgili henüz ne Avrupa Birliği ne de ülkemiz de belirlenmiş limit değerleri bulunmamaktadır. Fakat Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)'nin 2007-2008 yılları arasında gerçekleştirdiği '**Gıdalarda Akrilamid İzleme Programı**' verilerinden yola çıkarak çok tüketilen bazı gıdalar için '**Gösterge Değerler**' adı altında bir liste yayımlamıştır. 'Gösterge Değerler' akrilamid için maksimum limit değerleri olmayıp, yetkili merci için bu değerler aşıldığı zaman sorunun nerde olduğuna dair yardımcı olacak bir rehber niteliğindedir. Bir üründe bu değerler aşıldığı zaman o bölgedeki yetkili makam o verileri ilgili operatörden alıp Avrupa Komisyonu yetkililerine rapor etmekle yükümlüdür. Bu veriler gıdalarda akrilamidin azaltılmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesine ve ilerde maksimum limitlerin düzenlenmesine katkı sağlayacaktır (http://www.food.gov.uk/science/acrylamide/#.U3D9VIF_sud, 2014).

Çizelge 2. 5. Gıdalarda akrilamid için gösterge değerleri

(http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/recommendation_10012011_acrylamide_food_en.pdf, 2014)

Gıda Maddesi	Gösterge Değer (µg/kg)
Kızartılmış Fransız patatesi	600
Patates cipsi	1000
Ekmek	150
Kahvaltılık tahıllar	400
Bisküvi, kraker vb.	500
Kavrulmuş kahve	450
Hazır kahve	900
Bebek maması(Piştirilmiş tahıl bazlı olanlar hariç)	80
Bisküvi ve galeta (çocuklar için)	250
Piştirilmiş tahıl bazlı gıdalar (çocuklar için, bisküvi ve galeta hariç)	100

2.3. Akrilamid Analiz Yöntemleri

2002 yılında işlenmiş veya ısıl işlem görmüş karbonhidratça zengin gıdalarda akrilamid oluşumunun keşfinden sonra, bu kontaminantın analizi ile ilgili birçok yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemler arasında en etkili ve sıklıkla kullanılanları sıvı ve gaz kromatografisi ile bu iki cihaza tekli veya ikili kütle spektrometresinin bağlanmasıyla oluşan GC, GC/MS, GC/MSMS, LC, LC/MS, LC/MSMS sistemlerinin kullanıldığı yöntemlerdir. Bunların dışında; Elektrokinetik kapiler kromatografi, biyosensör kit, NIR ve ELİSA sistemlerinin kullanıldığı yöntemlerin de olduğu bilinmektedir (Gianni ve ark. 2007), (Zhou ve ark. 2007a), (Pedreschi ve ark. 2010b), (Quan ve ark. 2011).

Kullanılan metod ne olursa olsun akrilamid analizi için ekstaktın saflaştırılması çok önemli bir işlemdir. Ekstraktın saflaştırılması için katı faz ekstraksiyon (SPE) kolonları kullanılmaktadır.

Akrilamid analizi sırasında numunedeki kayıpları önlemek için, ekstraksiyon işleminin başında akrilamid izotopunun iç standart olarak ilave edildiği metodlar geliştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan en yaygın iç standartlar; izotop etiketli $^{13}\text{C}_3$ akrilamid, $^{13}\text{C}_1$ akrilamid ve D_3 -akrilamid'dir (Wenzl ve ark. 2003), (Kim ve ark. 2007), (Zhu ve ark. 2008).

Avrupa'nın önde gelen laboratuvarlarından DLA (Dienstleistung Lebensmittel Analytik) ve CSL (Central Science Laboratory) Avrupa Birliği üyesi ülkelerdeki akredite laboratuvarların akrilamid analizlerindeki performanslarını ölçmek için laboratuvar yeterlilik test numuneleri hazırlamaktadırlar. Çizelge 2.6'da bu testlere katılan laboratuvarlar ve bu laboratuvarların akrilamid analizinde kullandığı metodlar listelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2. 6. Avrupa Birliği üyesi ülkelerde akrilamid analizi için kullanılan yöntemler (Wenzl ve ark. 2003)

Üye Ülke	LC/MS ya da LC/MSMS	LC/UV	GC/MS (EI/CI)	GC/MS Brom Türevlendirmeli
Avusturya				X
Belçika	X			
İsviçre	X		X	X
Çekoslovakya			X	
Danimarka	X			
Almanya	X	X	X	X
İspanya				X
Fransa	X			
Finlandiya	X			
Yunanistan			X	X
İrlanda				X
İtalya				X
Norveç	X			
Hollanda	X			X
İngiltere	X			X

Akrilamid analiz metodları incelendiğinde kromatografik metodların özellikle de sıvı ve gaz kromatografisi metodlarının ağırlıklı olduğu görülmektedir.

2.3.1. Kromatografi

Kromatografi, bir karışımda bulunan bileşenlerin birbirinden ayrılmasını sağlayan ve bu sayede kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapıldığı yöntemlerin genel adıdır. Bu yöntemlerde çalışma düzeneği temel olarak iki bileşenden oluşur. Bu bileşenlere sabit faz (stationary phase) ve hareketli faz ya da mobil faz (mobile phase) adı verilir. Mobil fazın içerisinde yer alan bileşenler, sabit faza ait dolgu maddesiyle etkileşimleri sebebiyle, bir miktar tutulurlar. Bu tutulma, örnekteki farklı bileşenler için farklı miktarlarda olur. Böylece bileşenler sabit fazın sonlarına doğru, farklı hızlarda ilerledikleri için, birbirinden ayrılmış vaziyette sabit fazı farklı zamanlarda terkederler. Bu şekilde sabit fazdan çıkan bileşenlerin derişimleri uygun bir biçimde ölçülür ve zamana veya mobil fazın kullanılan hacmine karşı y ekseninde işaretlenerek “**kromatogram**” denilen grafikler elde edilir (<http://emr-chromatography.com/>, 2014).

Kromatografik yöntemler kullanılan mobil fazın sıvı veya gaz olmasına göre; Sıvı Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılır

2.3.1.1. Sıvı Kromatografisi

Sıvı kromatografisi çeşitleri genel olarak aşağıdaki gibidir;

- Yüksek Basıncılı (Performanslı) Sıvı Kromatografisi
 - İyon Değiştirme Kromatografisi
 - Size Exclusion (Eleme) kromatografisi
 - Chiral Ayırma Kromatografisi
- **Yüksek Basıncılı (Performanslı) Sıvı Kromatografisi (HPLC)**

Sıvı kromatografisi tekniklerinden High Performance Liquid Chromatography (HPLC) yüksek performanslı sıvı kromatografisi, kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılmasına uygunluğu ile sanayinin ve birçok bilim dalının birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğinden dolayı en çok tercih edilen yöntemdir. Bu tip bileşiklere örnek olarak aminoasitler, proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar, ilaçlar ve pestisitler verilebilir.

Yüksek performans, yüksek resolüsyonu (ayrımı) ifade eder. Mobil fazın yüksek basınçla ilerlemesi sağlandığı için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi olarak adlandırılır.

Mobil faz, analiti taşıyan hareketli fazdır, Mobil faz genellikle su ve sulu tampon çözeltiler, bunların metanol ve/veya asetonitril ile oluşturulan çözeltileri veya organik solventlerden oluşur. Mobil fazın bileşimi ve pH değeri ayrımı direkt etkiler, kullanılan tekniğe, numune tipi ve kolona göre mobil faz seçilmelidir.

HPLC ünitesi Degasser, pompa, autosampler, kolon, kolon fırını ve dedektör olmak üzere 6 kısımdan oluşmaktadır.

✚ **Degasser:**

Mobil faz şişesinden taşınan hareketli fazdaki hava kabarcıklarının ve çözünmüş havanın giderilmesini sağlar. Kullanılan mobil faz adedi ve pompa tiplerine göre uygun degasserler bulunmaktadır.

✚ **Pompa:**

Pompa mobil fazın yüksek basınçla HPLC sistemi içinde hareket etmesini sağlar. Degasserden mobil fazı çekip, örnekleme ve kolon ünitesine gönderir. Bu işlemi akış hızını ve basınç değerini ayarlayarak gerçekleştirir. Akış hızı aralıklarına göre pompalar Analitik, Analitik-Preparatif ve Preparatif olarak gruplandırılabilir. Analitik pompalar genellikle 0,1-5ml akış değerleri arasında kullanılır. Mobil faz adedi ve karıştırma kabiliyetlerine göre İzokratik (Tek Kanallı), Binary Gradient (Çift Kanallı Mikserli) ve Quaternary Gradient (Dört Kanallı Mikserli-Miksersiz) olarak dizayn edilir. Bazı üreticiler isteğe bağlı olarak Sekiz kanala kadar da kullanıcıya özel dizayn yapabilmektedir. İzokratik çalışmalarda mobil faz önceden karıştırılıp hazırlanır. Gradient çalışmalarda karışım değişik zamanlarda değişik oranlarda yapılabilir. Bu sayede analiz kalitesi artırılıp, analiz süreleri azaltılabilir. Pompa ünitesi genellikle iki pistonlu başlık, basınç dengeleyici (damper), işlemci, inlet ve outlet check valflerden oluşur. Günümüzde Nano ve Ultra Basınçlı pompaların kullanılmaya başlamasıyla, HPLC sistemleri UHPLC ve NHPLC şeklinde isimlendirilmektedir. Uzun süreli kullanım ve tekrarlanabilir sonuçlar için pompa temizliği ve bakımına dikkat edilmelidir.

✚ **Örnekleyici (Outo sampler):**

Örnekleyici, analitlerin kolon ve detektöre gönderilmesini sağlar. Örnekleyici temel olarak manuel (el tipi) ve Otomatik olmak üzere iki tiptir. Manuel örnekleyicilerde numune bir şırıngaya çekilip valf yardımıyla sisteme gönderilir, oto örnekleyicilerde ise bu işlemleri cihaz kendisi yapabilmektedir. Bazı ünitelerde soğutma, ısıtma, seyreltme ve karıştırma özellikleri vardır. 10 vialden 1000 vial kadar değişik kapasitede olanları bulunabilir. Oto örnekleyiciye numune verilirken en önemli konu numunenin temiz olmasıdır, aksi halde sistem çabuk kirlenir veya tıkanır.

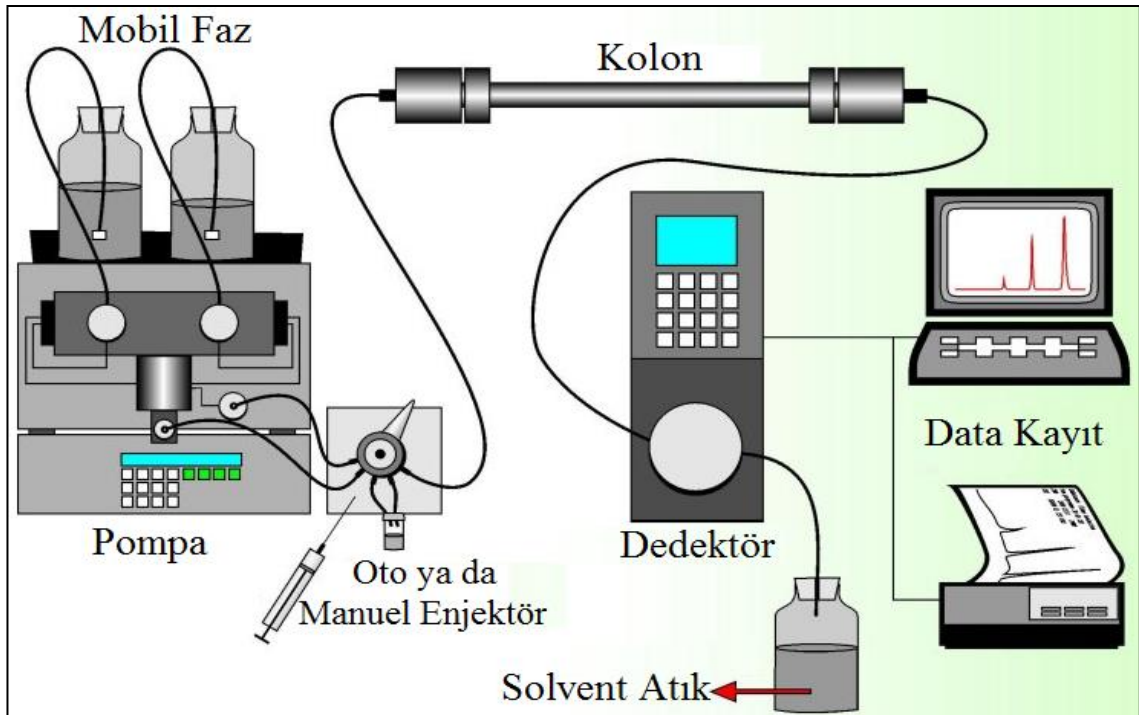
Numuneleri cihaza göndermeden önce muhakkak şırınga filtresinden veya kartuştan geçirmek gerekir. Numunenin mümkün olduğunca berrak ve renksiz olması tercih edilir.

🌈 Kolon:

Kolon (sabit faz), maddelerin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden yararlanarak birbirlerinden ayırt edilmesini sağlar. Genellikle Çelik, Peek ve camdan imal edilir ve içi belli ölçülerde sabit fazla doldurulur (Silika veya polimer gibi). HPLC nin hayata geçmesiyle kullanılmaya başlanan silika bazlı kolonlar artık yerini yavaş yavaş hızlı analiz yapabilen mikro ve nano gözenekli polimer bazlı kolonlara bırakmaya başlamıştır. Polimer kolonlar silika bazlı olanlara göre ortalama 3 kat daha uzun ömürlüdür ve rejenere edilebilir.

🌈 Kolon Fırını:

Kolon fırını, kolonu saklamak ve sabit sıcaklıkta tutmak için kullanılır. Blok ısıtıcı, fanlı ve peltier kolon fırınları mevcuttur. Peltier sistemler çok çabuk ısıtılıp soğutulabildiği ve daha stabil sıcaklık sağladığı için tercih edilir. Kaçak sensörlü ve multi kolon teknolojili olanları da mevcuttur.



Şekil 2. 9. HPLC cihazının şematik gösterimi

HPLC teknikleri kullanılan mobil faza, sabit faza ve moleküller arası etkileşim türlerine göre normal faz ve ters faz kromatografisi olmak üzere iki temel gruba ayrılır.

➤ **Normal Faz Kromatografisi:**

Normal faz kromatografisinde sabit faz polar (silikajel-polimer ve üzerine bağlanmış -CN,-NO₂ veya NH₂) dolgu maddelerinden oluşurken, mobil faz apolar ya da düşük polariteye sahip (etileter, kloroform, hegzan vb.) çözücülerden oluşur.

Benzer özelliklere sahip maddelerin birbiri içinde dağılma özelliği yüksek olduğu için düşük polariteye sahip analit mobil fazda çok iyi çözünür ve kolondan ilk önce çıkar. Ayrıca yine aynı özellik sebebiyle apolar analit polar sabit fazla az etkileştiğinden dolayı kolonda kısa süre tutunabilir.

➤ **Ters faz Kromatografisi:**

Ters faz kromatografisinde sabit faz apolar (silikajel-polimer ve üzerine bağlanmış C18, oktil veya fenil grupları, metil ve etil gruplu) dolgu maddelerinden oluşurken, mobil faz polar (metanol, asetonitril, tetrahidrofuran gibi güçlü organik çözücülerin sulu veya tamponlanmış, pH ayarı yapılmış karışımları) çözücülerden oluşur.

Benzer özelliklere sahip maddelerin birbiri içinde dağılma özelliği olduğu için yüksek polariteye sahip analit mobil fazda çok iyi çözünür ve kolondan ilk önce çıkar. Ayrıca yine aynı özellik sebebiyle polar analit apolar sabit fazla az etkileştiğinden dolayı kolonda kısa süre tutunabilir.

- **İyon Değiştirme Kromatografisi**

İyonik bileşikleri ayırmak için kullanılan bir tekniktir. Ayrıca suda çözünen organik maddelerin analizinde de kullanışlıdır. Katyonlar için negatif yüklü fonksiyonel gruplu dolgu maddeli kolonlar, Anyonlar için pozitif yüklü fonksiyonel gruplu dolgu maddeli kolonlar kullanılır. İyonun molekül ağırlığı arttıkça kolonda tutunma gücü de artar.

- **Size Exclusion (Eleme) Kromatografisi**

Molekül ağırlıkları farkı çok büyük olan analitlerin bir arada analiz edileceği karışımlar için kullanılan bir tekniktir. Bu teknikte analitler ile kolon dolgu maddesi arasında kimyasal değil fiziksel bir etkileşim vardır. Büyük molekül ağırlığı olan analit kolon dolgu maddesindeki porlara sığmadığı için kolonu önce terk eder.

Genellikle polimer, şeker ve protein analizlerinde kullanılır. Eleme tekniğinde kullanılan mobil faz organik çözücü ise GPC (Gel Permeation Chromatography), sulu çözelti ise GFC (Gel Filtration Chromatography) adını alır.

- **Chiral Ayırma Kromatografisi**

Fiziksel özellikleri aynı olan izomerlerin sabit fazla etkileşime girip izomer çifti olan diastereomere dönüştürülerek özel chiral kolonlar kullanılarak yapılan bir ayırım tekniğidir.

2.3.1.2. Gaz Kromatografisi

Bir karışımda gaz halinde bulunan veya kolayca buharlaştırılabilen bileşenlerin birbirinden ayrılması amacıyla gaz kromatografisi yöntemi kullanılır. Bu yöntemde ayrılma, bileşenlerin farklı katı yüzeylerdeki farklı adsorpsiyon ilgilerine göre gerçekleşir. Numunede bulunan bileşenler bir cihazla spektrum haline getirilir ve bu spetrumda bulunan her pik ayrı bir bileşeni gösterir.

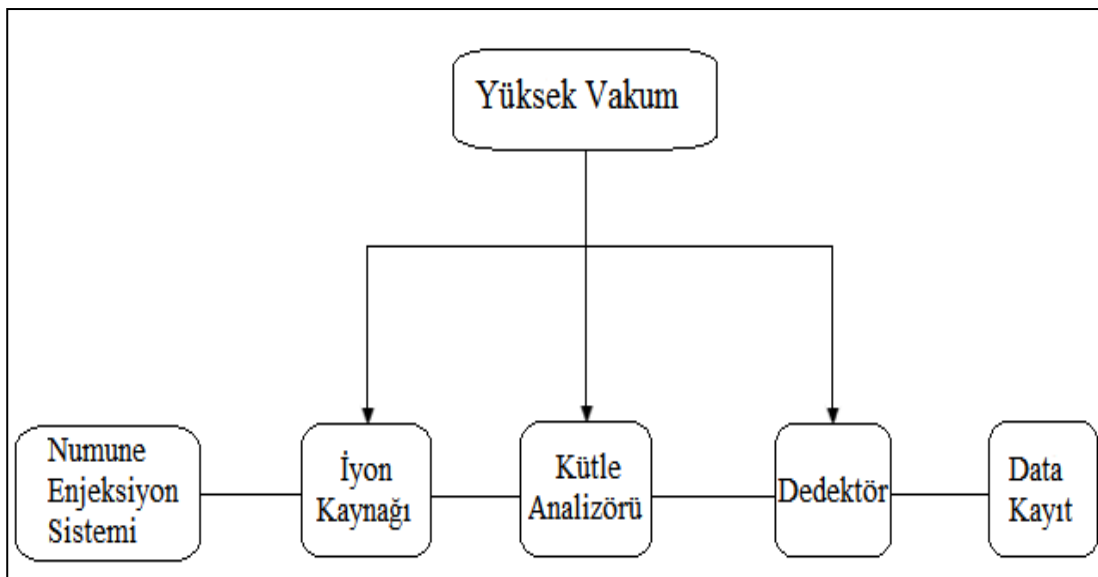
Hareketli faz olarak helyum, azot veya argon gibi inert bir gaz kullanılır ve bu gaza taşıyıcı gaz adı verilir. Kolon içinde kullanılan sabit faz; silika, alumina veya karbon gibi bir katı ise yöntem, gaz-katı kromatografisi adını alır. Eğer sabit faz kieselguhr gibi inert katı bir dolgu maddesi üzerine tutturulmuş uçucu olmayan bir sıvı film ise yöntem gaz-sıvı kromatografisi adını alır. Bu şekilde kullanılan kolonlar dolgulu kolonlar adını alır. Gaz kromatografisi yönteminde kolonlar 2-10 mm iç çapında ve 1-5 m boyundadır. Fakat inert bir katı dolgu maddesi üzerine uçucu olmayan bir sıvı kaplanması yerine, bu sıvı filminin doğrudan ince bir cam veya silika kapiler borunun iç yüzeyine tutturulması ile 0,2-0,5 mm iç çapında ve 10-50 m uzunluğunda kapiler kolonların kullanılması mümkün olabilir. Kapiler kolonların verimliliği ve ayırcılığı, dolgulu kolonlara göre daha iyidir.

Gaz kromatografisi yöntemiyle incelenebilen maddeler için belli sıcaklıktaki alıkonma sürelerinin birbirinden farklı olmasından yararlanılarak nitel analiz yapılabilir. Ancak, birçok bileşen için tek bir kolonla birbirine yakın alıkonma süreleri de elde edilebileceğinden, sonuçların daha güvenilir olması için birkaç değişik kolon kullanmakta yarar vardır. Bir maddenin alıkonma süresi, belli bir kolon için, belli sıcaklıkta ve belli taşıyıcı gaz akış hızında sabit bir değerdedir.

(<http://www.msxlab.org/forum/kimya/218979-gazkromatografisi.html#ixzz30UUpOzGi>, 2014)

2.3.2. Kütle Spektrometresi (MS)

Kütle spektrumu, örnekteki bileşiklerin iyonlara (çoğunlukla pozitif) dönüştürülmesi ve bu iyonların kütle/yük oranına göre sıralanması tekniğidir. İyonizasyon işlemi, çoğunlukla kütle dağılımı ana maddeye göre özel olan bir pozitif tanecikler serisi meydana gelir. Bir kütle spektrumu kimyasal yapı hakkında önemli bilgiler verir. Spektral veriler, bazı bakımlardan, infrared ve NMR spektralardan daha kolay tanımlanır; çünkü bilgiler bir örneğin yapısal bileşiminin moleküler kütlesi cinsinden ifade edilir. Ayrıca verilerden analitin molekül ağırlığı da doğru olarak saptanabilir. Kütle spektrumu kompleks karışımların kantitatif analizlerinde de kullanılır. Burada, değişik kütlelerdeki iyon akımlarının konsantrasyonla olan ilişkisinden yararlanır. Bir kütle spektrometresi yüksek vakum sistemi altında iyon kaynağı, kütle analizörü ve dedektör ile birlikte numune enjeksiyon sistemi ve data kayıt ünitesiyle birlikte toplam 6 kısımdan oluşur.



✚ Yüksek Vakum Sistemi:

Kütle spektrometresi ile çalışmalarda ortalama-serbest yolun yükseltilmesi için sistemin vakum altına tutulması gerekir. Ortalama mesafe, iyonize moleküllerin, diğer iyon ve moleküllerle çarpışmalarından önceki yolculuğu olarak tanımlanır. Yüksek bir ortalama-serbest yol, tekrarlanabilir fragmentasyon sağlar ki bu da yüksek hassasiyet ve güvenilir bir kütle analizi yapılmasına olanak verir. Ortalama-serbest yol, iyonizasyon kaynağı ve iyon dedektörü arasındaki mesafeden daha büyük olmalıdır. Vakum, iki kademeli vakum sistemiyle sağlanır, birincisi bir rotary pompadır. Buna kaba veya ön pompa denir ve 10^{-2} - 10^{-4} torr vakum sağlar. İkinci pompa ise bir turbomoleküler veya bir difüzyon pompasıdır. Bu pompada vakum 10^{-5} torr değere ulaşır. Bu pompalar kompresörler gibi çalışır.

✚ Numune Enjeksiyon Sistemi:

Bu sistemin amacı, bir örneği düşük basınçta gaz halinde iyon kaynağına göndermektir. Örneğin fiziksel haline göre giriş sisteminin yapısı da farklı olur, her tipteki örnek düşünüldüğünde birkaç sistemin olması gerekir.

Çizelge 2. 7. Çeşitli numune enjeksiyon sistemleri ve özellikleri

NES	Örnek Tipi	Örnek Miktarı	Özellikler	İyonlaşma Metodu
Yığın (batch)	Gaz, sıvı ve düşük erime noktalı katı	< 1 mg	Örnek akışı kararlıdır	EI, CI
Direkt prob giriş	Az uçucu örnek	< 1 µg	Örnek akışı prob sıcaklığına göre değişir	EI, CI, DI
Membran	Karışım çözelti	< 10^{-6} M	Sadece buharlar	EI, CI
Kromatografi; GC, SFC	Karışım çözelti	< 1 µg	Çok uçucu bileşikler	EI, CI
Kromatografi; LC, CZE	Karışım çözelti	< 1 µg	Az uçucu bileşikler	SI

NES: Numune Enjeksiyon Sistemleri

SFC: supercritical fluid chromatography

CZE: capillary zone electrophoresis

✚ İyon Kaynakları:

Örnekteki moleküller, ısıtılan bir flamandan anoda doğru akan bir elektron akımı tarafından, doğrudan veya dolaylı olarak iyonlaştırılırlar. İyonizasyon ile hem pozitif hem de negatif iyonlar oluşur, fakat analitik yöntemlerde çoğunlukla pozitif tanecikler kullanılır.

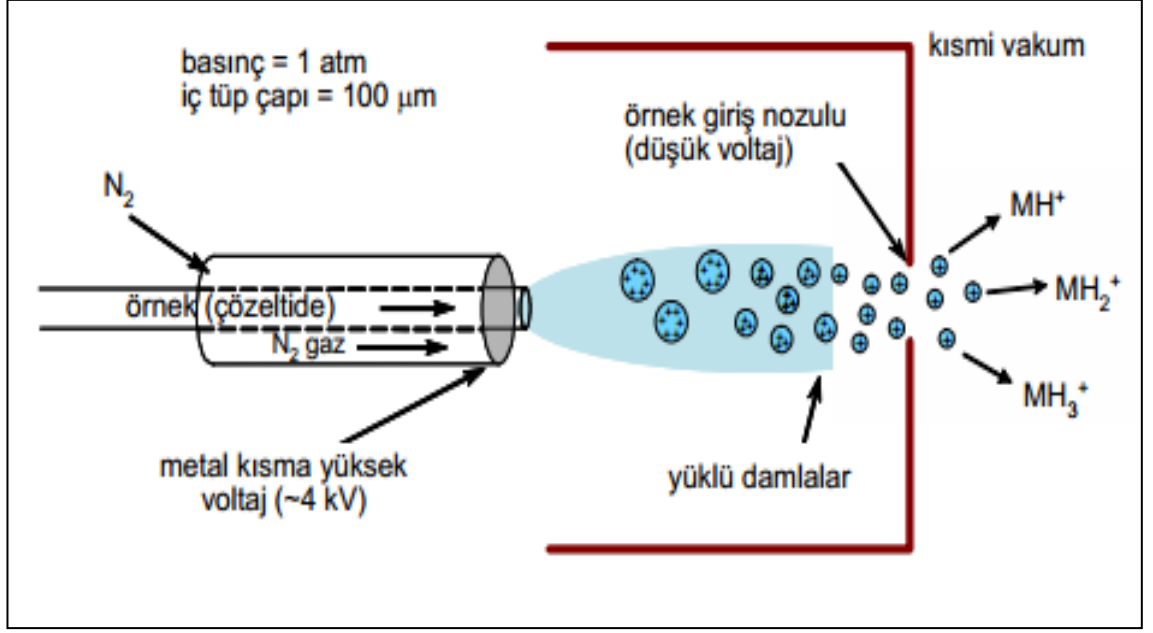
Molekülleri gaz iyonlar şekline dönüştüren çok sayıda yöntem vardır. Kütle spektrometresinde uygulanan bazı iyonizasyon kaynakları aşağıda sıralanmıştır.

- ❖ **ESI** : Elektrospray İyon Kaynağı
- ❖ **APCI** : Atmosferik Basınç Kimyasal İyonizasyon Kaynağı
- ❖ **EI** : Elektron Impact İyonizasyon
- ❖ **CI** : Kimyasal İyonizasyon
- ❖ **PCI** : Pozitif Kimyasal İyonizasyon
- ❖ **NCI** : Negatif Kimyasal İyonizasyon
- ❖ **FAB** : Hızlı Atom Bombardımanı
- ❖ **MALDI** : Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyonlu İyonizasyon

Bunlardan ESI üzerinde biraz duralım.

❖ Elektrospray İyon Kaynağı (ESI) :

ESI kaynağı çok ince bir iğne ve iyon süzme düzeneğinden oluşur. Numune çözeltisi damlacıklar oluşturmak üzere kaynak hücreğine püskürtülür. Kapilerden çıkarken hem çözücü uçurulmuş hem de bu damlacıklar elektrikle yüklenmiş olur. Elektrospray iyonizasyon proteinler, oligonükleotidler ve metal kompleksleri için uygundur. ESI iyon kaynağında çalışabilmesi için, numuneler uçucu bileşiklerde çözülmüş olmalı ve düşük konsantrasyonlarda durağan olmalıdırlar.



Şekil 2. 11. ESI iyon kaynağı çalışma prensibi şematik gösterimi

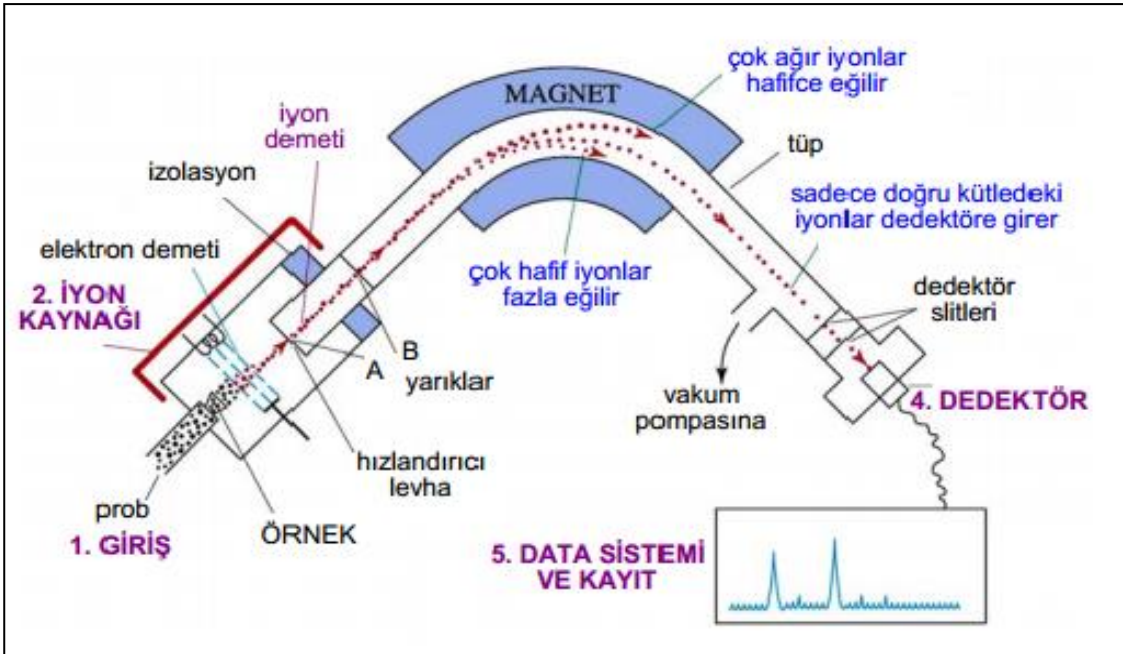


Şekil 2. 12. ESI iyon kaynağı dış görünümü

✚ Kütle Analizörü:

10^{-7} torr basınç altında tutulan analizör tüpünde, hareketli iyonlar kuvvetli bir magnetik alan içine girerler ve alanın etkisiyle eğri bir yol çizerler. Yolun eğimi (eğrinin çapı) magnetik alanın kuvvetine, iyonların hızına ve külesine göre değişir. Hızlandırma potansiyeli veya alan kuvveti değiştirilerek küleleri farklı taneciklerin çıkış slitine odaklanması sağlanır.

Kütle analizörü, bir optik spektrometredeki elektromagnetik ışını ayıran prizma görevini yapan ayırıcı bir sistemdir. Buradaki ayırma işlemi örnekten taneciklerin ayrılmasıdır. Kütle spektrometresinin diğer optik yöntemlerden en önemli farkı, dedektöre kadar olan tüm sistemlerin düşük basınç (10^{-4} - 10^{-8} torr) altında bulunmasıdır.



Şekil 2. 13. Kütle analizörü şematik diyagramı

✚ Dedektör:

Dedektörlerin kullanım alanlarına göre birçok çeşidi vardır. Kütle spektrografisi dedektörleri iyon dedektörleridir. İyon dedektörlerinde iyonlaştırıcı ışın (UV, X-ışını, v.s.) bir gaz içinden geçtiğinde gaz molekülleriyle çarpışarak iyon çiftlerinin (yükli moleküller ve serbest iyonlar) meydana gelmesine neden olur. Ortamda bir elektrik alanı bulunuyorsa her bir iyon zıt işaretli kutba doğru çekilir. Bir iyon odacığı bu sisteme göre çalışan bir iyonizasyon ışını algılayıcısı, yani dedektördür. Odacık, genellikle metal bir kaptır. Merkezinde, kabın kenarlarından izole edilmiş tel bir elektrot bulunur.

Kap uygun bir gazla doldurulur ve kabın dış kısmıyla elektrot arasına doğru akım voltajı uygulanarak bir elektrik alanı oluşturulur. Gazdan ışın geçirildiğinde meydana gelen iyonlar kendileriyle ters işaretli elektrotlara doğru giderler. Kabın dışı topraklandığından merkezdeki elektrotun potansiyeli yaklaşık olarak sıfır voltur. İşlem sonunda bu elektrotta meydana gelen akım ölçülür.

Data Sistemi ve Kayıt:

Ayırıcıdan gelen iyonlar bir slitten geçerek, sapmış iyonlara karşı korunan bir elektrot üzerinde toplanır. Cihazların çoğunda, üretilen akım büyük bir dirençten toprağa verilirken oluşan potansiyel düşmesi bir elektrometre tüpünün kafesinde veya bir alan etkili transistörde algılanır. Oluşan akım yükseltılarak kaydediciye gönderilir. Başka bir yöntemde, ayırıcıdan gelen iyonlar bir katot yüzeyine çarparak elektron çıkarırlar. Oluşan elektronlar bir diyota doğru hızlandırılırlar ve diyota çarparak yeni elektronlar üretirler. Bu işlem bir kaç kez tekrarlanarak, bir fotomultiplier tüpte olduğu gibi, çok fazla yükseltilmiş bir elektron akımı elde edilir. Bu akım elektronik olarak bir yükseltme aşamasından daha geçirildikten sonra kaydedilir.

(http://www.bayar.edu.tr/besergil/kutle_1.pdf, 2014)

Son zamanlarda akrilamid analizi için çoğunlukla kütle spektrometresi ile entegre olan kromatografik sistemlerin (GC/MS, GC/MSMS, LC/MS ve LC/MSMS) kullanıldığı metodlar geliştirilmiştir.

2.3.3. Akrilamid Analizi için Sıvı Kromatografi Metodları

Akrilamid suda çok iyi çözündüğü için ekstraksiyonda genellikle su kullanılır. Ekstraksiyon sırasında ultrasonik banyo veya ısıtma işlemlerinden, katı faz ayırma işlemi sırasında sıkıntı yaratabilecek küçük parçacıklara neden olabileceğinden, kaçınılmalıdır. Ekstraksiyon işlemi yağ ayırma basamağı takip eder. Bu aşamada hegzan ve toluen gibi organik çözücüler kullanılabileceği gibi, ekstrakt dondurulduktan sonra yağ fazının sıyrılıp atılması da tercih edilen bir yoldur. Daha sonra ekstrakt santrifüj edilir ve katı faz ekstraksiyonu gerçekleştirilir. Patates ve tahıl bazlı ürünlerde yüksek miktarlarda bulunan kolloid maddeler, nişasta, protein ve yağ, su ekstraksiyonundan sonra uzaklaştırılmalıdır. Bunun için carrez 1 ve carrez 2 çözeltileri

kullanılır. Ancak aminoasit gibi küçük moleküllü yapıların uzaklaştırılması daha zordur.

Patates örneklerinde girişim yapan maddeler katyon değiştirici yatak içeren bir katı faz ekstraksiyon kartuşunun kullanılmasıyla, tahıl örneklerinde girişim yapan maddeler ise lipofilik- hidrofilik yataklı bir katı faz ekstraksiyon kartuşu kullanılarak engellenebilir. (Wenzl ve ark. 2003)

HPLC ile yapılan bir çalışmada, Çin kültürüne özgü yağda kızartılmış un ürünlerinde akrilamid analizleri için örnekler Oasis HLB ve Bond Elut katı faz kolonlarının kullanıldığı bir saflaştırma işleminden sonra yağ ayırımı için 0°C de 15 dakika 14500 rpm de santrifüj edilmiştir. Mobil faz olarak % 4 asetonitril çözeltisi kullanılmış ve 210-255 nm dalga boyları akrilamid tespiti için kullanılmıştır. Sonuç olarak 8 gıda numunesi için > % 78 geri kazanım ve 27 - 198 ng/g arasında değerler elde edilmiştir. (Wang ve ark. 2008)

Akrilamid analizi için HPLC ile çeşitli metodlar geliştirilmiş olsa da, gıda matriksinin etkisi, akrilamidin moleköl ağırlığının düşük olması ve düşük kaliteli iyon parçacıklarının girişiminden dolayı, akrilamid analizinde daha etkili sonuç için ikili kütle spektrometresine (MS-MS) ihtiyaç duyulmaktadır (Wenzl ve ark. 2003), (Pittet ve ark. 2004), (Wenzl ve ark. 2004), (Pedreschi ve ark. 2006), (Eerola ve ark. 2007).

Gıdalarda akrilamid analizi ile ilgili LC, LC/MS ve LC/MSMS yöntemlerinin kullanıldığı çeşitli çalışmalar aşağıda listelenmiştir.

Çizelge 2. 8. Gıdalarda akrilamid analizi ile ilgili LC, LC/MS ve LC/MSMS cihazları ile yapılan bazı çalışmalar (Alpözen 2012)

örnek	Ekstraksiyon	İnternal Standart	Temizleme	Kolon	HPLC Parametreleri	Dedektör	MS Koşulları	İyonlar	Kaynak
Kurabiye, patates cipsi ve ekme 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	Akrilamid için: 72>55	Gökmen ve ark.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: 4µg/kg	Source sıcaklığı:125°C Kapiler voltaj: 2,2kV Cone voltaj: 35 V	Akrilamid için: 72>55 72>54 72>44 D ₃ -akrilamid için: 75>58	Karasek ve ark.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 (1ml)	Atlantis T3 kolon (150*4,6 mm, 3 µm)	Mobil faz: 10 mM formik asit Hız: 0,3 ml/dk	MS	Kurutma gazı bas.: 20 psi Kurutma gazı akışı: 5 l/dk Nebuliser basıncı: 20 psi Kurutma gazı sic.: 350°C Kapiler voltaj: 2 kV Corona akımı: 5 mA	Akrilamid için: 72>55 ¹³ C ₃ - akrilamid için; 75>58	Serpen and Gökmen, 2009

örnek	Ekstraksiyon	İnternal Standart	Temizleme	Kolon	HPLC Parametreleri	Dedektör	MS Koşulları	İyonlar	Kaynak
Papad	Yağı hegzan ile alınmış 2 g örnek üzerine 20 ml su, 10 pg/g'lık iç standarttan 200 pl 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	Akrilamid 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 ve ark.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 sıc.: 425°C Kapiler voltaj: 4 kV Fragmentor voltaj: 55 eV	Akrilamid için: 72>55	Zeng ve ark.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 pm) 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:<10 µg/kg LOQ:<30 µg/kg	Kapiler voltaj: 3 kV Cone voltaj: 40V Source sıcaklığı: 450°C	Akrilamid için: 72>72 72>52 72>44 D ₃ -akrilamid için: 75>75 75>58 75>44	Boroshaki ve ark.2010

örnek	Ekstraksiyon	İnternal Standart	Temizleme	Kolon	HPLC Parametreleri	Dedektör	MS Koşulları	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 DAD oranında 0,01 M sülfürik asitli su ve %2,5 oranında metanol Hız: 0,7 ml/dk.	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*4,6mm, 5 µm)	Mobil faz: %90 oranında %0,1'lik formik asitli su ve %90 oranında %10 oranında asetonitril Hız: 0,1 ml/dk Enj: 20 µl	MS/MS	---	Akrilamid için: 72>55 D ₃ -akrilamid için: 75>58	Ou ve ark., 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 psi Kurutma gazı akışı: 5 l/dak Nebulizer basıncı: 20 psi Kurutma gazı sıcaklığı: 350°C Kapiler voltaj: 2000 V Corona akımı:5 µA.	Akrilamid için: 72>55	Palazoğlu et al., 2010

örnek	Ekstraksiyon	İnternal Standart	Temizleme	Kolon	HPLC Parametreleri	Dedektör	MS Koşulları	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.	---	---	EC/2 100-5 C ₁₈ kolon (150*2 mm, 50 µm)	Mobil faz: 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	---	Akrilamid için: 72>55 (C.E: 16 eV)	Tateo ve ark.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 sprej voltaj : 5200V Gaz sıcaklığı:450°C Gaz akışı: 6 l/dk	Akrilamid 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: 2µg/kg LOQ: 6µg/kg.	Kapiler voltaj: 3.0 kV Cone voltaj: 20 V Source sıcaklığı: 145°C Desolvation gaz sıcaklığı: 400°C	Akrilamid için: 72>55 (C.E:12 eV) D ₃ -akrilamid için: 75>58 (C.E:12 eV)	Zhang ve ark.2011

2.3.4. Akrilamid Analizi İçin Gaz Kromatografi Metodları

Akrilamid analizi için kullanılan GC metotları brom türevlendirmeli ve brom türevlendirmesiz GC metodları olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.3.4.1. Brom Türevlendirmeli Gaz Kromatografisi Metodları

Nişasta bakımından zengin örneklerde gaz kromatografi cihazı ile akrilamid analizi yapılırken, nişastanın güçlü jelatinizasyon özelliğinden dolayı metodta sıkıntılar yaşanmış ve GC/MS'den yararlanılan yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemle, akrilamid bromla türevlendirilerek daha uçucu bir bileşik oluşturulmakta ve bir yandan tanımlama seçiciliği artarken diğer yandan da ortamda girişim yapan maddeler uzaklaştırılabilmektedir (Wenzl ve ark. 2003), (Pittet ve ark. 2004), (Taeymans ve ark. 2004), (Tsutsumiuchi ve ark. 2004).

Bromlama işlemi, hidrojen bromür (HBr) ve 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) kullanılmasıdır. Potasyum bromür ve potasyum bromat kullanılmasının nedeni, bu bileşikler arasında gerçekleşen yükseltgenme-indirgenme reaksiyonu ile çok toksik olan element brom (Br) yerine brom molekülünün (Br₂) oluşturulmasıdır. Bromlandırma işlemi analizin başında yapılabildiği gibi numune hazırlama basamağında da yapılabilir. Ön işlemler matrikse bağlı olarak değişebilir. Domates, mantar gibi basit matrikslerde ön işlemlere gerek duyulmazken, patates cipsi gibi karbonhidratlarca zengin matrikslerde ek bir saflaştırma basamağı da dâhil olmak üzere bir takım ön işlemler gerekir. Genellikle ham ekstrakt, grafit karbonlu siyah kolonlarda saflaştırılmaya tabi tutulduktan sonra suyun donma noktasının hemen üzerinde bromla türevlendirilir. Bromun fazlası sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyon yolu ile uzaklaştırılır. Bromlandırılmış akrilamid daha az polardır böylece apolar organik çözücülerde daha kolay çözünür. Sulu fazdan analiti ekstrakte etmek için etil asetat veya etil asetat-hegzan karışımı kullanılır. Su ile gelebilecek girişim yapan maddelerden kurtulabilmek için ya etil asetat iyice kurutulur ya da Na₂SO₄ kullanılır (Wenzl ve ark. 2003). Türevlendirme işlemi genellikle 1-15 saat arasında, 0°C'de buz banyosunda gerçekleştirilir.

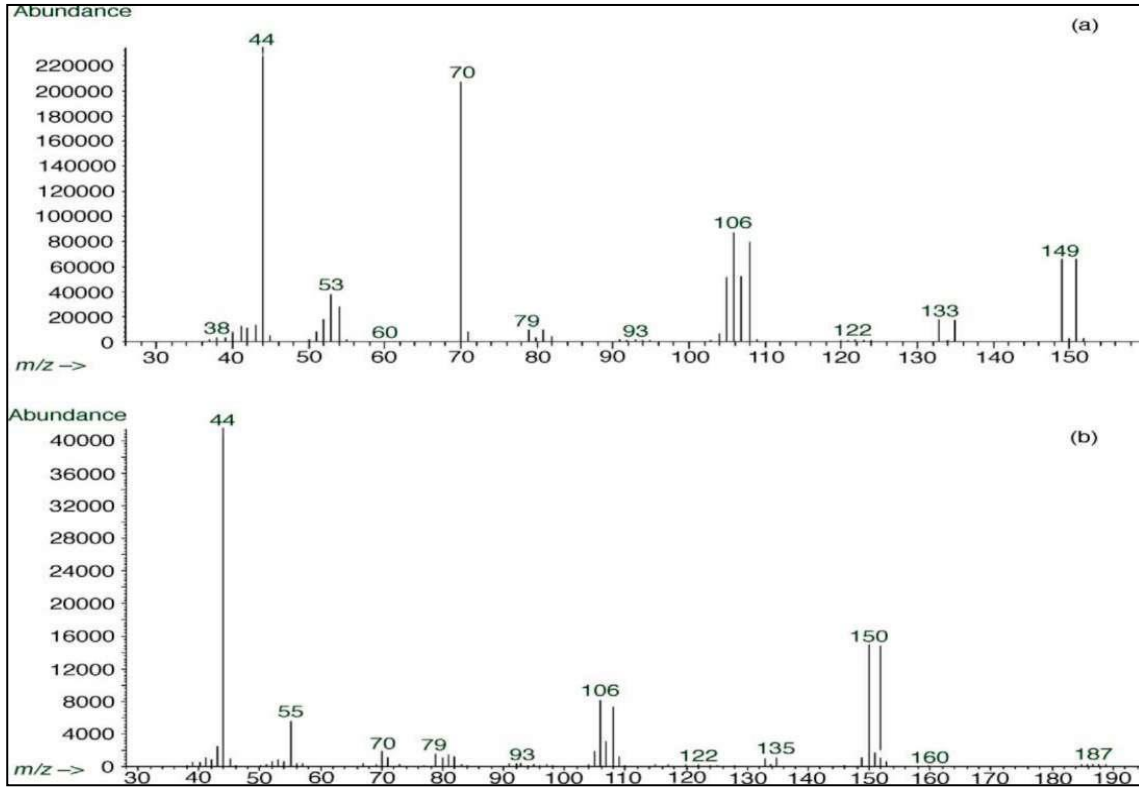
Bromlama işlemi sırasında aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleşmektedir.



Akrilamid

2,3-dibromopropionamid 2-bromopropionamid

Türevlendirmeli akrilamid analizi ile ilgili GC/MS’de yapılan çalışmalar incelendiğinde, bazı çalışmaların 2-bromopropenamid (149, 151), bazılarının da 2-bromopropiyonamid (150, 152) üzerinden yapıldığı görülmektedir (Zhu ve ark. 2008).



Şekil 2. 14. Akrilamidin türevlerine ait spektrumlar (Zhang ve ark. 2005).

a) 2-bromopropenamid

b) 2-propionamid

2.3.4.2. Brom Türevlendirmesiz Gaz Kromatografisi Metodları

Fazla kullanılmayan bu yöntemde ekstraksiyon çözücüleri genellikle su, 1-propanol veya 2-butanone gibi organik çözücülerdir. Bu metodta numune 10-20 dakika kadar su içerisinde bekletilir, bu şekilde hem akrilamidin daha kolay çözünmesi hem de matriks/iç standart kaynaşması sağlanmış olur. Yağ analizin doğruluğunu etkileyeceği için, örnek hegzan gibi bir organik çözücüyle muamele edilir. Saflaştırma işlemi için genellikle grafitize karbon kartuş kullanılır. Akrilamid yüksek polariteye sahip bir bileşik olduğundan numuneler polar fazlı kolonlar kullanılarak GC sistemine verilir.

Gıdalarda akrilamid analizi ile ilgili GC, GC/MS ve GC/MSMS yöntemlerinin kullanıldığı çeşitli çalışmalar aşağıda listelenmiştir.

Çizelge 2. 9. Gıdalarda akrilamid analizi ile ilgili GC, GC-MS ve GC-MSMS cihazları ile yapılan bazı çalışmalar (Alpözen 2012)

Örnek	Ekstraksiyon	İnternal Standart	Türevlendirme	Temizleme	Kolon	GC Parametreleri	Dedektör	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	MS LOD: 2 µg/kg	Akrilamid için: 149, 70 ¹³ C ₃ -akrilamid için: 154, 110	Pittet ve ark.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 (15m*0,25 mm, 0,25µm)	60°C/dk'lık artışla 160°C'a, 50°C/dk'lık artışla 230°C'a, Enj: 1 µl splitless	MS	Akrilamid 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, santrifüj edilip, üst faz vialle 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	MS	Akrilamid için: 71, 55 D ₃ -akrilamid için: 75,58	Dunovska ve ark.2006

Örnek	Ekstraksiyon	İnternal Standart	Türevlendirme	Temizleme	Kolon	GC Parametreleri	Dedektör	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	Akrilamid için: 72 D ₃ -akrilamid için: 75	Mastovska and Lehotay, 2006
Çinin 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'li ekstraktan 5 ml alınıp, potasyum bromür ve potasyum bromat eklenip, 4°C da 30 dk türevlendirme yapılmıştır.		HP Innowax kolon(30m*0,32 mm, 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 ve ark.2007b
Ekspresso kahve	2,5 ml içecek ya da 0,5 g kahve üzerine 25 pl iç standart eklenip, SPE kolondan geçirilmiştir.	¹³ C ₃ -akrilamid	Ekstrakta 1 g KBr, 150 µl HBr ve 2 ml bromlu su eklenip, karanlıkta buz banyosunda 1 saat türevlendirilmiş, 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	Akrilamid için: 106,150,152 ¹³ C ₃ -akrilamid için: 153,155,110	Alves ve ark.2010

2.3.5. Diğer Analiz Yöntemleri

Her ne kadar gıdalarda akrilamid analizi ile ilgili en çok kullanılan metodlar LC ve GC kökenli olsa da, bunların dışındaki cihazların kullanıldığı çalışmalar da yapılmıştır.

Yapılan bir çalışmada patates cipslerindeki akrilamid düzeylerinin belirlenmesi için Micellar Elektrokinetik Kapiler Kromatografi (MEKC) kullanılmış ve oluşturulan yöntemin geri kazanım oranı % 90,86-99,6 arasında bulunurken, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,1 µg/ml ve 0,33 µg/ml olarak bulunmuştur (Zhou ve ark. 2007a).

Bir başka çalışmada, kahvedeki akrilamid miktarının tespiti için LC-MS ve biyosensör kit yöntemi karşılaştırılmış ve kit yönteminin pratik ve güvenilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir (Gianni ve ark. 2007).

Başka bir çalışmada, NIR (Near Infrared Specktroscopy) yöntemi ile 60 tane patates cipsi örneğinde akrilamid analizi yapılmış, ancak gerçek değerlerle bulunan değer arasındaki korelasyonun 0,83 olduğu belirtilmiştir (Pedreschi ve ark. 2010b).

Gıdalarda akrilamid düzeylerinin tespiti için ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) cihazı ile yapılan bir diğer çalışmada LOD değeri 18,6 ng/ml bulunurken, geri kazanım oranının ise % 74,4-98,1 aralığında olduğu bildirilmiştir. (Quan ve ark. 2011).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma iki kısımdan oluşmaktadır. Birinci kısımda piyasadan akrilamid oluşma potansiyeli olan örnekler (**bisküvi, bebe bisküvisi, çubuk kraker, hazır kek, Türk kahvesi, patates cipsi, simit, ekmek, kavrulmuş badem, kavrulmuş fındık, kavrulmuş yer fıstığı, sarı leblebi, sade leblebi, kabak çekirdeği, kaju ve Diyarbakır Kadayıfı**) toplanarak analiz edilmiştir. İkinci kısımda ise 0,85x 0,85 x7,0 cm boyutlarında parmak patatesler hazırlanarak, çeşitli ön işlemler uygulanmış ve patateslerdeki akrilamid miktarındaki azalma incelenmiştir.

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

LC/MSMS Cihazı: Akrilamidin kantitatif tayini için Agilent 1200 model likit kromatografi cihazı ve buna bağlı 6460 Triple Quadrapole MS/MS cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3. 1. Akrilamid analizlerinin yapıldığı LC/MSMS cihazı

pH metre: Ekstraksiyon işlemleri sırasında pH'ı 2,3 civarına ayarlayabilmek için Mettler Toledo marka pH metre cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3. 2. pH Metre Cihaz

Santrifüj cihazı: Ekstraksiyon işlemlerinde çökmenin sağlanabilmesi için Eppendorf 5430 model santrifüj cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz 50 ml'lik tüplerde 7830, 15 ml'lik tüplerde 17500 rpm'e kadar çıkabilmektedir.



Şekil 3. 3. Santrifüj Cihazı

Vorteks karıştırıcı: IKA marka vorteks karıştırıcı kullanılmıştır.



Şekil 3. 4. Vorteks Karıştırıcı

Hassas terazi: Standart, kimyasal ve numune örneklerinin tartım işlemi 4 çözünürlüklü Precisa marka ve XB 220A model hassas terazi ile yapılmıştır.



Şekil 3. 5. Hassas Terazi

Ultrasonik Su Banyosu: LC/MSMS cihazı için hazırlanan mobil fazların ve standart çözeltilerin degaz ve homojenizasyon işlemi için Elma marka ve S 120H model ultrasonik su banyosu kullanılmıştır.



Şekil 3. 6. Ultrasonik Su Banyosu

Blender: Örneklerin parçalanarak homojenizasyonu için Waring marka sanayi tipi blender kullanılmıştır.



Şekil 3. 7. Blender

Çalkalayıcı: 250 ml'lik erlenleri çalkalamak için Selecta marka ve rotabit model orbital çalkalayıcı kullanılmıştır.



Şekil 3. 8. Orbital çalkalayıcı

Mikropipetler: Mettler Toledo Rainin marka mikropipetler (0,5-10 μ L, 10-100 μ L, 100-1000 μ L ve 1-10 mL) ekstraksiyon basamaklarında kullanılmıştır.



Şekil 3. 9. Mikropipetler ve Stand

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler

Akrilamid Standardı: Akrilamidi LC/MSMS cihazına tanıtmak için standart olarak 79-06-1 cas nolu Sigma-Aldrich marka A8887-100G kod numarasına sahip ürün kullanılmıştır.

Akrilamid İç/İnternal Standardı: Bizim çalışmamızda IS olarak Cambridge isotope Laboratuvarlarından 122775-19-3 kodlu Akrilamid 2,3,3-D₃ kullanılmıştır.

İç/İnternal Standart (IS):

İç/İnternal standart (IS), numune hazırlama metodlarının verimini ölçmenin bir yoludur. Geri kazanım hesaplarını kolaylaştırır, analizlerde madde ile birlikte kullanıldığı takdirde konsantrasyon hesaplamalarına dahil edilerek sapmaları numune sonuçlarına yansıtarak daha doğru sonuç elde etmemizi sağlar.

Herhangi bir çalışma öncesi belirlenen IS, bilinen miktarda numuneye eklenerek numune hazırlama işlemleri uygulanır. Böylece IS numune hazırlama metodlarından geçmiş olur. Karşılaştırabilmek için IS atılmadan numune hazırlama işlemleri yapılmış ve cihaza verilmeye hazır hale getirilmiş temiz numuneye (kör, blank) elde edilmek istenen konsantrasyon hesaplanarak IS atılır. Önceden atılmış IS için elde edilen konsantrasyon ve sonradan atılmış IS için elde edilen konsantrasyonlar karşılaştırılarak verim hesaplanır. Önemli olan burada vialde ekstraksiyon sonrası elde edilecek IS konsantrasyonunun hesaplanmasıdır. IS, standart eğrisi, kalite kontrol numuneleri ve analit numuneleri dahil tüm çalışmalarda vialde eşit miktarda olacak şekilde hazırlanmalıdır. Konsantrasyonun standart ve numunelerde farklı olması hataya neden olur.

Ultra Saf Su: Akrilamid suda çok yüksek oranda (30°C'de 215,5g/100ml) çözüldüğü için su, ekstraksiyonun önemli basamaklarından biridir. Ultra saf su olarak 7732-18-5 cas nolu ve 34887-2.5L üretim numaralı Sigma-Aldrich marka likit kromatografi saflığında su kullanılmıştır.

Formik Asit (HCOOH) : Mobil faza % 0,3 oranında eklenerek yapısındaki bir hidrojeni Akrilamid'e (CH₂=CH-CO-NH₂) vermesi ve böylece akrilamidin (CH₂=CH-CO-NH₃⁺) ESI iyon kaynağından geçerken pozitif karakter kazanmasına yardımcı

olmak için kullanılır. Çalışmalarımızda 64-18-6 cas nolu ve 27001-2.5L üretim numaralı Sigma-Aldrich marka formik asit kullanılmıştır.

Hidroklorik Asit (HCl): Çalışmalarda 7647-01-0 cas nolu ve 07102-2,5L üretim numaralı Sigma-Aldrich marka HCl kullanılmıştır.

Carrez 1 Hazırlanışı: 15 g $[K_4Fe(CN)_6]3H_2O$ (Potasyum hegzosiyanoferat) tartılarak 100 ml suda çözülür.

Carrez 2 Hazırlanışı: 30 g $ZnSO_4$ (Çink Sülfat) tartılarak 100 ml suda çözülür.

Carrez 1 ve Carrez 2 çözeltisi ekstraksiyon esnasında örneklerden gelebilecek kolloidal maddeler, nişasta, protein ve yağ gibi kirliliğe neden olabilecek bileşiklerin uzaklaştırılması için kullanılır.

HPLC Kolonu: Akrilamidin etkin ayrımı için 827975-902 üretim numaralı Agilent marka Zorbax SB-C18 Rapid Resolution HT 4.6x50 mm 1.8 micron 600 bar kolon kullanılmıştır.

Katı faz ekstraksiyon kartuşu (SPE): Ekstraksiyonun son aşamasında temzileme için Waters 186000256 üretim numaralı Oasis MCX 3cc (60mg) katı faz ekstraksiyon kartuşu kullanılmıştır.

3.2. Metot

Analiz metodu olarak birçok yöntem araştırılmış ve son olarak (Gökmen ve ark. 2009) ve (Alpözen, 2012) tarafından kullanılan yöntem üzerinde çeşitli modifikasyonlar yapılarak optimize edilmiş ve yeni bir metod oluşturulmuştur. Ekstraksiyonun üründen ürüne tartımı ve dolayısıyla seyreltme faktörü değişmekle beraber ana basamaklar aşağıdaki gibidir.

Akrilamid Ekstraksiyon Basamakları

Su tutma kapasitesine göre 0,5-2 g örnek 250 ml'lik erlene alınır

↓

Üzerine 10-20 ml saf su eklenir

↓

25 dakika karıştırılır
20. Dakikada 1'er ml Carrez 1 ve Carrez 2 eklenir

↓

Erlen 5 ml saf su ile yıkanarak çözelti 50 ml'lik santrifüj tüpüne alınır

↓

7830 rpm de 25 dakika santrifüj edilir

↓

Santrifüjden sonra sıvı faz 15 ml hegzan ile yıkanarak
varsa örneğin yağı uzaklaştırılır

↓

Sulu fazdan yaklaşık 8 ml 15 ml'lik santrifüj tüpüne alınır
pH'ı 1M'lık HCl ile 2,3 civarına ayarlanır

↓

Üzerine 200 µL 2 ppm'lik D₃-Akrilamid eklenir.
Son hacim 10 ml olacak şekilde su eklenir

↓

Ekstraktan 1 ml alınarak önceden 1 ml MeOH ve 1 ml saf su ile şartlandırılmış ve havası alınarak iyice kurutulmuş Oasis MCX kartuştan geçirilir. İlk 8-12 damla oluşabilecek kirliliğin bertarafı için atılır. Kalan kısım vialle alınarak LC/MSMS cihazına enjekte edilir

3.2.1. Katı Faz Ekstraksiyon (SPE) Metodu

Katı faz ekstraksiyon (SPE) yöntemi, esas olarak tek kullanımlık ekstraksiyon kolonlarına çeşitli tutucu maddelerin doldurulması ve sıvı örneklerini istenmeyen bileşenlerden ayırma, yoğunlaştırma ve ileriki analiz aşamaları için örnek matriks yapısının değiştirilmesi esasına dayanmaktadır. Sıvı örneğin kolondan geçirilmesi, yerçekimi vasıtasıyla (manuel olarak) gerçekleştirilebildiği gibi, daha az zaman harcanarak vakum manifoldları aracılığıyla yapılabilmektedir.

SPE metodunda kolondan geçirilme sırasında örnek molekülleri ile tutucu madde arasında kimyasal bir etkileşim meydana gelmektedir. Bu etkileşimden faydalanarak maddelerin ayrılma işlemi başlıca iki yolla gerçekleştirilmektedir. Birinci yöntemde ilk aşamada, analiz edilecek bileşik tutucu maddeye bağlanarak kolon içinde tutulurken, çözelti ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmemektedir. Daha sonra istenmeyen bileşenler uygun yıkama çözeltisi ile uzaklaştırılır ve analiz edilecek bileşen tutucu maddeden uygun bir çözelti yardımıyla çözdürülerek alınır. Daha az tercih edilen ikinci yöntemde ise, istenmeyen bileşenlerin tutucu madde ile etkileşimi sözkonusudur. Özellikle atık yağlar gibi matriksden ayrılması zor olan maddelerin analizinde kullanılan bu yöntemde, matriksteki istenmeyen bileşenler tutucu madde tarafından sıkı şekilde bağlanmaktadır. Asıl aranan madde ise tutucu madde ile etkileşime girmez ve uygun çözelti yardımıyla çözdürülerek toplanmaktadır. Bu yöntemde, kolon içerisindeki tutucu maddenin oluşturduğu katı faz filtre işlevi görmektedir.

3.2.1.1. SPE Metodunda Maddelerin Ayrılma Prensipleri

SPE metodunda maddelerin birbirinden ayrılmasında analizi yapılacak madde, çözücü ve tutucu maddelerin özelliklerine göre çeşitli ayırma mekanizmaları rol oynamaktadır. Belli başlı olarak normal faz, ters faz, iyon değişim (katyonik ve anyonik değişim) ve moleküler eleme (size exclusion) ayırma mekanizmaları söylenebilir. Bu mekanizmalar, maddenin molekülleri ile tutucu maddedeki etkin gruplar arasındaki moleküller arası etkileşimler sayesinde açıklanır. Analizi yapılacak madde molekülleri tutucu maddelerdeki etkin gruplara iyonik, hidrojen, dipol-dipol, dipol-indüklenmiş dipol ve indüklenmiş dipol-indüklenmiş dipol (van der Waals) bağları ile bağlanır. Bu şekilde aranan madde, matriksteki istenmeyen bileşikler ve çözücüler birbirinden ayrılır.

✚ Normal faz:

Polar bileşiklerin, apolar matrikslerden ayrılması işlemidir. Şartlandırma aşaması apolar çözücüler, toplama aşaması ise daha polar çözücüler yardımıyla gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde en fazla kullanılan tutucu madde silikadır. Florosil ise pestisitler için en uygun tutucu maddedir. Karbonhidratça zengin bazı aşırı polar örnekler için ise silika, alümina gibi tutucu maddelere çeşitli grupların eklenmesi ile elde edilen siyano, diol ve amino grubu tutucu maddeler tercih edilmektedir. Bu maddelerdeki polar gruplar, apolar organik çözücüler (hekzan/dietileter gibi) içerisindeki orta derecede polar olan örnek moleküllerini tutmaktadırlar.

✚ Ters faz:

Tutucu madde polaritesinin örnek çözeltisinden daha düşük olduğu sistemlerdir. Oktadesil (C18) bu teknik için en fazla kullanılan madde olmakla birlikte, oktil(C8), sikloheksil, bütül, fenil ve siyano da çeşitli örnekler için seçici olmaları nedeniyle tercih edilmektedir. Ters faz, klinik ve çevresel örneklerdeki organik kalıntıların analizinde çok yaygın şekilde kullanılan bir ayırım tekniğidir. İyon değişim, özellikle asit ve bazları matriksten ayırmak amacıyla kullanılan ve iki molekül arasındaki iyonların karşılıklı değişimi esasına dayanan bir tekniktir. SO_3^- ve $N^+(CH)_3$ gibi etkin gruplar bağlanmış aşırı polarsilika benzeri tutucu maddeler, iyon değişimi için uygundur. SO_3^- grubu, örnek çözeltisinden aranan temel maddelerin ayrılması için kuvvetli katyonik değişimi (SCX, strong cation exchanger), $N^+(CH)_3$ grubu ise asitlerin bağlanması için kuvvetli anyonik değişimi (SAX, strong anionexchanger) sağlamaktadır. İyon değişim tekniğinde pH, zıt yüklü olma, iyonik kuvvet, organik çözücünün özelliği ve örneğin kolondan geçiş hızı gibi faktörler önem taşımaktadır. Başarılı bir iyon değişiminin sağlanabilmesi için, tutucu madde ile analiz edilecek maddenin zıt yüklerde olması ve örnek çözeltisindeki zıt iyon yoğunluğunun düşük olması gerekmektedir. Moleküler eleme tekniğinde ise dekstran jel gibi maddeler, içerdikleri gözenekler sayesinde örnek çözeltisi içerisindeki maddelerin molekül büyüklüklerine göre ayrılmasını sağlamaktadır. Örnek çözeltisi içerisindeki molekül ağırlığı 10.000'den düşük maddeler bu gözeneklere girebilirken, daha büyük maddeler direkt kolondan geçmektedir. Böylece büyük molekül ağırlıklı maddeler ayrılırken, küçük molekül ağırlıklı maddeler kolonda kalmakta ve bu şekilde ayırım gerçekleşmektedir. Bu teknikle, ideal olarak

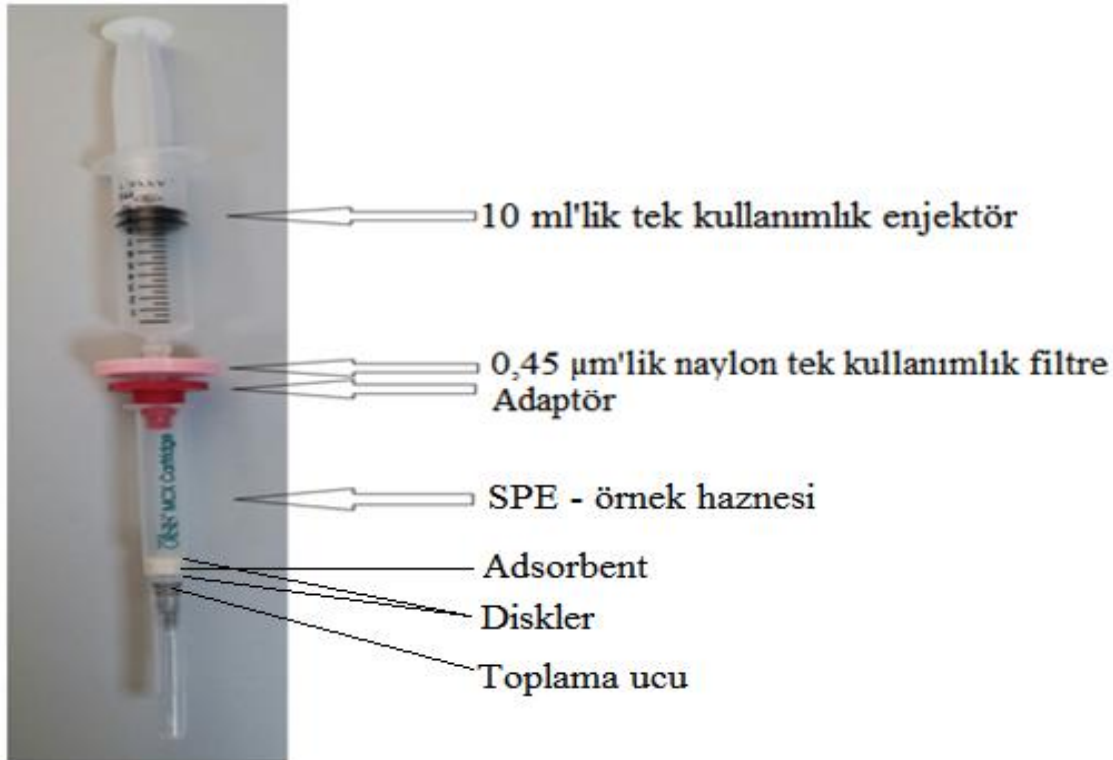
maddelerin tutulması ya da diğer moleküler etkileşimlerin olmaması istenir. Moleküler eleme, genellikle bağlı olmayan radyo izotopların ve protein çözeltilerinden tuzların ayrılmasında kullanılan bir tekniktir. Karışık matrislerden analizi yapılacak maddelerin istenilen düzeyde ayrılarak, ideal bir örnek hazırlama basamağının gerçekleştirilmesi için doğru ayırım tekniğinin kullanılması çok önemlidir (Yavuz ve Aksoy 2006).

3.2.1.2. SPE Metodunun Diğer Örnek Hazırlama Yöntemlerine, (özellikle sıvı-sıvı ekstraksiyonuna) Göre Avantajlı Yönleri

- SPE metodu klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemine göre % 66 daha hızlı sonuç verir. Böylece örnek hazırlama süresini oldukça kısaltır.
- SPE metodu çok pratik olup bütün laboratuarlarda kolaylıkla uygulanabilir.
- SPE metodunda daha az çözücü ve ayıraç madde kullanıldığından daha ekonomik bir örnek hazırlama yapılabilir.
- Geri kazanım oranı yüksektir ve istenilen yoğunlukta örnekler elde edilebilir. En az düzeyde örnek transferi yapıldığından yüksek geri kazanımlar ile yüksek yoğunluk ve saflıkta örnekler elde edilebilmektedir.
- Örnek, tutucu madde ve çözücüler arasında çapraz bulaşma riski düşük olduğundan yüksek doğrulukta sonuçlar alınabilmektedir.
- Düşük miktarda örnek işlendiğinden sıvı-sıvı ekstraksiyondaki gibi emülsiyon oluşma problemi yoktur.
- Çözücü ve örneklerin az miktarlarda kullanılmasından dolayı zehirli maddelerle temas daha azdır.
- Çok sayıda örneğin aynı anda ve tekrarlanabilir şekilde işlenebilmesine olanak sağlayacak şekilde çok kolay otomasyon sağlanabilmektedir (Yavuz ve Aksoy 2006).

Çizelge 3. 1. SPE metodunda sıklıkla kullanılan çözücüler ve polariteleri

Polarite	Çözücü	Suyla Karışabilme
<p>Nonpolar</p> 	Hegzan	Hayır
	İzooktan	Hayır
	Petrol eteri	Hayır
	Siklo hegzan	Hayır
	Karbon tetraklorür	Hayır
	Kloroform	Hayır
	Metilen klorür	Hayır
	Tetrafüran	Evet
	Dietil eter	Hayır
	Etil asetat	Zayıf
	Aseton	Evet
	Asetonitril	Evet
	İzopropanol	Evet
	Metanol	Evet
	Su	Evet
	Polar	Asetik asit



Şekil 3. 10. Katı faz ekstraksiyon (SPE) süzme düzeneği ve yapısı

Çizelge 3. 2. Akrilamid analizlerinde kullanılan SPE kartuşlar ve özellikleri (Alpözen ve Üren, Analiz 35,Sayı 21, 2014).

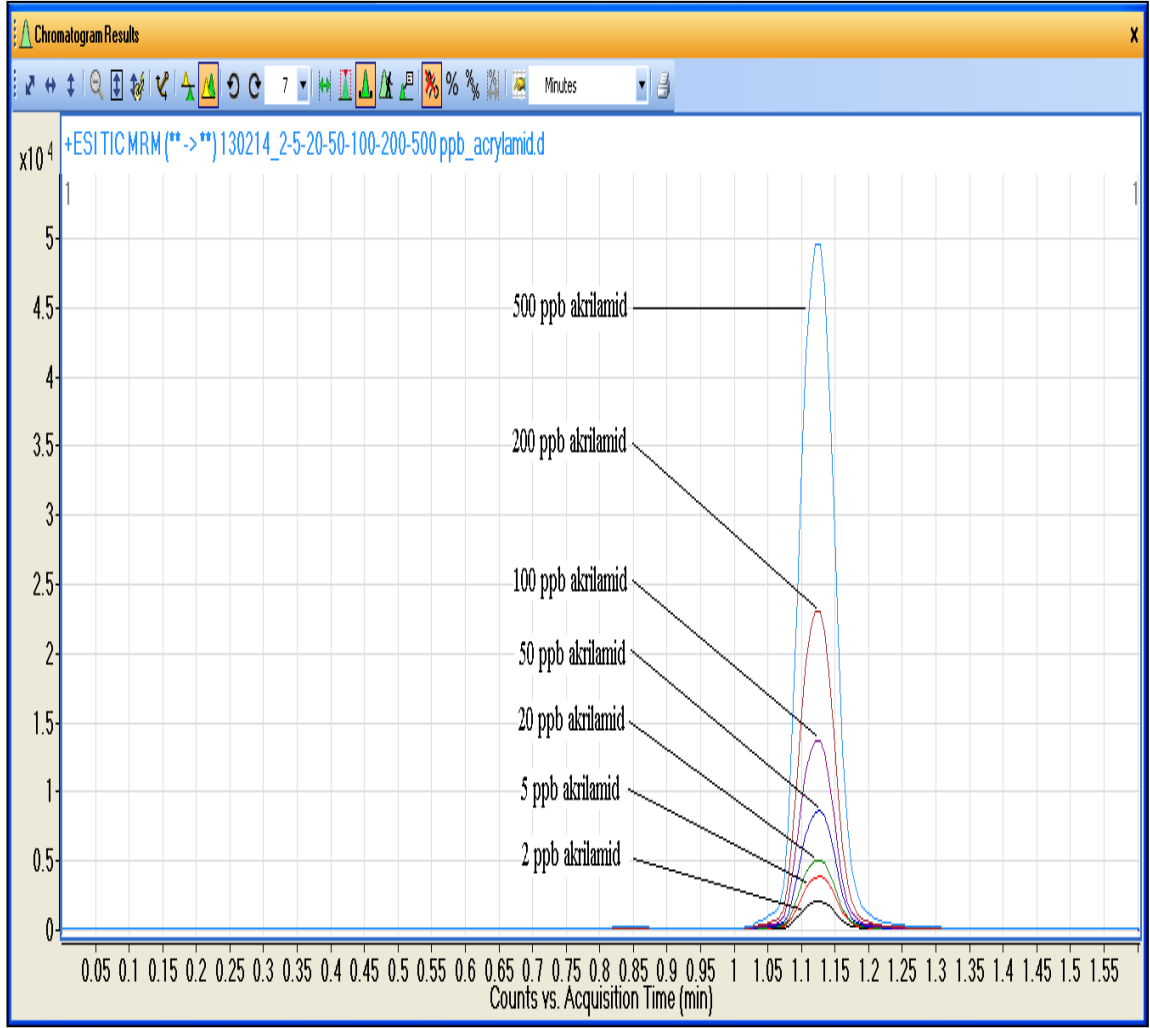
Kartuşun Adı	Özelliği	Kullanıldığı Çalışmalar
OASIS [®] MCX	HLB'nin yüzeyinde güçlü katyon değiştirici sulfonik asit grupları vardır.	(Alpözen ve Üren 2013), (Alpözen ve ark. 2013a), (Alpözen ve ark. 2013b), (Becalski ve ark. 2003), (Rufian-Henares ve Morales 2006) (Yusa ve ark. 2006), (Chen ve ark. 2008), (Liu ve ark. 2008),(Gökmen ve ark. 2009), (Serpen ve Gökmen 2009), (Palazoğlu ve ark. 2010)
OASIS [®] HLB	Polar ve apolar fazlar [poli(divenilbenzene-co-N-vinil) pirrolidin]	(Roach ve ark. 2003), (Andrzejewski ve ark. 2004), (Mestdagh ve ark. 2004), (Mastovska ve Lehota 2006),(Ren ve ark. 2006),(Rufian 2007), (Gökmen ve ark. 2009), (Shaikh ve ark. 2009), Marconi ve ark. 2010), Mulla ve ark. 2011a, 2011b).
OASIS [®] MAX	HLB'nin yüzeyinde güçlü anyon değiştirici dimetilbutilamin grupları vardır.	Becalski ve ark. 2003
Isolute [®] Multimode	Apolar (C ₁₈) özellikte, güçlü katyon değiştirici (-SO ⁻) ve güçlü anyon değiştirici (-NR ⁺) fonksiyonel grupları içermektedir.	(Rosen ve Hellenas 2002), (Ahn ve ark. 2002), (Tareke ve ark. 2002), (Onove ark. 2003), (Riediker ve Stadler 2003), (Rufian-Henares ve Morales 2006), (Eerola ve ark. 2007), (Viklund ve ark. 2007), (Arissetto ve ark. 2008), (Karasek ve ark. 2009), (Zeng ve ark. 2009), (Ou ve ark. 2010), (Lasekan ve Abbas 2011)
AccuBOND II SCX	Apolar sekonder interaksyonları olan güçlü benzen-sulfonik asit bazlı sorbent katyon değiştirici özelliktedir.	Riediker ve Stadler 2003.
Bond Elut AccuCAT	Sulfonik asit ve kuaternar aminden oluşan mix-mod sorbent içermektedir.	(Leung ve ark. 2003), (Roach ve ark. 2003), (Takatsuki ve ark. 2003), (Andrzejewski ve ark. 2004), (Mestdagh ve ark. 2004)
Bond Elut C ₁₈	Hidrofobik silika-bazlı sorbent içermektedir.	Takatsuki ve ark. 2003
Bond Elut Jr-PSA	Asit ile yıkanmış düzensiz şekilli Etilendiamin-N-propil fonksiyonel bağlı silika içermektedir.	Takatsuki ve ark. 2003
ENVI-Carb	Grafitize karbon içermektedir.	Becalski ve ark. 2003
Strata [™] -X-C	Polar ve güçlü katyon değiştirici gruplar ile fonksiyone olmuş polimerik reçine vardır.	Bermudo ve ark. 2008

3.2.2. Kalibrasyon Standartlarının Hazırlanması

Akrilamidin kantitatif olarak tespit edilebilmesi için LC/MSMS cihazına sırasıyla 2-5-20-50-100-200 ve 500 ppb'lik standartlar enjekte edilerek lineer bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. İnternal standart da kalibrasyon eğrisindeki her bir noktada ve diğer tüm örnek çalışmalarında 40 ppb olacak şekilde hazırlanmıştır. Bunun için öncelikle 10'ar mg Akrilamid ve D₃-Akrilamid tartılarak 100 ml'lik balon jöjede çizgisine su ile tamamlanmıştır. Böylece 100 ppm'lik ana stok çözeltileri elde edilmiştir. Ana stoktan su ile seyreltme yapılarak 2 ppm'lik ara stok Akrilamid ve D₃-Akrilamid elde edilmiştir. Ara stok çözeltilerden de aşağıdaki şekilde seyreltmeler yapılarak kalibrasyon standartları elde edilmiştir. Hazırlanan tüm standartlar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

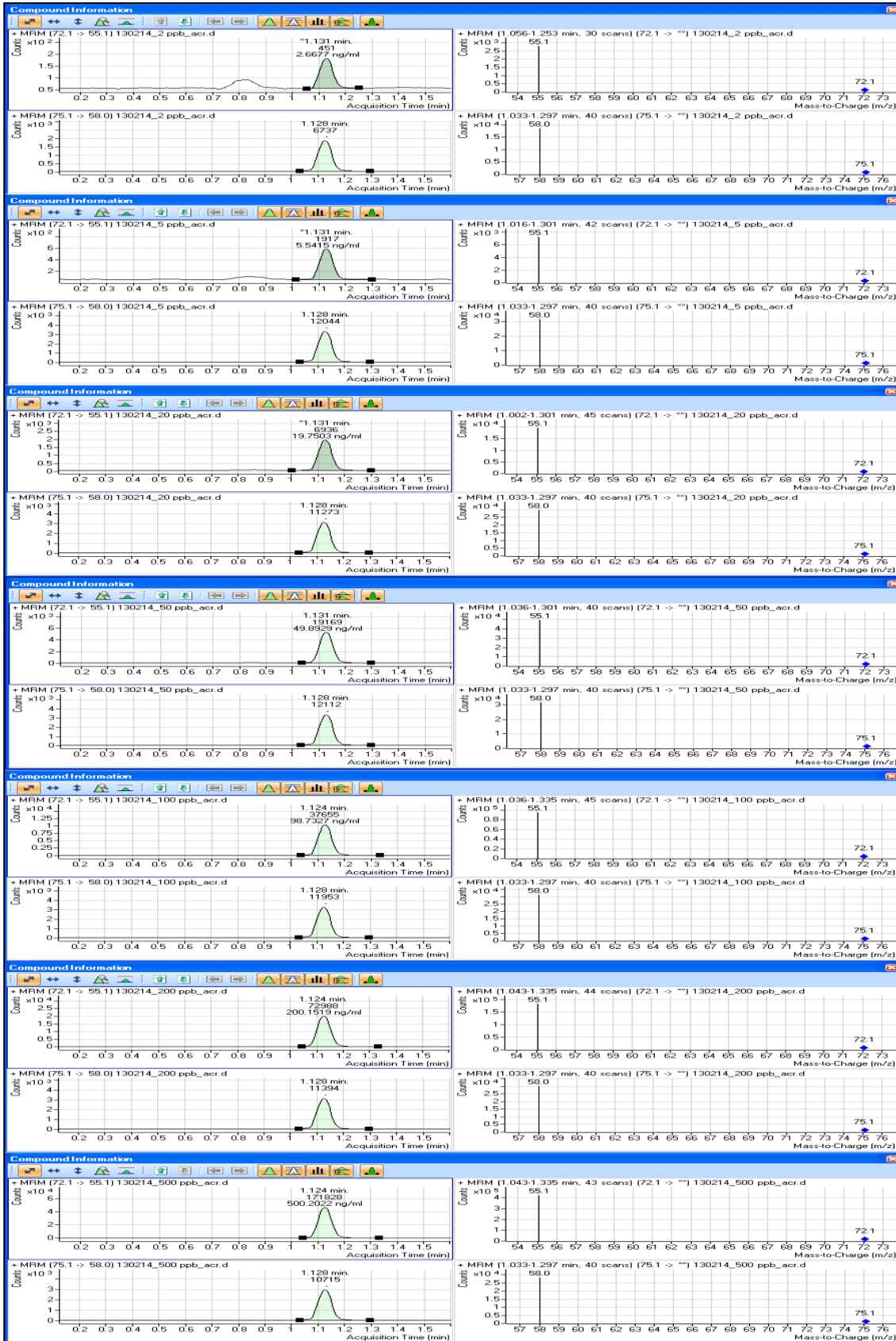
Çizelge 3. 3. Akrilamid ve D₃-akrilamid standartlarının hazırlanışı

2 ppm'lik ara stok çözeltiden alınan miktar (ml)	Tamamlanan hacim(ml)	Akrilamid Kalibrasyon standardı konsantrasyonu (ppb)	2 ppm'lik D ₃ 'ten eklenen miktar (ml)	D ₃ -akrilamid konsantrasyonu (ppb)
0.1	100	2	2	40
0.25	100	5	2	40
1	100	20	2	40
2.5	100	50	2	40
5	100	100	2	40
10	100	200	2	40
25	100	500	2	40



Şekil 3. 11. Akrilamid kalibrasyon standartlarının bindirilmiş kromatogramları

3. MATERYAL VE METOT



Şekil 3. 12. Akrilamid kalibrasyon standartlarının kromatogramları ve spektrumları

3.2.3. Metodun LOD, LOQ, Geri Kazanım ve Ölçüm Belirsizliğinin Belirlenmesi

3.2.3.1. Teşhis Limiti (LOD)-Tespit Limiti (LOQ) Değerlerinin Belirlenmesi

Metodun LOD ve LOQ değerlerinin tespiti için kör numuneye 25 ppb standart eklenerek 10 çalışma yapılmış ve bulunan değerler aşağıya çıkarılmıştır.


Çizelge 3. 4. Metodun LOD ve LOQ değerleri

Örnek Sayısı	Tartım	Seyreltme Faktörü	Cihazın Okuduğu Değer (µg/kg)	Hesaplanan Değer (µg/kg)
1	2,02	9,90	2,38	23,54
2	1,98	10,10	2,52	25,46
3	1,95	10,26	2,57	26,32
4	1,96	10,20	2,65	27,07
5	1,97	10,15	2,35	23,89
6	2,00	10,00	2,43	24,26
7	1,95	10,26	2,52	25,80
8	1,96	10,20	2,65	27,03
9	2,01	9,95	2,53	25,21
10	1,99	10,05	2,50	25,08
ORTALAMA				25,37
STD. SAPMA				1,17
% RSD				4,60
LOD				3,50
LOQ				11,67

3.2.3.2. % Geri Kazanım Değerinin Belirlenmesi

Metodun % geri kazanım değerinin belirlenmesi için **Fapas T3037QC** nolu kalite kontrol test materyali temin edilmiş ve analiz edilerek bulunan değerler aşağıya çıkarılmıştır. Bunun yanında standart ekleme yöntemi ile de bisküvi numunesi çalışılmıştır. Bunun için önce bisküvi numunesi çalışılmış daha sonra bu numuneye 100 ppb akrilamid standardı eklenerek çalışma yapılmıştır.

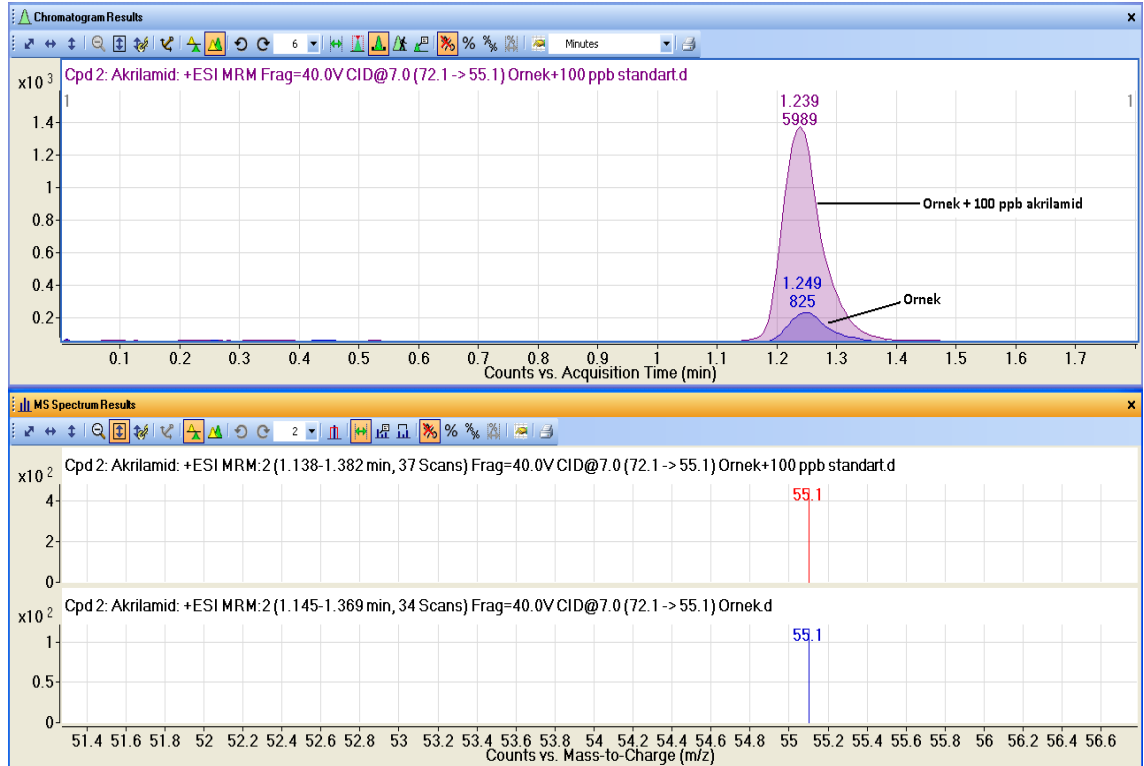
3. MATERYAL VE METOT

		The Food and Environment Research Agency Sand Hutton, York, YO41 1LZ Tel: +44 (0)1904 462100 Fax: +44(0)1904 500440 testmaterials@fapas.com www.fapas.com		
FAPAS QC MATERIAL DATA SHEET		T3037QC		
Matrix		Biscuit (Cookie)		
Weight / Volume of Contents		50g		
Analyte	Assigned Value, X_a	Range for $ z \leq 2$	Units	No. of data points producing X_a
Acrylamide	298.8	184.2 - 413.5	$\mu\text{g}/\text{kg}$	61
This data sheet is applicable until		07 Oct 2013		
Recommended Storage on receipt		-20°C		

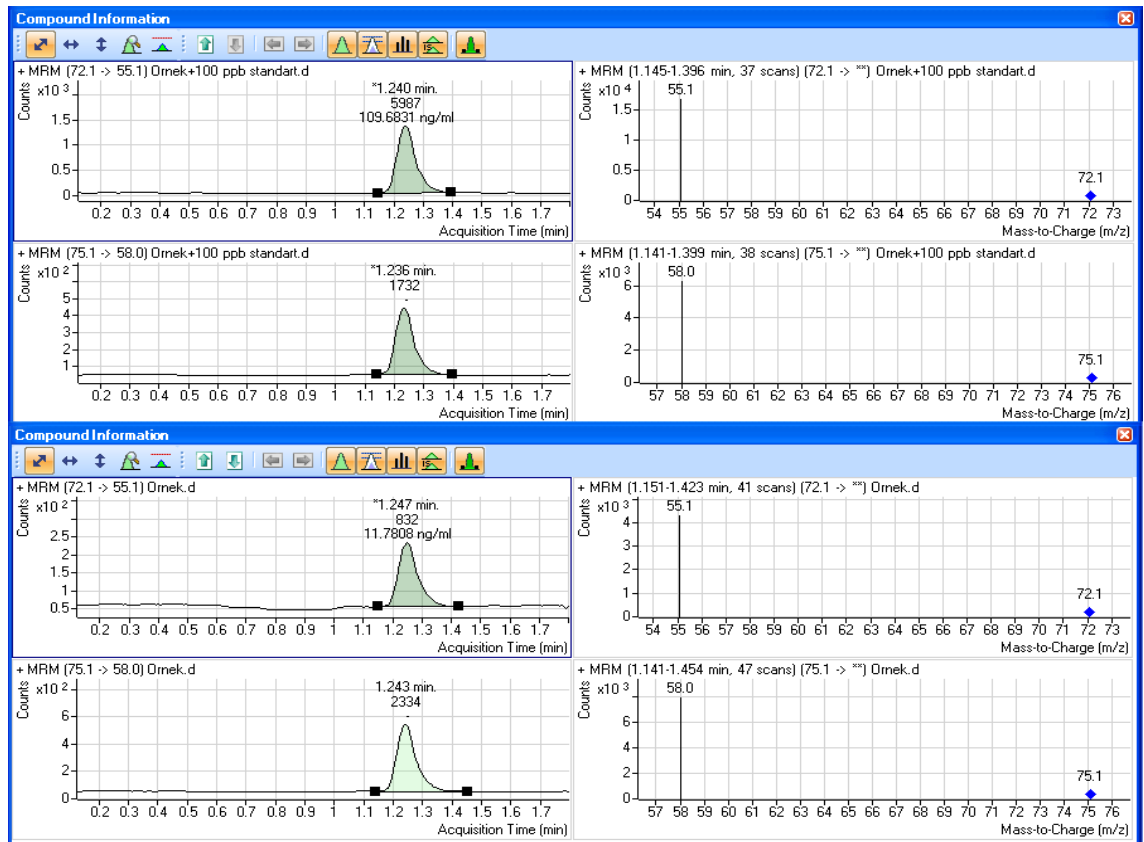
Şekil 3.13. Fapas T3037QC nolu kalite kontrol materyalinin sertifikası

Çizelge 3. 5. Fapas çalışması % geri kazanım değeri

	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Referans değere (298,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$) göre % geri kazanım
1	305,26	102,16
2	298,90	100,03
3	303,35	101,52
4	305,67	102,30
5	309,66	103,64
6	298,81	100,00
7	303,36	101,53
8	303,01	101,41
9	304,92	102,05
10	308,67	103,30
ORTALAMA	303,66	101,79
STD.SAPMA	3,37	
%RSD	1,11	



Şekil 3. 13. Standart ekleme metodu kalitatif kromatogram ve spektrum



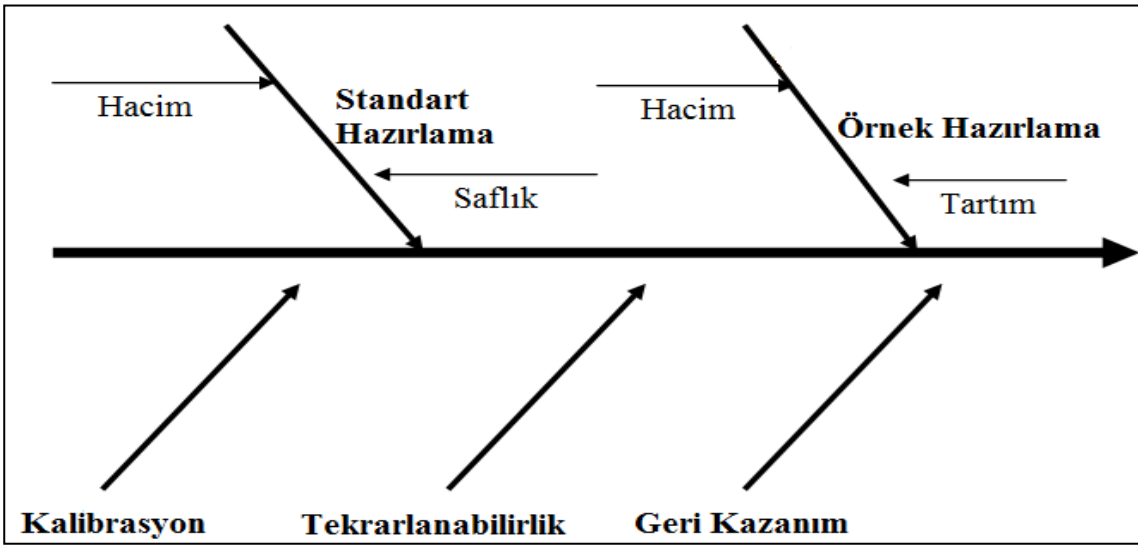
Şekil 3. 14. Standart ekleme metodu kantitatif kromatogram ve spektrum

Standart ekleme metodu ile yapılan çalışmada % geri kazanım değeri; (Standart + Örnek)-(Örnek) = 109,68-11,78 =**97,90** olarak bulunmuştur.

İki yöntemle yapılan çalışmalar sonucunda (Fapas ve standart ekleme) çıkan geri kazanım değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. (**101,79-97,90**)

3.2.3.3. Ölçüm Belirsizliğinin Belirlenmesi

Metodun örnek ve standart hazırlama aşamalarından gelebilecek muhtemel belirsizlikler, belirsizlik kaynaklarının sertifika değerlerinden istatistiksel işlemler sonucunda bulundu. Daha sonra bulunan tüm belirsizliklerin kareleri toplanarak karekökleri alınıp rölatif bileşik belirsizlik bulundu. Bulunan rölatif bileşik belirsizliğin güven seviyesini % 95'e çekmek için sonuç k=2 ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik elde edildi. Metodun genişletilmiş % belirsizliği 4,13 olarak bulundu.



Şekil 3. 15. Akrilamid analizinde gelebilecek muhtemel belirsizlik kaynakları

Çizelge 3. 6. Akrilamid analiz metodunun ölçüm belirsizliği

Belirsizlik Bileşenleri	Değer(X)	u(X)	u(X)/X
Standart hazırlamadan gelen belirsizlik- Akrilamid stok çözelti (mg/L)	2,00	0,0277	0,0138
Örnek hazırlamadan gelen belirsizlik	1	0,0110	0,0110
Geri kazanımdan gelen belirsizlik	1	0,0037	0,0037
Kalibrasyon eğrisi belirsizliği	126	0,7128	0,0057
Tekrarlanabilirlikten gelen belirsizlik	1	0,0083	0,0083
Standart bileşik belirsizlik (k=1) % 68 güven aralığı			0,0207
Genişletilmiş belirsizlik(k=2) % 95 güven aralığı			0,0413
Rölatif belirsizlik (%)			4,1313

$$U_{(\text{Toplam})} = \sqrt{\left(\frac{u(S)}{S}\right)^2 + \left(\frac{u(\text{Ör})}{\text{Ör}}\right)^2 + \left(\frac{u(\text{GK})}{\text{GK}}\right)^2 + \left(\frac{u(K)}{K}\right)^2 + \left(\frac{u(T)}{T}\right)^2}$$

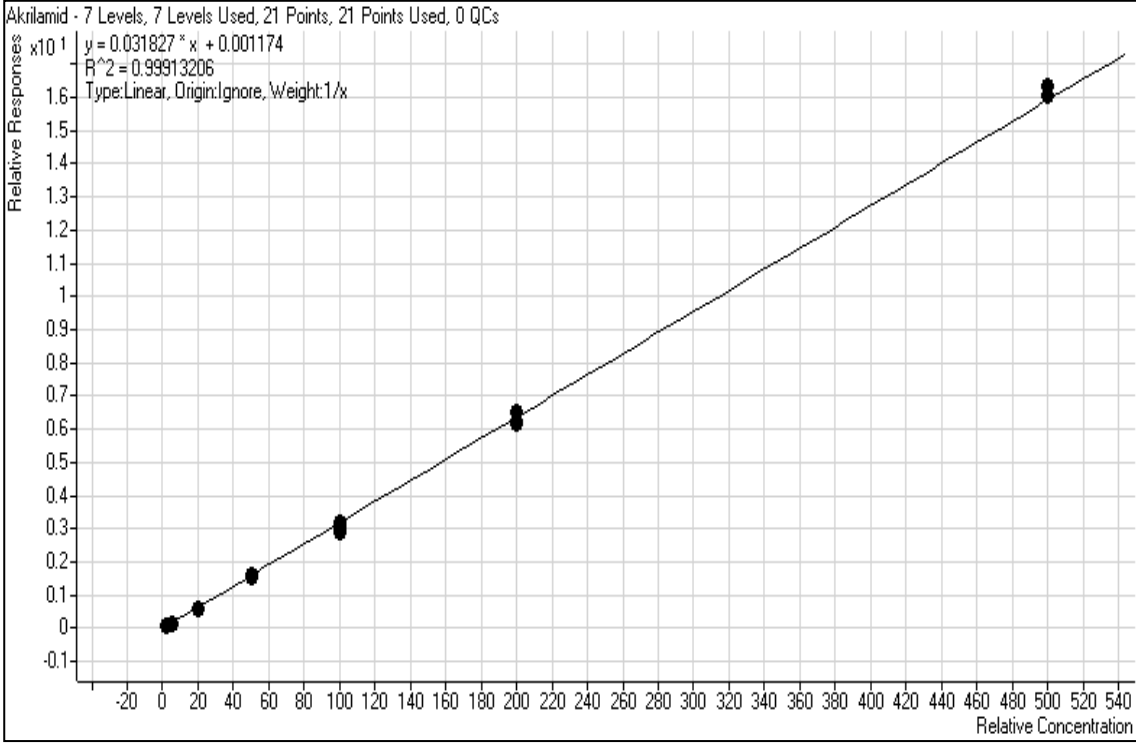
$$U_{(\text{Toplam})} = \sqrt{(0,0138)^2 + (0,0110)^2 + (0,0037)^2 + (0,0057)^2 + (0,0083)^2} = 0,0207$$

$$U_{(\text{Genişletilmiş})} = 2 \times 0,0207 = 0,0413$$

$$U_{(\text{Rölatif})(\%)} = 100 \times 0,0413 = \mathbf{4,1313}$$

3.2.3.4. Linearity (Doğrusallık)

Linearity (doğrusallık) değeri için 7 noktalı (2-5-20-50-100-200 ve 500 ppb) ve 3 enjeksiyonlu kalibrasyon grafiği çizilmiş ve korelasyon katsayısı (R^2) 0.999 gibi oldukça iyi bir değer bulunmuştur.



Şekil 3. 16. Akrylamid analizi kalibrasyon grafiği

3.3.3. Kromatografik Koşullar

Analizler LC/MSMS cihazında aşağıda belirtilen koşullarda gerçekleştirilmiştir.

✚ HPLC Koşulları:

Enjeksiyon hacmi: 15 µl

Akış Hızı: 0.6 ml/dak.

Mobil Faz A: % 90 H₂O (% 0.3 Formik Asitli)

Mobil Faz B: % 10 ACN

Analiz Süresi: 1.8 dakika

Kolon: Agilent Zorbax SB-C18 Rapid Res. HT 4.6x50 mm 1.8 micron 600 bar

Sample | Properties | ALS | **BinPump** | Column-SL | MS QQQ |

Setup | Timetable | Options |

Flow
Flow: 0.6 ml/min

Solvents
A: 90.00 % H2O % 0.3 FA
B: 10 % ACN

Stop Time
 No Limit
 1.8 min

Post Time
 Off
 0 min

Pressure Limits
Min: 0 bar Max: 400 bar

Şekil 3. 17. HPLC cihazında binary pump değerleri

MS/MS Koşulları:

Acquisition | **Source** | Chromatogram | Instrument | Diagnostics |

Source parameters

Gas Temp: 350 °C

Gas Flow: 10 l/min

Nebulizer: 45 psi

Sheath Gas Temp: 350 °C

Sheath Gas Flow: 12 l/min

Capillary: Positive 4000 V Negative 3500 V 5046 nA

Nozzle Voltage: 0 V

Chamber Current 0.20 µA

Şekil 3. 18. MS/MS cihazında source parametreleri

Optimizasyon Değerleri:

Acquisition | Source | Chromatogram | Instrument | Diagnostics |

Scan segments

Compound Name	ISTD?	Precursor Ion	MS1 Res	Product Ion	MS2 Res	Dwell	Fragmentor	Collision Energy	Cell Accelerator Voltage	Polarity
D3	<input checked="" type="checkbox"/>	75.1	Unit	58	Unit	200	30	8	7	Positive
Akrilamid	<input type="checkbox"/>	72.1	Unit	55.1	Unit	200	40	7	7	Positive

Şekil 3. 19. MS/MS cihazında acquisition optimizasyon değerleri

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi bu çalışma iki kısımdan oluşmaktadır. Birinci kısımda piyasadaki akrilamid oluşma potansiyeli olan bisküvi, bebe bisküvisi, çubuk kraker, hazır kek, türk kahvesi, patates cipsi, simit, ekmek, kavrulmuş badem, kavrulmuş fındık, kavrulmuş yer fıstığı, sarı leblebi, sade leblebi, kabak çekirdeği, kaju ve Diyarbakır Kadayıfı gibi çeşitli örnekler toplanmış ve analizleri yapılmıştır. Bu analizlerin sonuçları aşağıya çıkarılmıştır.

Çıkan sonuçları normalde belirli üst limitlere göre karşılaştırmamız ve bu üst limitleri aşmalarına ya da bu değerlerin altında kalmalarına göre yorum yapmamız gerekirdi. Ancak gıdalarda akrilamid düzeyleri ile ilgili henüz ne Avrupa Birliği ne de ülkemizde belirlenmiş resmi limit değerleri bulunmamaktadır. Fakat Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)'nin 2007-2008 yılları arasında gerçekleştirdiği '**Gıdalarda Akrilamid İzleme Programı**' verilerinden yola çıkarak çok tüketilen bazı gıdalar için '**Gösterge Değerler**' adı altında bir liste yayımlamıştır. '**Gösterge Değerler**' akrilamid için maksimum limit değerleri olmayıp, yetkili merciiye bu değerler aşıldığı zaman sorunun nerde olduğuna dair yardımcı olacak bir rehber niteliğindedir. Biz de elde ettiğimiz sonuçları aşağıdaki '**Gösterge Değerler**' listesine göre yorumladık.

Çizelge 4. 1. Gıdalarda akrilamid için gösterge değerleri

Gıda Maddesi	Gösterge Değer (µg/kg)
Kızartılmış Fransız patatesi	600
Patates cipsi	1000
Ekmek	150
Kahvaltılık tahıllar	400
Bisküvi, kraker vb.	500
Kavrulmuş kahve	450
Hazır kahve	900
Bebek maması (pişirilmiş tahıl bazlı olanlar hariç)	80
Bisküvi ve galeta (çocuklar için)	250
Piştirilmiş tahıl bazlı gıdalar (çocuklar için, bisküvi ve galeta hariç)	100

4.1. Piyasadan Örneklerin Toplanarak Analiz Edilmesi

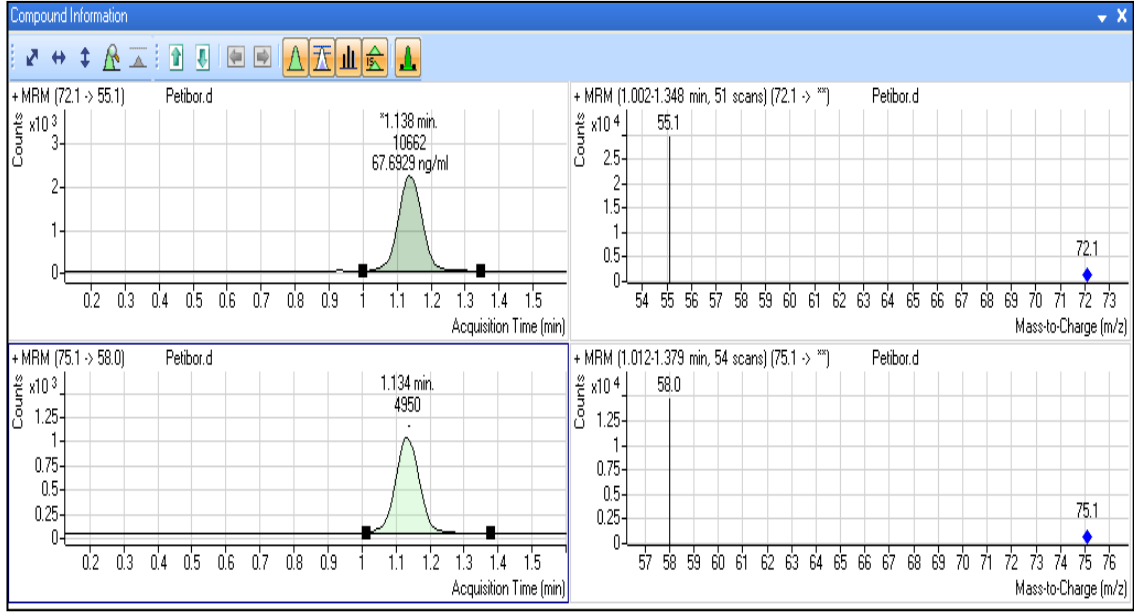
4.1.1. Bisküvi-Bebe Bisküvisi Çalışma Sonuçları

Piyasadan en çok tüketilen 8 adet farklı marka ya da aynı markanın farklı çeşidi olan bisküvi çeşidi ve en çok tüketilen 2 adet bebe bisküvisi temin edilip analizi yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 2. Bisküvi-bebe bisküvisi çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
B ₁	399,03	±	16,49
B₂	623,34	±	25,75
B ₃	397,74	±	16,43
B ₄	149,21	±	6,16
B₅	676,93	±	27,97
B ₆	284,50	±	11,75
B ₇	17,89	±	0,74
B ₈	430,45	±	17,78
BB ₁	87,12	±	3,60
BB ₂	84,13	±	3,48

Bulunan sonuçlar çizelge 4.1’de ‘**Gösterge Değerler**’ listesindeki ilgili değer ile karşılaştırıldığında (**500 µg/kg**) bisküvi çalışmaları içinde B₂ ve B₅ kodlu örnek sonuçlarının bu değeri aştığı, diğer örnek sonuçlarının ise bu değer altında kaldığı görülmüştür. Bebe bisküvisi için ise BB₁ ve BB₂ kodlu örnek sonuçlarının her ikisinin de listedeki değer olan **250 µg/kg**’ın altında kaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. 1. Bisküvi örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

4.1.2. Kraker Çalışma Sonuçları

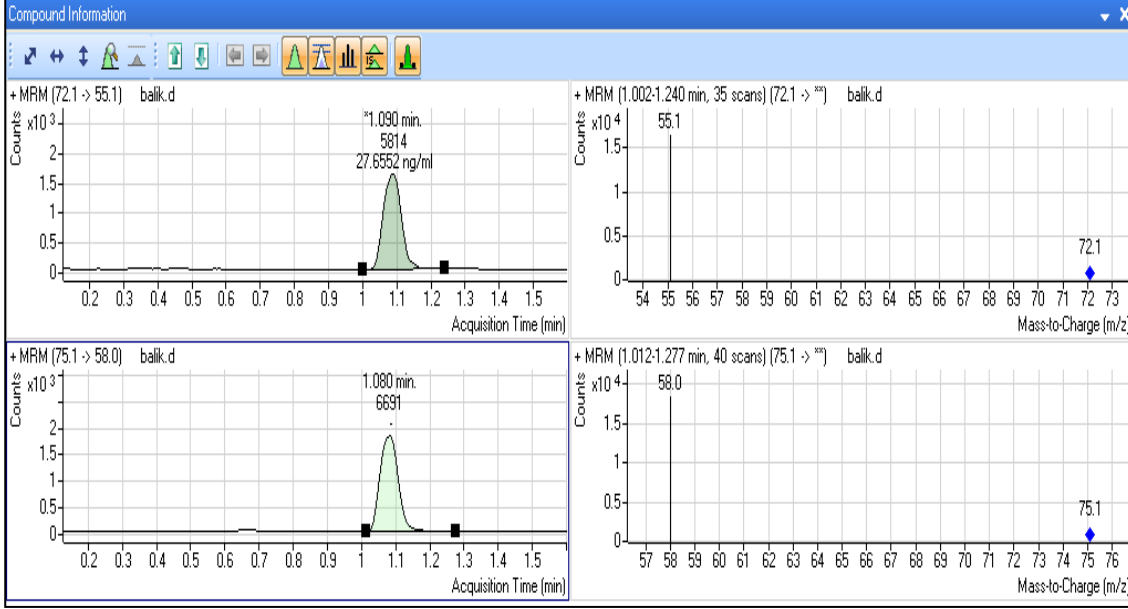
Piyasadan en çok tüketilen 10 adet farklı marka ya da aynı markanın farklı çeşidi olan kraker temin edilip analizi yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 3. Kraker çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)
K ₁	429,11 ± 17,73
K ₂	175,22 ± 7,24
K ₃	86,36 ± 3,57
K ₄	56,90 ± 2,35
K ₅	126,91 ± 5,24
K ₆	101,49 ± 4,19
K ₇	260,99 ± 10,78
K ₈	498,62 ± 20,60
K ₉	130,00 ± 5,37
K₁₀	632,97 ± 26,15

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bulunan sonuçlar çizelge 4.1’de ‘**Gösterge Değerler**’ listesindeki ilgili değer ile karşılaştırıldığında (**500 µg/kg**) kraker çalışmaları içinde K₁₀ kodlu örnek sonucunun bu değeri aştığı diğer örnek sonuçlarının ise bu değerin altında kaldığı görülmüştür.



Şekil 4. 2. Kraker örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

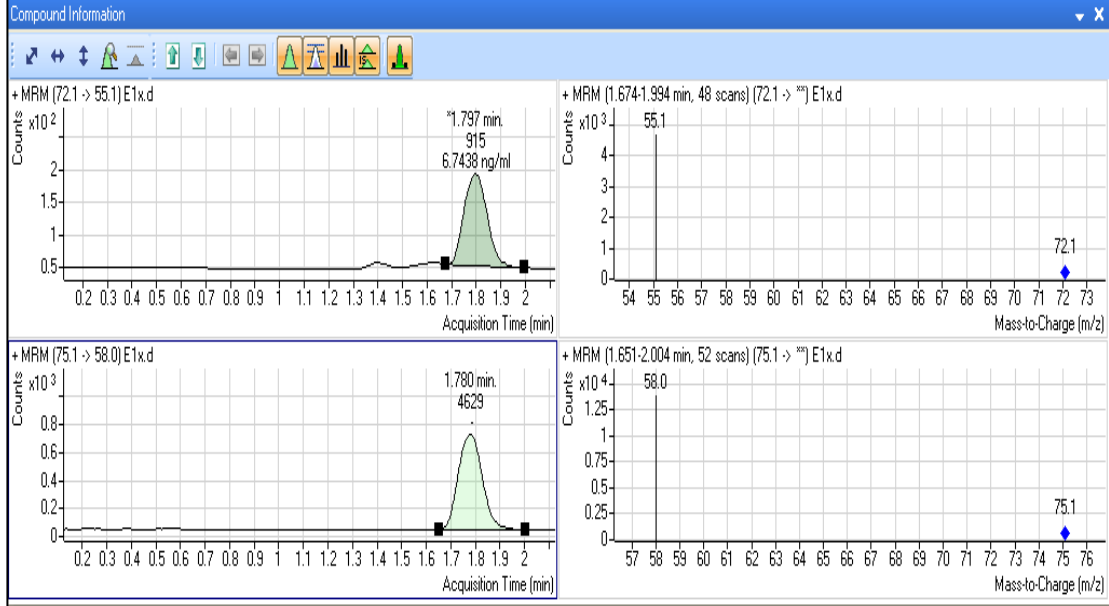
4.1.3. Ekmek Çalışma Sonuçları

Piyasadaki çeşitli fırınlardan 8 adet ekmek alınmış ve ekmeklerin kabukları bistöri vasıtasıyla ayrılarak homojenize edildikten sonra analizleri yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 4. Ekmek çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
E ₁	100,21	±	4,14
E ₂	99,03	±	4,09
E ₃	89,33	±	3,69
E ₄	92,12	±	3,81
E ₅	93,49	±	3,86
E ₆	84,39	±	3,49
E ₇	80,52	±	3,33
E ₈	82,31	±	3,40

Bulunan sonuçlar çizelge 4.1’de ‘**Gösterge Değerler**’ listesindeki ilgili değer ile karşılaştırıldığında (**150 µg/kg**) tüm ekmek sonuçlarının bu değer altında kaldığı görülmüştür.



Şekil 4. 3. Ekmek örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

4.1.4. Simit Çalışma Sonuçları

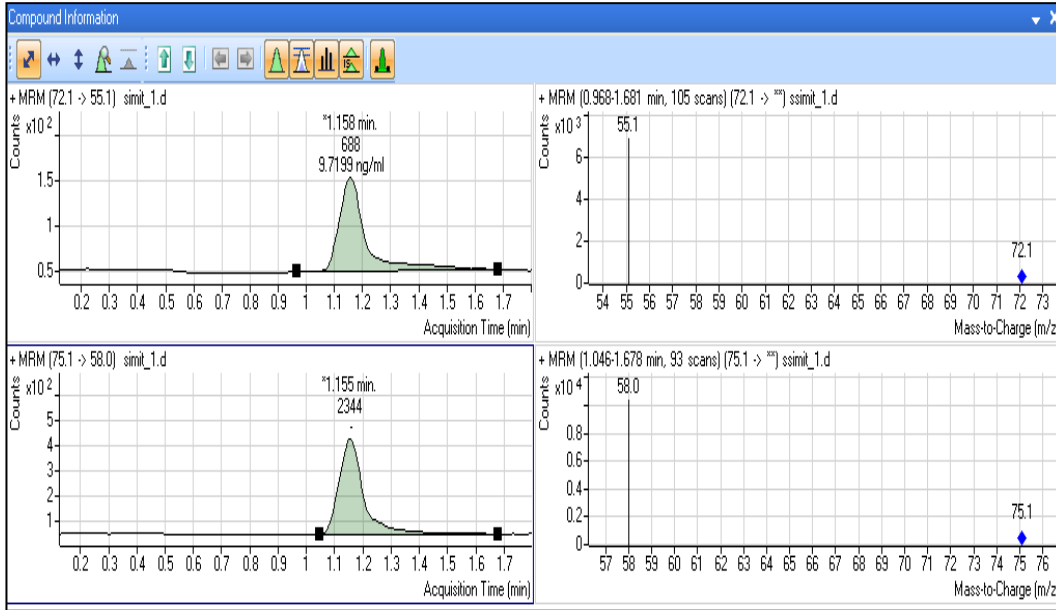
Piyasadaki çeşitli fırınlardan 8 adet simit alınmış ve simitlerin kabukları bistüri vasıtasıyla ayrılarak homojenize edildikten sonra analizleri yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 5. Simit çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
S ₁	145,80	±	6,02
S ₂	156,21	±	6,45
S ₃	135,78	±	5,61
S ₄	140,21	±	5,79
S ₅	138,10	±	5,71
S ₆	137,95	±	5,70
S ₇	138,17	±	5,71
S ₈	137,20	±	5,67

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Simit için çizelge 4.1’de ‘Gösterge Değerler’ listesinde direkt olarak bir değer bulunmamakla birlikte değerlendirmemizi ‘Bisküvi, kraker, çörek vb.’ başlığı altında yaparsak (500 µg/kg) bulunan tüm sonuçların bu değer altında kaldığı görülmektedir. Simitte bulunan değerlerin ekmekten yüksek olmasının nedeni muhtemelen simidin pekmez türü bir şerbete daldırıldıktan sonra pişirilmesindedir. Bu da şeker miktarını dolayısıyla akrilamid miktarını arttırmaktadır.



Şekil 4. 4. Simit örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

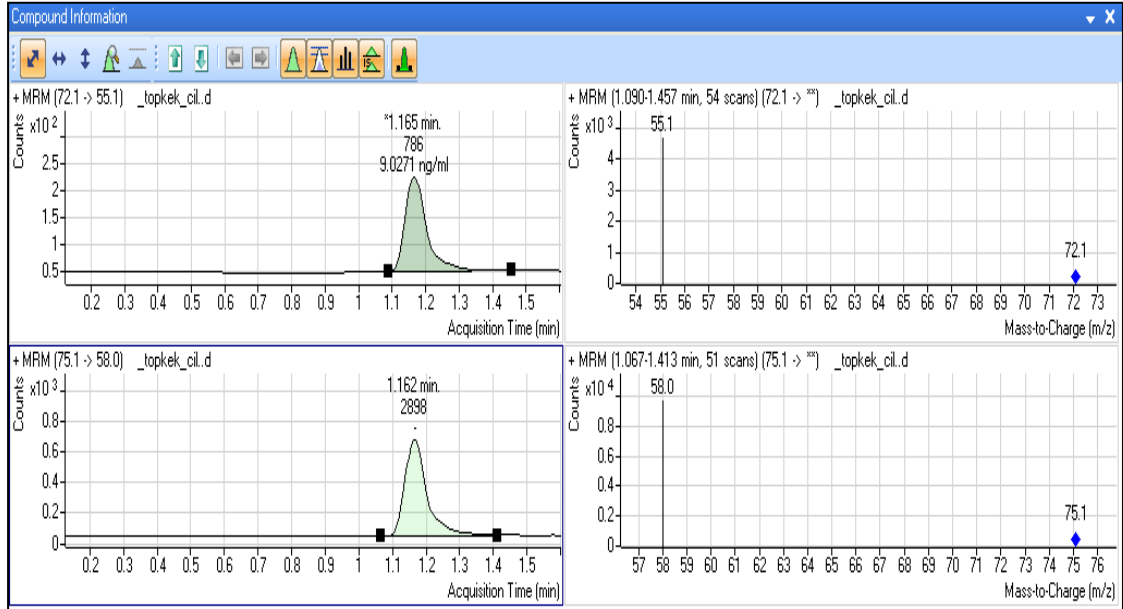
4.1.5. Hazır Kek Çalışma Sonuçları

Piyasadan, en çok tüketilen 8 adet farklı marka ya da aynı markanın farklı çeşidi olan hazır kek temin edilmiş ve analizleri yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 6. Hazır kek çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
Kek ₁	128,53	±	5,31
Kek ₂	113,13	±	4,67
Kek ₃	135,41	±	5,59
Kek ₄	119,96	±	4,96
Kek ₅	126,57	±	5,23
Kek ₆	129,81	±	5,36
Kek ₇	150,75	±	6,23
Kek ₈	162,89	±	6,73

Hazır kek için çizelge 4.1’de ‘**Gösterge Değerler**’ listesinde direkt olarak bir değer bulunmama ile birlikte değerlendirmemizi ‘**Bisküvi, kraker, çörek vb.**’ başlığı altında yaparsak (**500 µg/kg**) bulunan tüm sonuçların bu değer altında kaldığı görülmektedir.



Şekil 4. 5. Hazır kek örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

4.1.6. Bebek Maması (Tahıl Bazlı) Çalışma Sonuçları

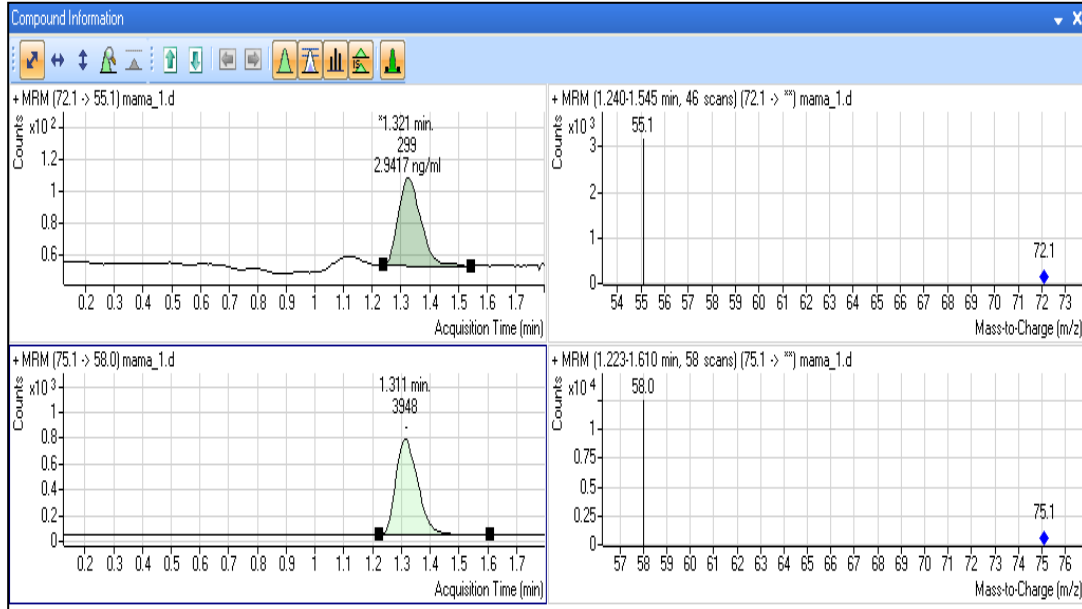
Piyasadan, en çok tüketilen 4 adet farklı marka ya da aynı markanın farklı çeşidi olan tahıl bazlı bebek maması temin edilmiş ve analizi yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 7. Bebek maması (tahıl bazlı) çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
Mama ₁	73,54	±	3,04
Mama ₂	30,71	±	1,27
Mama ₃	27,16	±	1,12
Mama ₄	30,97	±	1,28

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bulunan sonuçlar çizelge 4.1’de ‘Gösterge Değerler’ listesindeki ‘Bebekler ve çocuklar için pişirilmiş tahıl bazlı gıdalar (bisküvi ve galeta hariç)’ başlığı altındaki değere göre (100 µg/kg) değerlendirilmiş ve bulunan tüm sonuçların bu değerin altında kaldığı görülmüştür.



Şekil 4. 6. Bebek maması (tahıl bazlı) örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

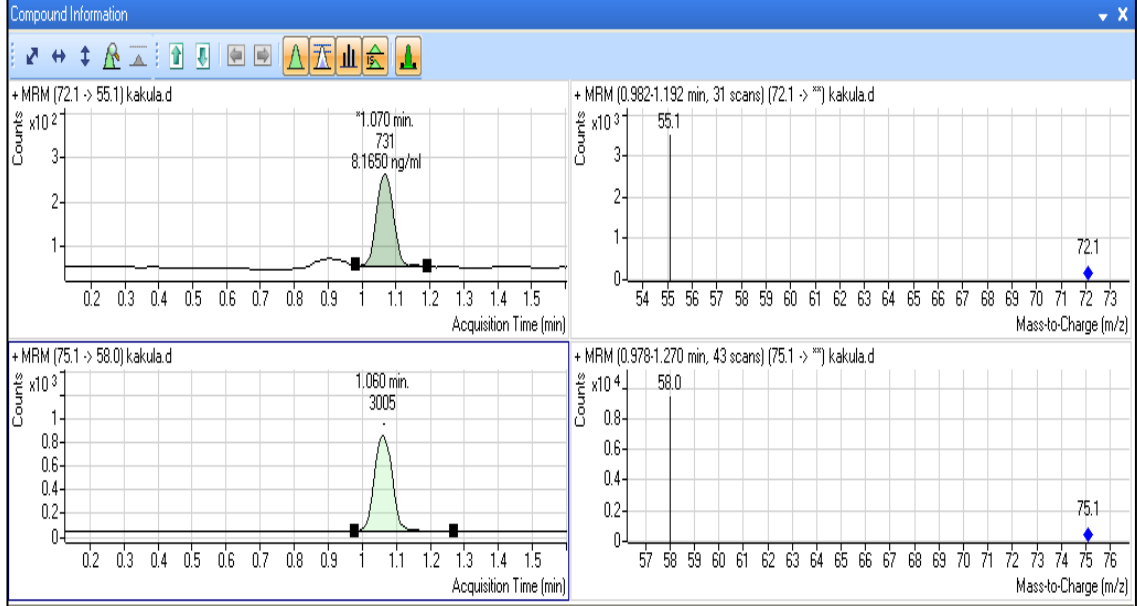
4.1.7. Kavrulmuş Kahve Çalışma Sonuçları

Piyasadan, en çok tüketilen 7 adet farklı marka ya da aynı markanın farklı çeşidi olan kavrulmuş kahve temin edilmiş ve analizi yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 8. Kavrulmuş kahve çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)
Kah ₁	119,12 ± 4,92
Kah ₂	189,19 ± 7,82
Kah ₃	121,17 ± 5,01
Kah ₄	157,93 ± 6,52
Kah ₅	129,17 ± 5,34
Kah ₆	174,86 ± 7,22
Kah ₇	218,15 ± 9,01

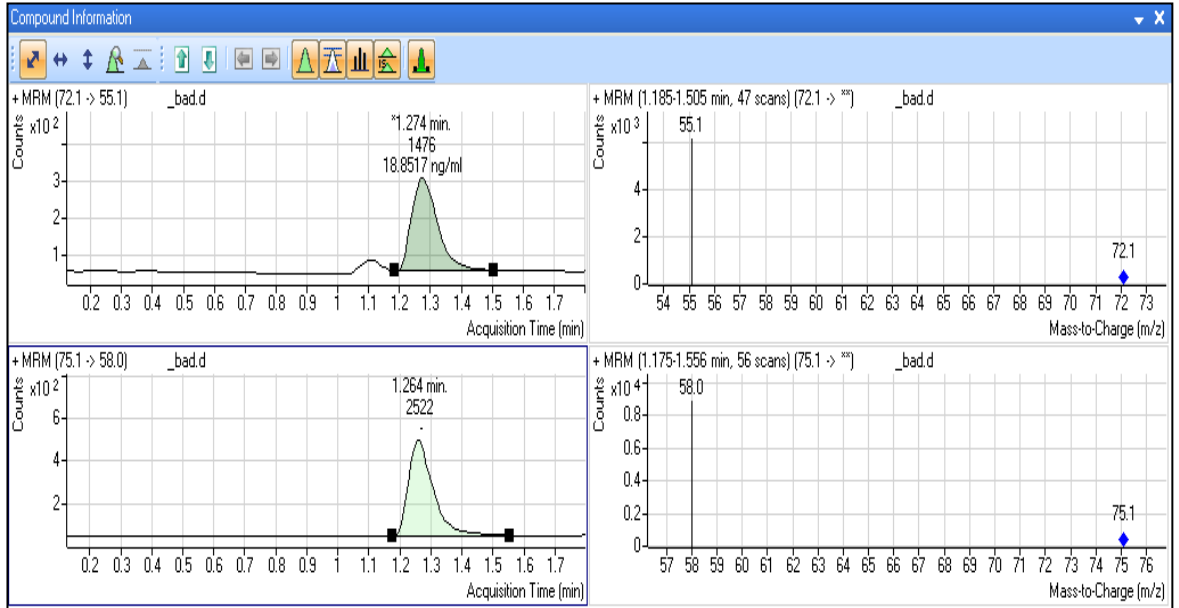
Bulunan sonuçlar çizelge 4.1'de 'Gösterge Değerler' listesindeki 'Kavrulmuş kahve' başlığı altındaki değere göre (450 µg/kg) değerlendirilmiş ve bulunan tüm sonuçların bu değerin altında kaldığı görülmüştür.



Şekil 4. 7. Kahve örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

4.1.8. Kavrulmuş Kuruyemiş Çalışma Sonuçları

Piyasadaki çeşitli kuruyemişçilerden, 4 çeşit kavrulmuş yerfıstığı, 4 çeşit kavrulmuş fındık, 4 çeşit kavrulmuş leblebi, 3 çeşit kavrulmuş badem, 2 çeşit kavrulmuş kabak çekirdeği ve 2 çeşit kavrulmuş kaju yemişi temin edilmiş ve analizi yapılmıştır.



Şekil 4. 8. Kavrulmuş kuruyemiş örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 9. Kavrulmuş kuruyemiş çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
YF ₁	55,17	±	2,28
YF ₂	24,37	±	1,01
YF ₃	35,19	±	1,45
YF ₄	25,51	±	1,05
F _{1n1}	27,78	±	1,15
F _{1n2}	(8,50	±	0,35) < LOQ
F _{1n3}	(8,71	±	0,36) < LOQ
F _{1n4}	26,66	±	1,10
Leb ₁	62,84	±	2,60
Leb ₂	67,77	±	2,80
Leb ₃	36,98	±	1,53
Leb ₄	52,23	±	2,16
Bad ₁	399,74	±	16,51
Bad ₂	83,14	±	3,43
Bad ₃	211,33	±	8,73
KÇ ₁	57,46	±	2,37
KÇ ₂	18,84	±	0,78
KÇ ₃	44,04	±	1,82
KJ ₁	47,91	±	1,98
KJ ₂	87,26	±	3,60

Kavrulmuş kuruyemiş için çizelge 4.1'de '**Gösterge Değerler**' listesinde direkt olarak bir değer bulunmamakla birlikte değerlendirmemizi en yakın değer olan '**Kavrulmuş kahve**' başlığı altında yaparsak (**450 µg/kg**) bulunan tüm sonuçların bu değer altında kaldığı görülmektedir.

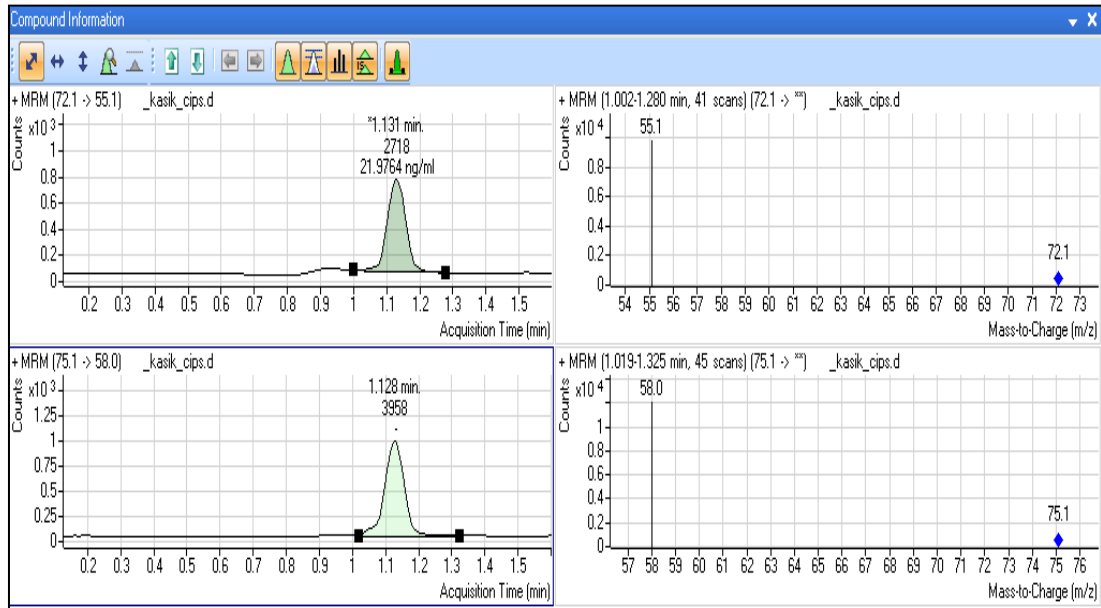
4.1.9. Patates-Mısır Cipsi Çalışma Sonuçları

Piyasadan, en çok tüketilen 7 adet farklı marka ya da aynı markanın farklı çeşidi olan patates-mısır cipsi temin edilmiş ve analizi yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 10. Patates-mısır cipsi çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
Cips ₁	82,28	±	3,40
Cips₂	1080,80	±	44,65
Cips ₃	215,77	±	8,91
Cips ₄	55,22	±	2,28
Cips ₅	133,62	±	5,52
Cips ₆	343,67	±	14,20
Cips ₇	74,42	±	3,07

Patates-mısır cipsi için çizelge 4.1’de ‘**Gösterge Değerler**’ listesindeki değerlendirmemizi ‘**Patates Cipsi**’ başlığı altında yaparsak (**1000 µg/kg**) Cips₂ kodlu örneğin belirtilen değeri geçtiği, diğer örneklerin ise bu değer altında kaldığı görülmektedir.



Şekil 4. 9. Patates-mısır cipsi örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

4.1.10. Diyarbakır Kadayıfı Çalışma Sonuçları

Diyarbakır Kadayıfı ile ilgili verileri yorumlamadan önce bu ürün hakkında biraz bilgi vermenin faydalı olacağı kanaatindeyim.

4.1.10.1. Diyarbakır Kadayıfının Tarihçesi

Kadayıf, Diyarbakır'da 18. yüzyıldan beri yapılan bir tatlı türüdür. Kadayıfın imalatını ilk kez Diyarbakırlı bir ermeni olan Agop adındaki bir şahıs yapmıştır. O dönemde kış aylarında Bingöl'den Diyarbakır'a gelen işçilerden bazıları (eski ismi ile LOTAN köyünden Keleş Altunteri, Ahmedî Altunhan, Rıza Anşin) Agop'un yanında çalışmaya başlayıp bu sanatı öğrenirler. Lotan köylüleri bu sanatı öğrenince kendileri küçük imalathaneler kurup, satış yaparlar. Hacı Muhammed Oktay, Hacı Levent Altunhan Diyarbakır merkezde ilk dükkânlarını açarlar.

Agop'un yaptığı kadayıf, Ermenilerin mahalli tatlısı olarak bilinse de, 1900'lü yılların başında Agop'un vefatından sonra yanında yetişen ustalar vasıtasıyla Diyarbakır'ın burma kadayıfı icat edilir. Bu ustaların çocuklarının vasıtasıyla da Diyarbakır kadayıfı günümüze kadar gelmiştir. (14.08.2014, <http://www.mdk.com.tr/sayfa/4/.html>)

4.1.10.2. Diyarbakır Kadayıfının Yapılışı

Un ve sudan oluşan ve ustaların hamur dediği bulamaç hazırlanır. İşletmeler arasında farklılık göstermesine rağmen genellikle üç un tipinin karışımından elde edilen un kullanılır. Bazı işletmelerde bu bulamacın asitlenmemesi için soğutma düzenekleri oluşturulmuştur.

Tel pişirme işlemi için kullanılan tepsi bakırdan yapılmaktadır. Bakır tepsiye uygulanan sıcaklık 170-200°C' dir. Hazırlanan bulamaç bakırdan yapılmış ve kadayıf tellerinin eşit oranda ısınması için dairesel hareketle dönen tepsinin üzerine dökülür. Bu dökülme mekanik şekilde çalışan ve altında ince delikleri bulunan hazne sayesinde yapılır. Döküm makinelerinin çapı 1-1,5 mm arasında değişmektedir. Bulamacın konulduğu haznede bulunan delik çapları işletmeler arasında farklılık gösterebilmektedir. Bulamaç ısınan bakır saca hazneden dökülür. Dönen sac üzerine dökülen bulamacın içindeki suyun büyük bir kısmı buharlaşarak tel şeklini alır. Kuruyan kadayıf telleri usta tarafından sacdan toplanır.

Kadayıfın pişeceği tepsi hazırlanır. İyi bir şekilde temizlenmiş ve kurutulmuş tepsinin tabanına yağ sürülür. Eski yöntemde sadece sadeyağ kullanılırken son zamanlarda tüketicilerin sadeyağın tadını ağır bulması üzerine kullanılan yağda değişiklik yapılmıştır. Sadeyağ ve sıvı yağın karışımından oluşan bir yağ kullanılmaktadır. Pişirme esnasında kadayıfın daha güzel bir renk alması amacıyla yağ karışımına çok az oranda pekmez katılmaktadır. Genellikle 1 kilogram kadayıfta 33-38 gram sadeyağ, 190-220 mililitre sıvı ayçiçek yağı ve 7-10 mililitre pekmez karışımı kullanılmaktadır. Yağ ve pekmezden oluşan karışım pişirme tepsisinin alt yüzeyini kaplayacak şekilde tepsiye sürülür.

Kadayıf yapımında kullanılan ceviz veya fıstık yeni mahsul olmalı, tuzsuz olmalı ve nemli olmamalıdır. Ceviz ve fıstık içi parçalanıp, ufalanmış kadayıf telleriyle belli oranda karıştırılarak kadayıf içi hazırlanır. Daha önceden hazırlanan kadayıf tellerinin içine ceviz veya fıstık konularak sarılır. 1 kg kadayıfta ortalama 120-150 gram ceviz veya fıstık içi kullanılır. Sarma şeklinde yapılır. Hazırlanan kadayıflar daha önceden hazırlanmış tepsiye dizilir.

Pişirme işleminin iyi yapılabilmesi için sıcaklığın kadayıfın bütün yüzeyinde aynı oranda olması gerekir. Bu amaca uygun ocaklar dizayn edilmiştir. Bu ocaklar doğalgaza uyumlu olup, pişirme tablası dairesel şekilde dönmekte ve ısı her tarafa eşit şekilde dağılabilmektedir. Pişirme kadayıfın iki yüzeyinde de yapılmaktadır. Alt kısmı pişen kadayıf çevrilerek üst kısmının da pişirilmesi sağlanır. Pişirilen kadayıfın altında kalan fazla yağ tepsiye belli oranda eğim verilerek uzaklaştırılır. Pişirilen kadayıflar yaklaşık 10-15 dakika dinlendirildikten sonra üzerine daha önceden hazırlanan şerbet dökülür. Şerbet 1 litre suya 1300-1500 gram şeker katılarak hazırlanır. Şeker, suyun içinde tümüyle eridikten sonra kaynatma işlemine tabi tutulur. Kaynatma işlemiyle şerbet yoğunlaştırılır. 1 kg kadayıf üzerine 300-350 mililitre şerbet dökülür. Üzerine şerbet dökülen kadayıf artık servise hazırdır. Diyarbakır kadayıfı oda sıcaklığında 1 hafta raf ömrüne sahiptir.

4.1.10.3. Diyarbakır Kadayıfının Ayırt Edici Özellikleri

Diyarbakır kadayıfı şekil, kullanılan malzeme ve pişirme yöntemi ile diğer kadayıflardan farklıdır.

- ✚ Diyarbakır kadayıfı ocakta alt ve üst tarafı eşit derecede pişirilirken diğer kadayıf çeşitleri fırınlarda pişirilmektedir.
- ✚ Diyarbakır kadayıfında sadeyağ, sıvı yağ ve pekmez karıştırılması ile elde edilen karışım kullanılırken diğer kadayıflarda tereyağı kullanılmaktadır.
- ✚ Diyarbakır kadayıfında ince teller içine ceviz veya Antep fıstığı konulup burma şeklinde sarılır. Diğer kadayıf çeşitlerinde ise böyle bir şekil verme yoktur.
- ✚ Diyarbakır kadayıfı pişirme esnasında alt ve üst yüzeyleri hafif sertleştirilir. Diğer kadayıf çeşitleri ise yumuşak bir pelte kıvamındadır (Yavuz, H. ve ark. 2014).



Şekil 4. 10. Diyarbakır burma kadayıfı

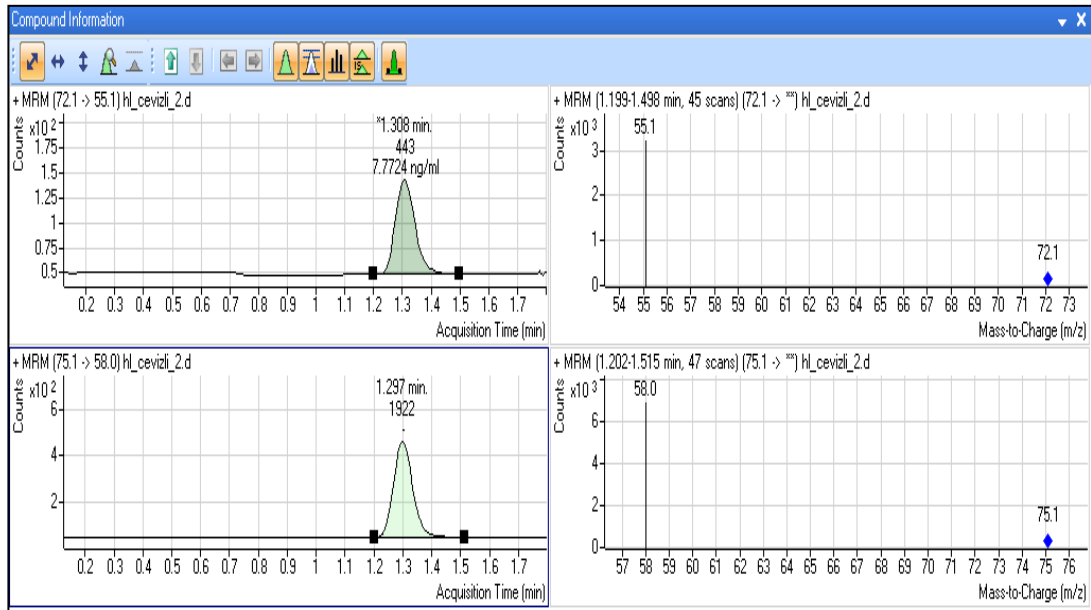
Diyarbakır piyasasında tanınan ve çok satış yapan 2 adet Diyarbakır burma kadayıfçısının üretim yerine gidilerek fıstıklı ve cevizli örnekler hem şerbeti dökülmeden önce, hem de şerbeti döküldükten sonra alınmış ve analizi yapılmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. 11. Diyarbakır kadayıfı çalışma sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)		
HLFŞ (Şerbetli)	130,63	±	5,40
HLCŞ (Şerbetli)	132,10	±	5,46
HLF	244,50	±	10,10
HLC	193,88	±	8,01
SUFŞ (Şerbetli)	266,25	±	11,00
SUCŞ (Şerbetli)	165,16	±	6,82
SUF	171,53	±	7,09
SUC	315,66	±	13,04

Kadayıf için çizelge 4.1’de ‘**Gösterge Değerler**’ listesinde direkt olarak bir değer bulunmamaktadır. Ancak değerlendirmemizi ‘**ekmek**’ başlığı altında yaparsak (**150 µg/kg**) 6 adet sonucun bu değeri geçtiği, ‘**Bisküvi, kraker, çörek vb.**’ başlığı altında yaparsak (**500 µg/kg**) bulunan tüm sonuçların bu değer altında kaldığı görülmektedir.

Çizelge 4.11 incelendiğinde şerbet ilave edilmiş kadayıfların akrilamid oranlarının şerbetsiz kadayıflara göre daha düşük kaldığı görülmektedir. Bu da kuru madde oranı arttıkça akrilamid miktarının arttığı tezini desteklemektedir.

**Şekil 4. 11.** Diyarbakır kadayıfı örneklerinden birine ait kromatogram ve kütle spektrumu

4.2. Çeşitli Ön İşlemlerin Patates Kızartmasındaki Akrilamid Miktarı Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi

Patates, yapısında bulunan indirgen şeker ve asparajin ile 120°C'nin üzerinde pişirilmesinden dolayı akrilamid oluşumu için oldukça elverişli bir üründür. Patatesin bileşimi çeşidine göre farklılık gösterse de genel olarak % 63-87'si su, % 13-37'si kuru madde, % 13-30'u karbonhidrat, % 0,7-4,6'sı protein, % 0,02-0,96'sı yağ, %0,2-3,5 fiber ve % 0,4-2'si külden oluşmaktadır (Torres ve Parreno 2009). Patateste asparajin konsantrasyonu nispeten indirgen şeker konsantrasyonundan fazladır. Tüm bu özellikleri ve halk arasında çok sevilen ve tüketilen bir ürün olduğundan dolayı çalışmanın ikinci kısmında patates kullanılmasına karar verilmiştir.

Çalışma için 0,85 x 0,85 x 7,0 cm boyutlarında parmak patatesler hazırlanarak, oda sıcaklığındaki distile suda farklı sürelerde bekletme, 70°C'deki distile sıcak suda farklı sürelerde bekletme, çeşitli konsantrasyonlarda NaCl ve CaCl₂ içeren oda sıcaklığındaki distile suda farklı sürelerde bekletme ve çeşitli konsantrasyonlarda NaCl ve CaCl₂ içeren 70°C'deki distile sıcak suda farklı sürelerde bekletme gibi ön işlemler uygulanmış ve patateslerdeki akrilamid miktarındaki azalma incelenmiştir. Tüm kızartma işlemleri 170°C'de 7 dakika kızartılarak gerçekleştirilmiş olup, ayrıca 170, 180 ve 190°C'de de ön işlem uygulanmamış patatesler 7 dakika kızartılmış ve sıcaklığın da akrilamid oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Patateslerin yapısı ve bekleme süreleri değiştikçe içerisindeki indirgen şeker miktarı dolayısıyla akrilamid miktarı değişebileceği için, aynı koşullarda farklı günlerdeki örnekler arasında farklılıklar oluşabilme ihtimaline karşı her bir grup çalışma öncesi ön işlem uygulanmamış bir örnek hazırlanıp 170°C'de 7 dakika kızartılıp, o günün kontrol örneği olarak kullanılmıştır.

Bu çalışma için sıcaklık dereceli patates kızartma makinası (fritöz), patates kesme makinası, 2 lt hacminde dereceli ve kapaklı pvc kap, 200°C'ye kadar ölçebilen termometre ve temel mutfak araç-gereçleri kullanılmıştır. Kızartma yağı olarak ayçiçeği yağı kullanılmıştır.

Çizelge 4. 12. Patates çalışma planı ve uygulanan ön işlemler

P ₁	160°C'de 7 dakika kızartma (ön işlemsiz)
P₂	1. grubun kontrol örneği (ön işlemsiz, 170°C'de 7 dakika kızartma)
P ₃	180°C'de 7 dakika kızartma (ön işlemsiz)
P ₄	Distile suda oda sıcaklığında 20 dakika bekletilmiş örnek
P ₅	Distile suda oda sıcaklığında 40 dakika bekletilmiş örnek
P ₆	70°C su içinde 3,5 dakika bekletilmiş örnek
P ₇	70°C su içinde 7 dakika bekletilmiş örnek
P₈	2. grubun kontrol örneği (ön işlemsiz, 170°C'de 7 dakika kızartma)
P ₉	5 g/L NaCl içinde 20 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₀	5 g/L NaCl içinde 40 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₁	10 g/L NaCl içinde 20 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₂	10 g/L NaCl içinde 40 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₃	5 g/L NaCl ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₄	5 g/L NaCl ve 70°C su içinde 7 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₅	10 g/L NaCl ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₆	10 g/L NaCl ve 70°C su içinde 7 dakika bekletilmiş örnek
P₁₇	3. grubun kontrol örneği (ön işlemsiz, 170°C'de 7 dakika kızartma)
P ₁₈	5 g/L CaCl ₂ içinde 20 dakika bekletilmiş örnek
P ₁₉	5 g/L CaCl ₂ içinde 40 dakika bekletilmiş örnek
P ₂₀	10 g/L CaCl ₂ içinde 20 dakika bekletilmiş örnek
P ₂₁	10 g/L CaCl ₂ içinde 40 dakika bekletilmiş örnek
P ₂₂	5 g/L CaCl ₂ ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletilmiş örnek
P ₂₃	5 g/L CaCl ₂ ve 70°C su içinde 7 dakika bekletilmiş örnek
P ₂₄	10 g/L CaCl ₂ ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletilmiş örnek
P ₂₅	10 g/L CaCl ₂ ve 70°C su içinde 7 dakika bekletilmiş örnek

İlk 3 (P₁, P₂ ve P₃) çalışma ön işlem uygulanmadan yapılmış ve sıcaklığın Akrilamid oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bunların dışındaki çalışmalarda sıcaklık 170°C'de sabitlenmiştir. Tüm çalışmalar ayçiçek yağında 7 dakika kızartılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Kızartılmış patatesteki akrilamid miktarının azaltılması için yukarıdaki ön işlemler, günlük hayatta uygulanması kolay, pratik ve az maliyetli olduğu için seçilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde suda bekletmenin (özellikle sıcak suda), patatesteki indirgen şeker miktarını, dolayısıyla akrilamid miktarını azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca suda bekletme yüzeydeki nişastayı jelatinize ederek yağ absorpsiyonunu azaltmanın yanı sıra asparajinin gıdadan ayrılmasını sağlamakta (Claeys ve ark. 2005a), (Foot ve ark. 2007) ve ortamın pH'ını da düşürerek akrilamid oluşumunu azaltmaktadır (Tareke ve ark. 2002).

Yine yapılan çalışmalar göstermiştir ki suya NaCl ve CaCl₂ vasıtasıyla +1 ve +2 yüklü Na⁺ ve Ca²⁺ katyonları eklemek akrilamid oluşumunu kayda değer miktarda azaltmaktadır. Bu durumun, katyonların akrilamidin ana bileşiklerinden olan asparajin amino asidi ile etkileşip schiff baz oluşumunu engellemesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir (Lindsay ve Jang 2005), (Park ve ark. 2005), (Gökmen ve Şenyuva 2007), (Mestdagh ve ark. 2008a), (Ou ve ark. 2008).

Ca²⁺ katyonunun ilavesi ayrıca matriksin pH'ını düşürerek te akrilamid azalmasına katkı sağlamaktadır (Levine ve Ryan 2009), (Mestdagh ve ark. 2008c).

4.2.1. Birinci Grup Çalışması ve Yorumlanması

Çizelge 4. 13. Patates çalışması 1. grup sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)	Referans Değer Kıyaslaması	% Değişim
P ₁	1326,34 ± 54,80	64,15	-35,85
P₂	2067,63 ± 85,42	100,00	0,00
P ₃	2461,75 ± 101,70	119,06	19,06
P ₄	1558,41 ± 64,38	75,37	-24,63
P ₅	1339,88 ± 55,35	64,80	-35,20
P ₆	1590,11 ± 65,69	76,90	-23,10
P ₇	1210,12 ± 49,99	58,53	-41,47

Çizelge 4.13 incelendiğinde; Aynı sürede (7 dakika) kızartılan patates örneklerinde akrilamid miktarında sıcaklık 160°C'den 170°C'ye çıktığında % 35,85'lik

bir artış, 170°C'den 180°C'ye çıktığında ise % 19,06'lık bir artış olduğu, dolayısıyla akrilamid miktarının sıcaklık arttıkça arttığı görülmektedir.

Yine çizelge 4.13 incelendiğinde;

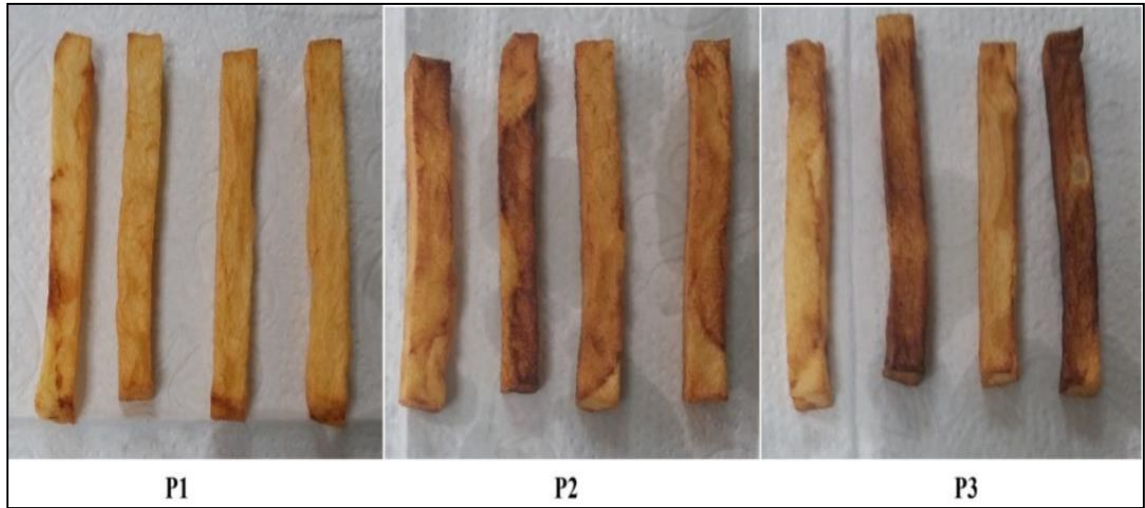
Referans değere göre (P₂) akrilamid miktarında;

20 dakika oda sıcaklığında distile suda bekletmenin (P₄) % 24,63'lük bir azalmaya,

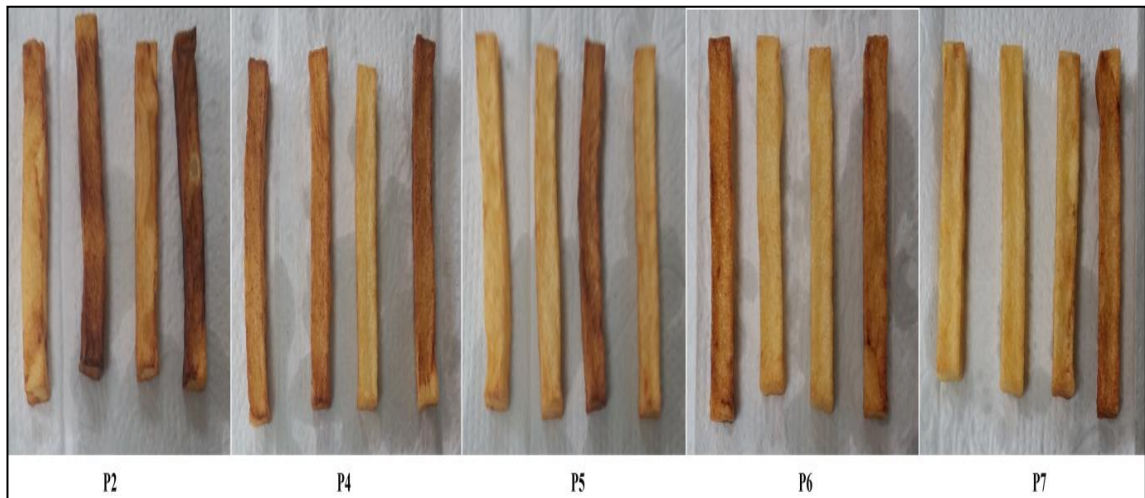
40 dakika oda sıcaklığında distile suda bekletmenin (P₅) % 35,20'lik bir azalmaya,

3,5 dakika 70°C'de distile suda bekletmenin % 23,10'luk bir azalmaya,

7 dakika 70°C'de distile suda bekletmenin ise % 41,47'lik bir azalmaya neden olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 12. P₁,P₂ ve P₃'ün kızartılmadan sonraki son halleri



Şekil 4. 13. P₄,P₅,P₆ ve P₇'nin referans değer P₂'ye göre görsel kıyaslaması

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Birinci grup çalışması sonunda hem Akrilamid miktarındaki düşüş miktarı açısından (% 41,47) hem de görsel olarak en etkili ön işlemin P₇ (70°C su içerisinde 7 dakika bekletme) olduğu görülmektedir.

4.2.2. İkinci Grup Çalışması ve Yorumlanması

Çizelge 4. 14. Patates çalışması 2. grup sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)	Referans Değer Kıyaslaması	% Değişim
P ₈	2076,55 ± 85,79	100,00	0,00
P ₉	1169,03 ± 48,30	56,30	-43,70
P ₁₀	1051,50 ± 43,44	50,64	-49,36
P ₁₁	774,74 ± 32,01	37,31	-62,69
P ₁₂	743,83 ± 30,73	35,82	-64,18
P ₁₃	588,60 ± 24,32	28,35	-71,65
P ₁₄	351,08 ± 14,50	16,91	-83,09
P ₁₅	451,21 ± 18,64	21,73	-78,27
P ₁₆	367,13 ± 15,17	17,68	-82,32

Çizelge 4.14 incelendiğinde;

Referans değere göre (P₈) akrilamid miktarında

5 g/L NaCl içinde 20 dakika bekletmenin (P₉) % 43,70'lik bir azalmaya,

5 g/L NaCl içinde 40 dakika bekletmenin (P₁₀) % 49,36'lık bir azalmaya,

10 g/L NaCl içinde 20 dakika bekletmenin (P₁₁) % 62,69'luk bir azalmaya,

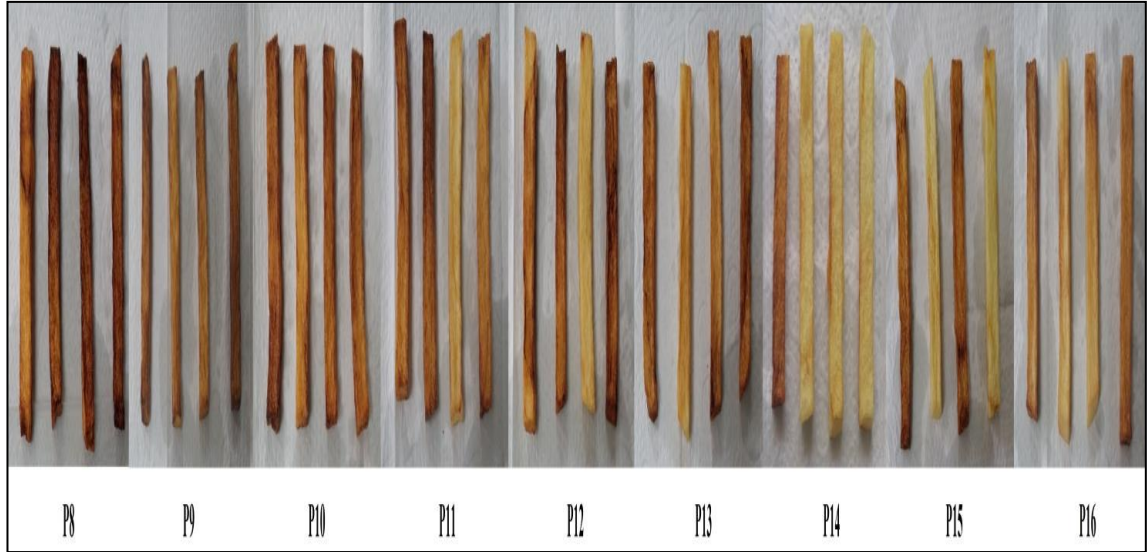
10 g/L NaCl içinde 40 dakika bekletmenin (P₁₂) % 64,18'lik bir azalmaya,

5 g/L NaCl ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletmenin (P₁₃) % 71,65'lik bir azalmaya,

5 g/L NaCl ve 70°C su içinde 7 dakika bekletmenin (P₁₄) % 83,09'luk bir azalmaya,

10 g/L NaCl ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletmenin (P₁₅) % 78,27'lik bir azalmaya,

10 g/L NaCl ve 70°C su içinde 7 dakika bekletmenin (P₁₆) ise % 82,32'lük bir azalmaya neden olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 14. P₉,P₁₀,P₁₁,P₁₂,P₁₃,P₁₄,P₁₅ ve P₁₆'nın referans değeri P₈'ye göre görsel kıyaslaması

İkinci grup çalışması sonunda hem Akrilamid miktarındaki düşüş miktarı (% 83,09) açısından hem de görsel olarak en etkili ön işlemin P₁₄ (5g/L NaCl ve 70°C su içinde 7 dakika bekletme) olduğu görülmektedir.

4.2.3. Üçüncü Grup Çalışması ve Yorumlanması

Çizelge 4. 15. Patates çalışması 3. grup sonuçları

KOD	Akrilamid Sonuç (µg/kg)	Referans Değer Kıyaslaması	% Değişim
P_17	679,58 ± 28,08	100,00	0,00
P_18	633,59 ± 26,18	93,23	-6,77
P_19	486,12 ± 20,08	71,53	-28,47
P_20	337,27 ± 13,93	49,63	-50,37
P_21	297,76 ± 12,30	43,82	-56,18
P_22	434,20 ± 17,94	63,89	-36,11
P_23	358,37 ± 14,81	52,73	-47,27
P_24	125,70 ± 5,19	18,50	-81,50
P_25	476,97 ± 19,71	70,19	-29,81

Çizelge 4.15 incelendiğinde;

Referans değere göre (P₁₇) akrilamid miktarında

5 g/L CaCl₂ içinde 20 dakika bekletmenin (P₁₈) % 6,77'lik bir azalmaya,

5 g/L CaCl₂ içinde 40 dakika bekletmenin (P₁₉) % 28,47'lik bir azalmaya,

10 g/L CaCl₂ içinde 20 dakika bekletmenin (P₂₀) % 50,37'lik bir azalmaya,

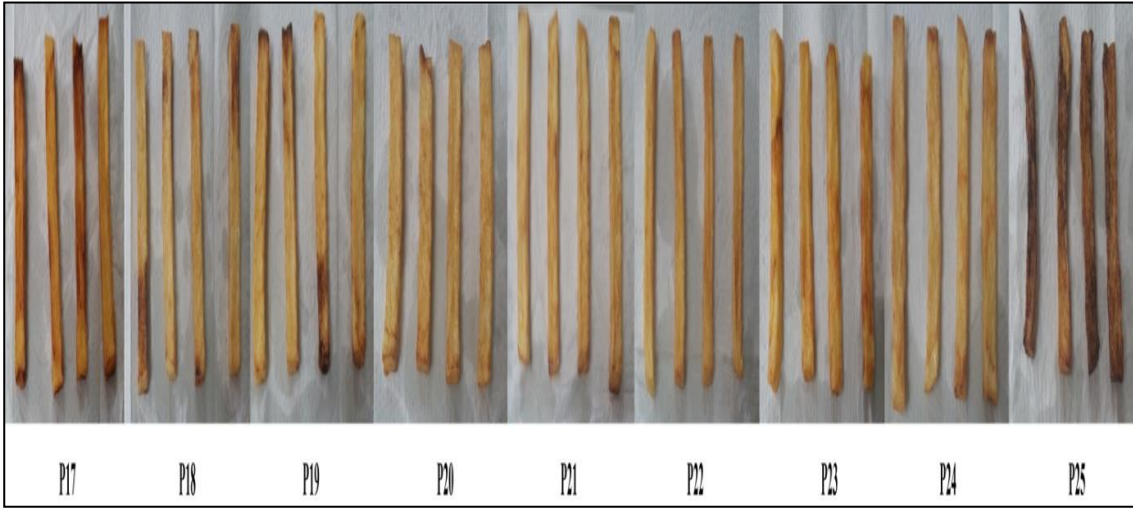
10 g/L CaCl₂ içinde 40 dakika bekletmenin (P₂₁) % 56,18'lik bir azalmaya,

5 g/L CaCl₂ ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletmenin (P₂₂) % 36,11'lik bir azalmaya,

5 g/L CaCl₂ ve 70°C su içinde 7 dakika bekletmenin (P₂₃) % 47,27'lik bir azalmaya,

10 g/L CaCl₂ ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletmenin (P₂₄) % 81,50'lik bir azalmaya,

10 g/L CaCl₂ ve 70°C su içinde 7 dakika bekletmenin (P₂₅) ise % 29,81'lik bir azalmaya neden olduğu görülmektedir.



Şekil 4.15. P₁₈,P₁₉,P₂₀,P₂₁,P₂₂,P₂₃,P₂₄ ve P₂₅'in referans değeri P₁₇'ye göre görsel kıyaslaması

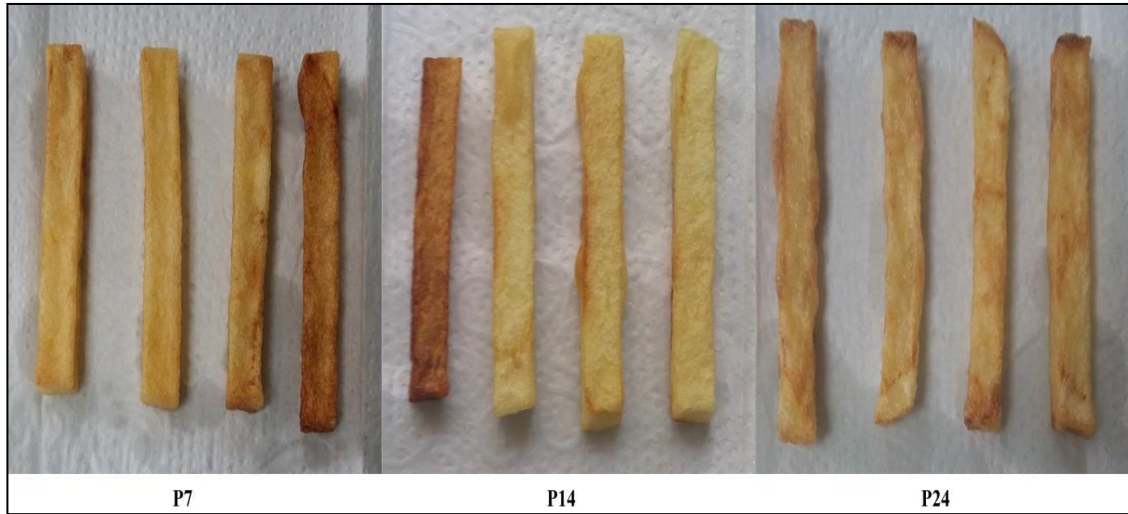
Üçüncü grup çalışması sonunda hem akrilamid miktarındaki düşüş miktarı (% 81,50) açısından hem de görsel olarak en etkili ön işlemin P₂₄ (10g/L CaCl₂ ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletme) olduğu görülmektedir.

4.2.4. Genel Değerlendirme

Çalışma sonuçları göstermiştir ki; parmak patateslere kızartılmadan önce yaptığımız tüm ön işlemler akrilamid miktarında az ya da çok bir azalmaya neden olmuştur.

Tabi bu azalmanın yanında görsel ve tat olarak tatmin de önemlidir. Birkaç çalışma dışında neredeyse tüm çalışmalarımızda en yüksek akrilamid düşüş miktarları görsel olarak ta desteklenmiştir.

Çalışmalarımızda birinci grup içinde akrilamid miktarında % 41,47'lik bir azalmaya neden olan P₇ (70°C su içerisinde 7 dakika bekletme), ikinci grup içinde akrilamid miktarında % 83,09'luk bir azalmaya neden olan P₁₄ (5g/L NaCl ve 70°C su içinde 7 dakika bekletme) ve üçüncü grup içinde akrilamid miktarında % 81,50'lik bir azalmaya neden olan P₂₄ ön işlemlerinin (10g/L CaCl₂ ve 70°C su içinde 3,5 dakika bekletme) akrilamid miktarındaki azalmanın yanında görsel olarak ta en etkili ön işlemler olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4. 16. Üç grup çalışma sonuçlarına göre akrilamid miktarında en yüksek azalmayı gösteren ön işlemlerin (P₇,P₁₄ ve P₂₄) görselleri

Son olarak bu üç işlemi kendi aralarında kıyaslarsak akrilamid miktarında % 83,09'luk bir düşüşe neden olan P₁₄'ün görsel olarak ta en iyi sonuç veren yöntem olduğu görülmektedir.

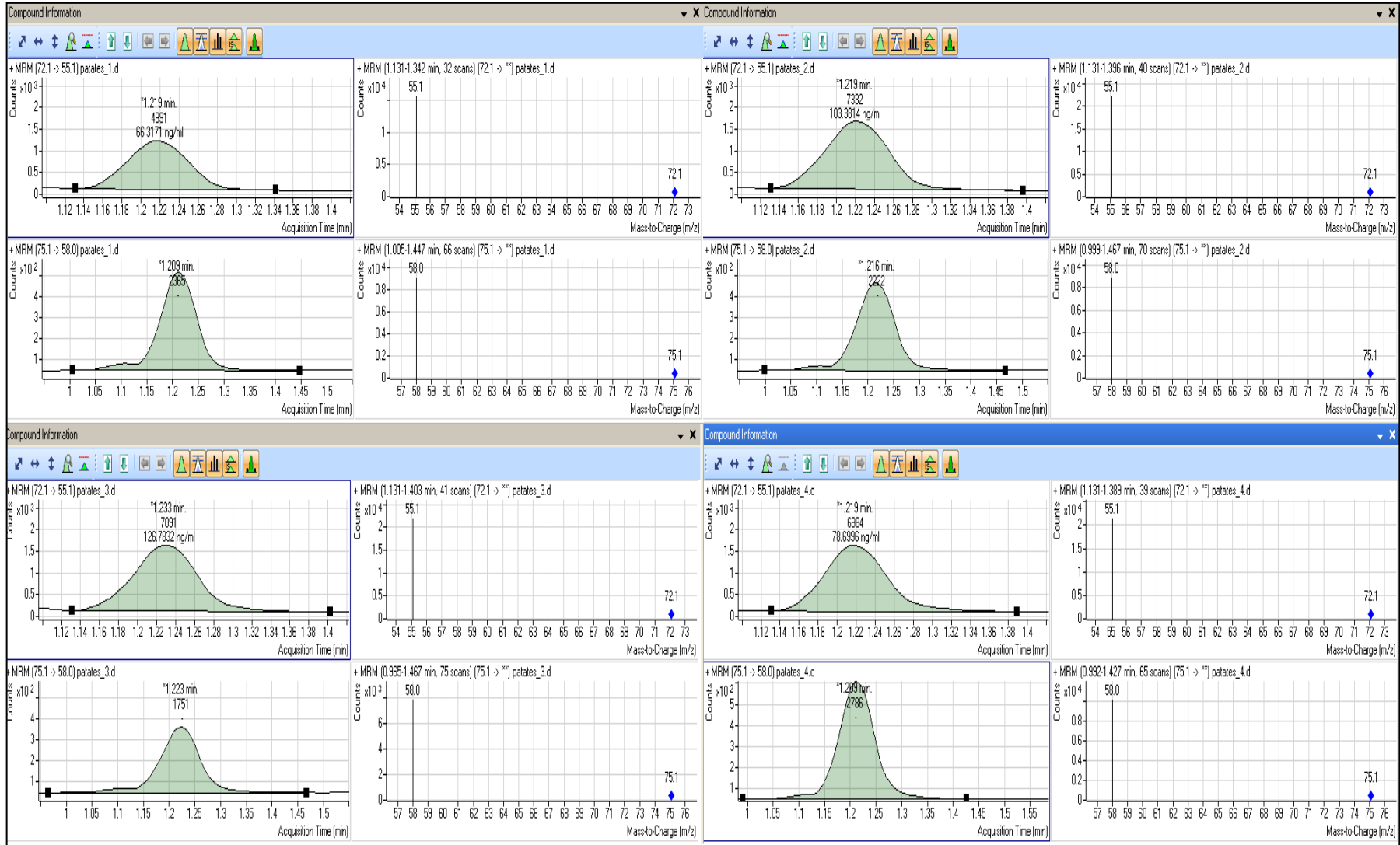
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmayla ön işlem olarak oda sıcaklığında distile suda iki ayrı sürede bekletme, 70°C’de sıcak suda iki ayrı sürede bekletme, iki ayrı cins (+1 ve +2 değerlikli) ve 2 farklı konsantrasyonda tuz içeren oda sıcaklığındaki distile suda iki ayrı sürede bekletme ve iki ayrı cins (+1 ve +2 değerlikli) ve 2 farklı konsantrasyonda tuz içeren 70°C’de sıcak suda iki ayrı sürede bekletme şeklinde 20 parametre değiştirilerek akrilamid miktarının azaltılmasında en etkili yöntem araştırılmıştır. Sonuç olarak akrilamid miktarında azalmaya neden olan en etkili yöntemin **P₁₄** ön işleminin yani **5g/L NaCl ve 70 °C su içinde 7 dakika bekletme** yöntemi olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

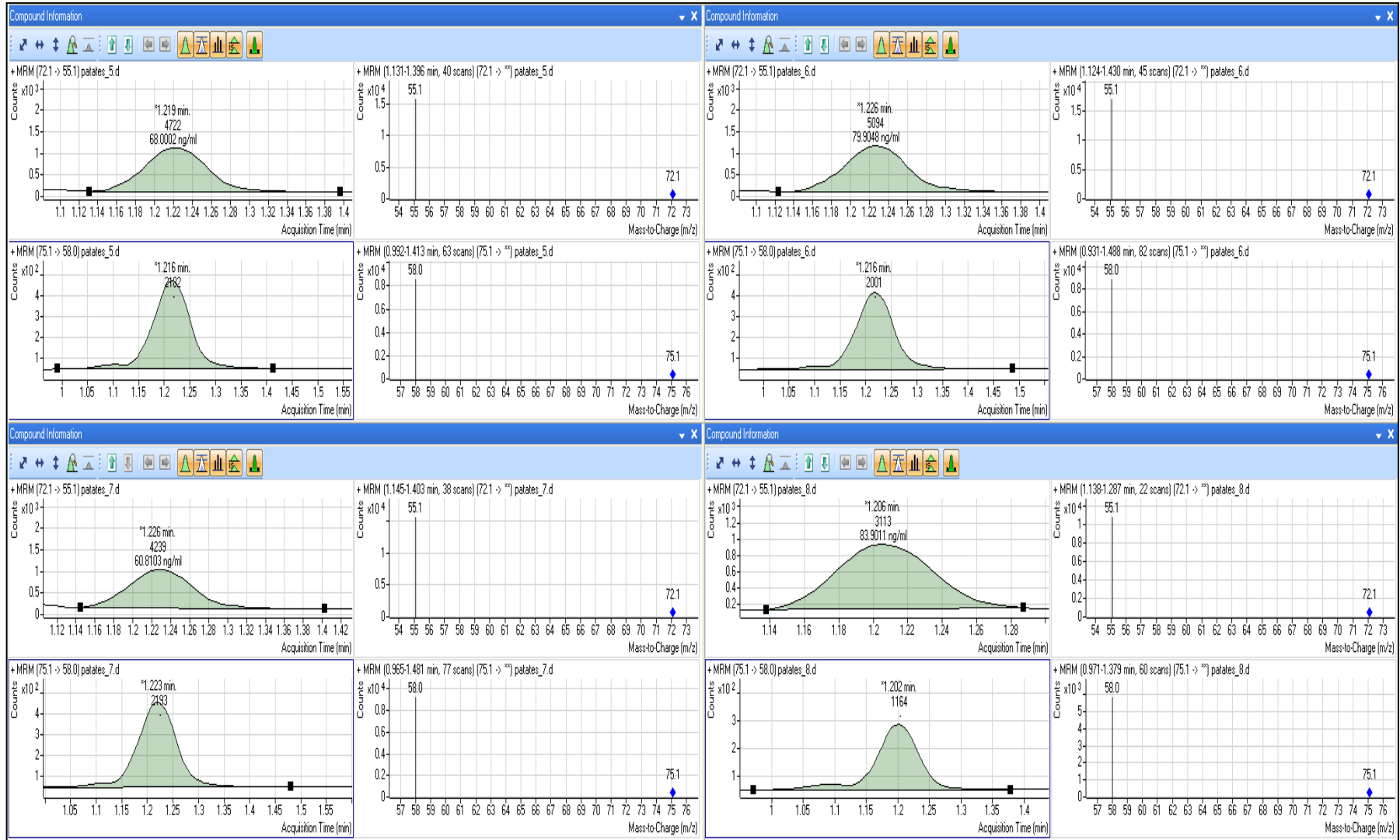
Bunun yanında tuz konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda ayrıca sürede uzun olduğu zaman sıcak suda bekletmenin, muhtemelen patates hücrelerinin su kaybetmesinden ve kabuk/iç arasındaki dengenin bozulmasından ve akrilamidin yüzeye yakın yerlerde oluşmasından dolayı, akrilamid miktarının da artabildiği görülebilmektedir. P₂₄ ve P₂₅ bu duruma örnektir. P₂₄ yani 10g/L CaCl₂ ve 70°C suda 3,5 dakika bekletilmiş örnekte çıkan akrilamid miktarı 125,70 µg/kg iken P₂₅’te yani 10g/L CaCl₂ ve 70°C suda 7 dakika bekletilmiş örnekte daha fazla düşüş beklenirken aksine yukarıda bahsettiğimiz sebepten dolayı 476,97 µg/kg akrilamid tespit edilmiştir. Zaten görsellere de bakıldığında P₂₅ ön işleminin uygulandığı örneğin ne kadar büzüldüğü (su kaybettiği) görülmektedir.

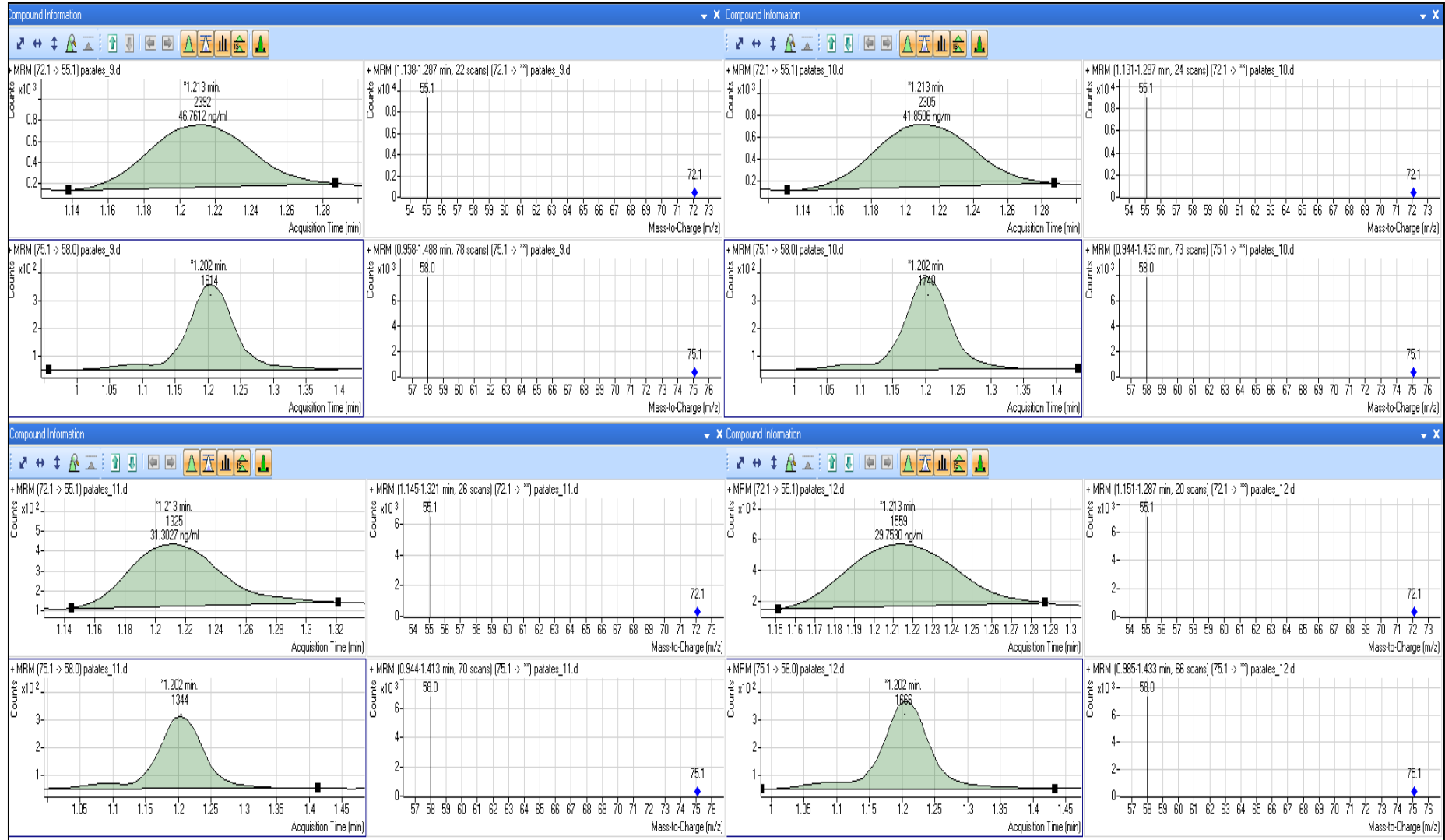


Şekil 4. 17. P₂₄ ve P₂₅'in görsel kıyaslaması

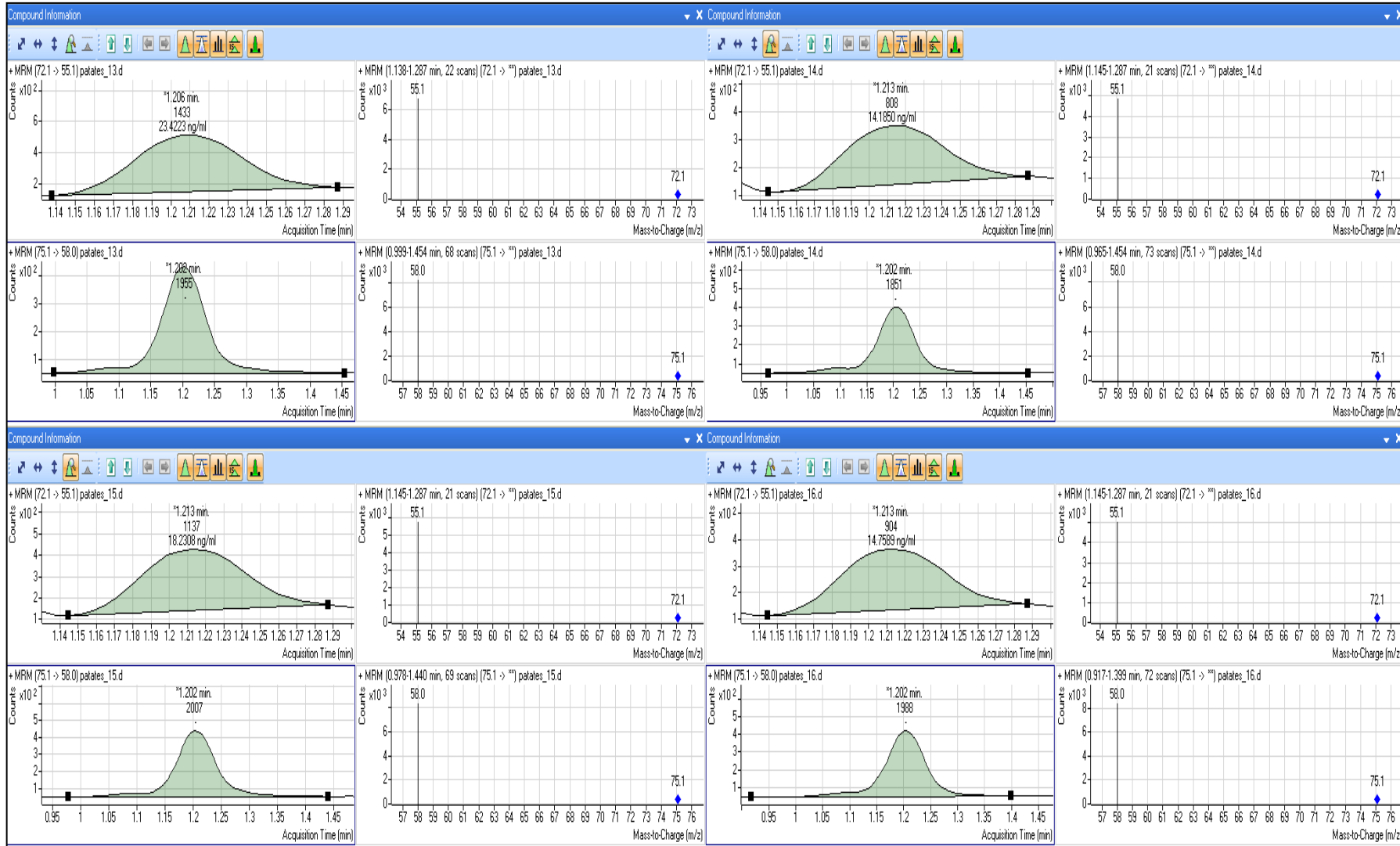


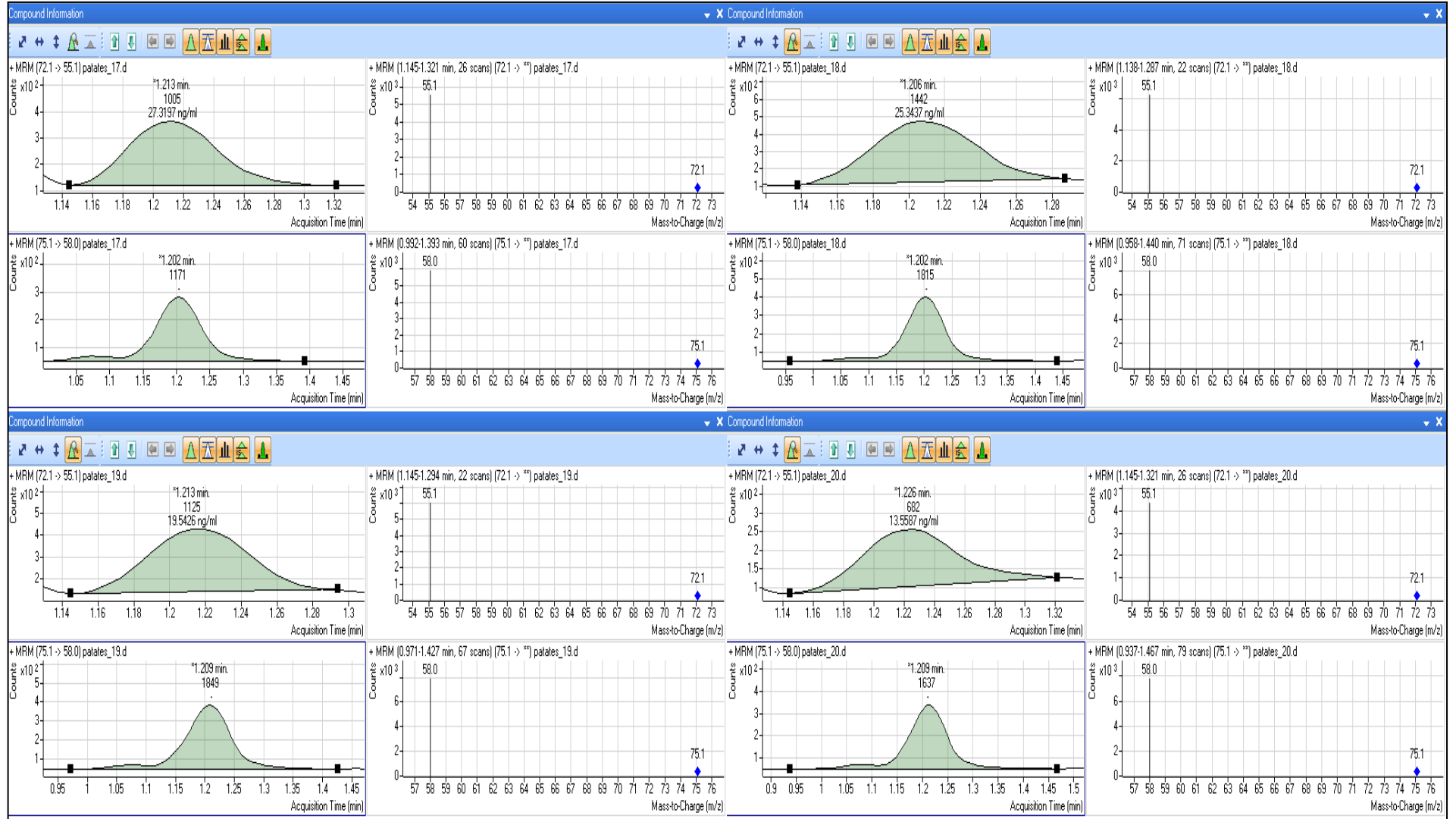
Şekil 4. 18. P₁-P₂-P₃-P₄ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları

Şekil 4. 19. P₅-P₆-P₇-P₈ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları

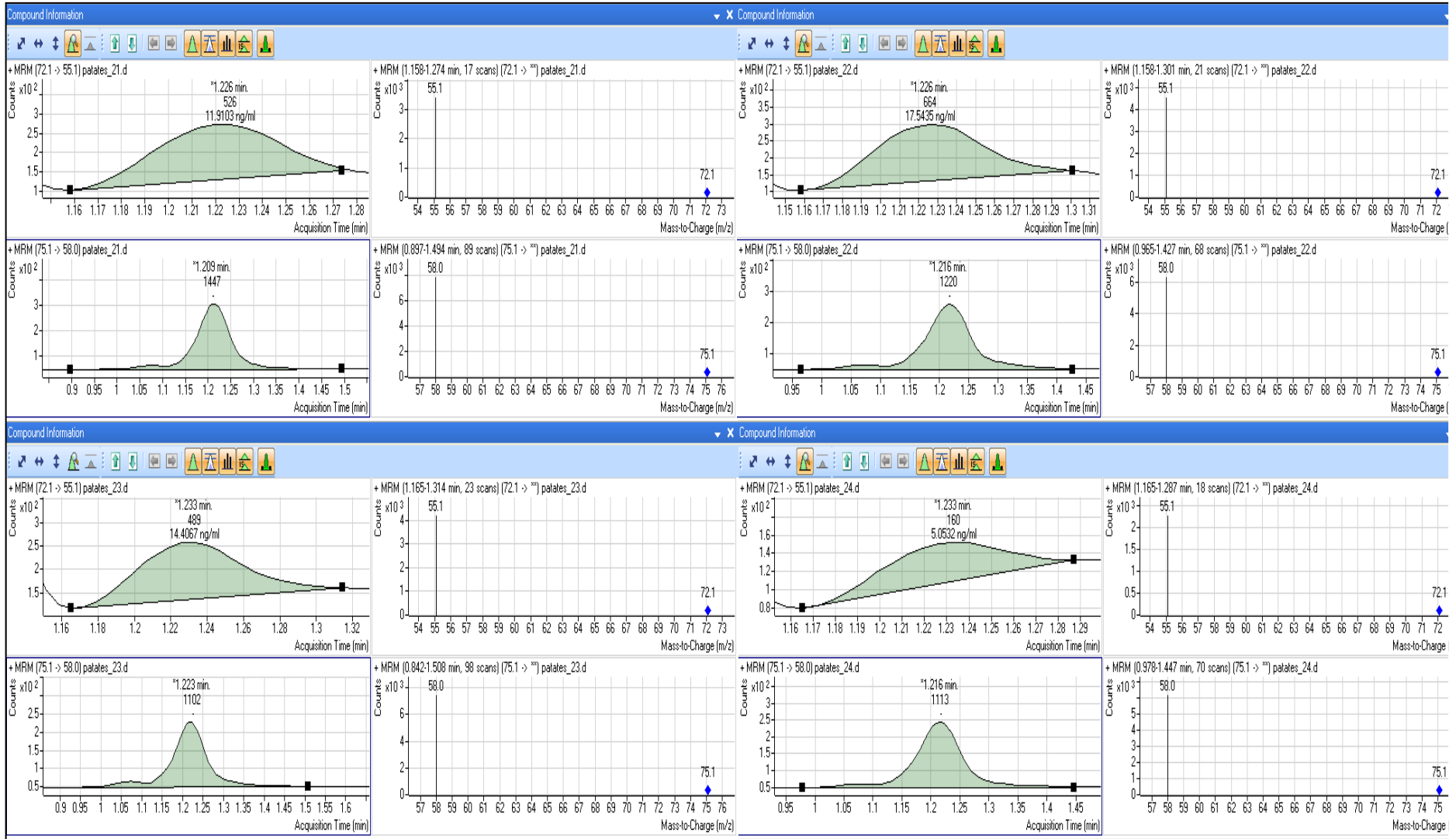


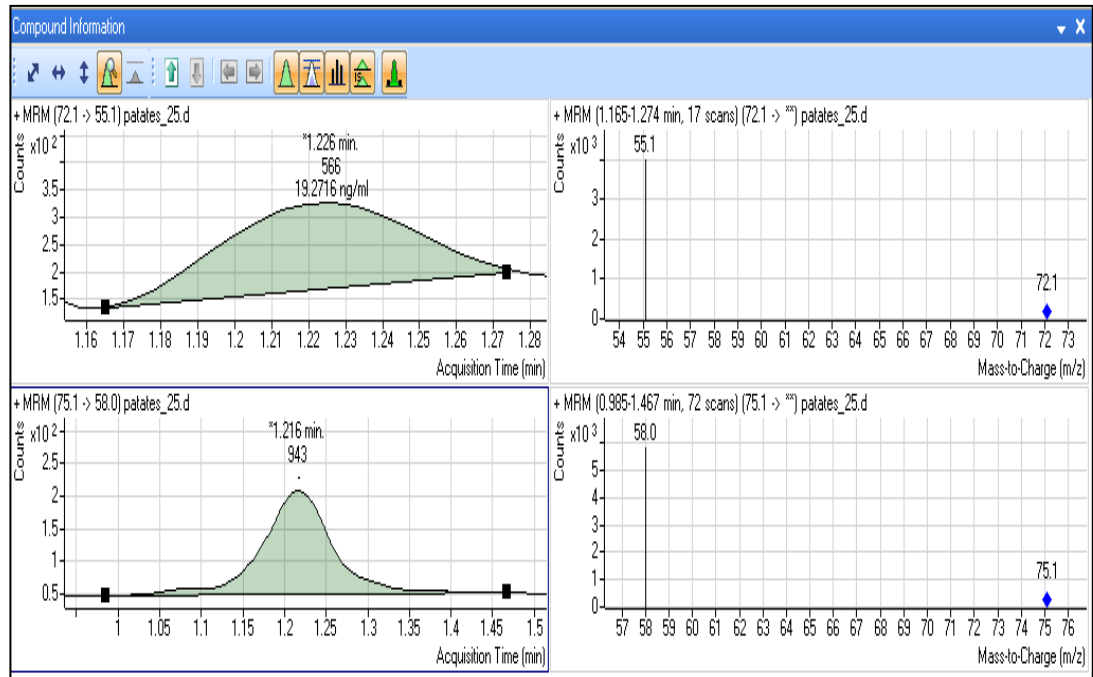
Şekil 4. 20. P₉-P₁₀-P₁₁-P₁₂ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları

Şekil 4. 21. P₁₃-P₁₄-P₁₅-P₁₆ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları



Şekil 4. 22. P₁₇-P₁₈-P₁₉-P₂₀ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları

Şekil 4. 23. P₂₁-P₂₂-P₂₃-P₂₄ kodlu patates örneklerinin kromatogram ve spektrumları



Şekil 4. 24. P₂₅ kodlu patates örneğini kromatogram ve spektrumu

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması için çeşitli analiz metodları incelenip modifiye edilerek yeni bir analiz metodu oluşturulmuştur. Metodun LOD (Teşhis limiti) ve LOQ (Tespit limiti) değerleri sırasıyla 3,50 µg/kg, 11,67 µg/kg olarak bulunmuştur. Metodun geri kazanım değeri için fapas T3037QC nolu kalite kontrol materyali temin edilerek analiz edilmiş ve geri kazanım oranı % 101,79 bulunmuştur. Ayrıca geri kazanım değeri standart ekleme metodu ile de % 97,90 bulunmuştur. Metodun rölatif ölçüm belirsizliği % 4,13 olarak bulunmuştur.

Çalışmanın 1. bölümünde Diyarbakır piyasasında satışa sunulan ve akrilamid oluşma potansiyeli yüksek olan Diyarbakır Kadayıfı da dâhil toplam 11 çeşit ürün (bisküvi, bebe bisküvisi, çubuk kraker, hazır kek, türk kahvesi, patates cipsi, simit, ekmek, kavrulmuş badem, kavrulmuş fındık, kavrulmuş yer fıstığı, sarı leblebi, sade leblebi, kabak çekirdeği ve kaju) temin edilerek analiz edilmiştir. Bu analiz sonuçları Avrupa ve Türkiye’de henüz gıdalarda akrilamid için limit değerler belirlenmediği için Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)’nın 2011 yılında yayımladığı ‘**Gösterge Değerler**’ listesine göre değerlendirilmiştir.

Çalışmanın 2. kısmında ise günlük hayatta çok tüketilen ve içeriğindeki indirgen şeker ve asparajin miktarı ve genelde yüksek ısıda kızartıldığı için akrilamid oluşma potansiyeli yüksek bir ürün olan patatese pişirilmeden önce çeşitli ön işlemler uygulayarak akrilamid miktarındaki azalma araştırılmıştır. Parmak patateslere 20 ayrı ön işlem uygulanmış ve bu işlemlerin akrilamid miktarını azaltma verimleri ölçülmüştür.

Ayrıca tüm koşullar sabit tutularak 3 ayrı sıcaklıkta (170, 180 ve 190°C) patatesler kızartılarak, sıcaklık artışının akrilamid miktarı üzerindeki etkisi incelenmiştir.

SONUÇ OLARAK;

- Piyasadan toplanan 11 farklı çeşitteki ürünlerin akrilamid sonuçlarının bir kısmının ‘**Gösterge Değerler**’ listesindeki değerlerin üzerine çıktığı, bir kısmının bu değerlerin altında kaldığı, diğer bir kısmının ise ilgili listede tam karşılığı olmadığı,
- En yüksek akrilamid miktarının (1080,80 µg/kg) Cips₂ kodlu üründe, en düşük akrilamid miktarının (8,50 µg/kg < LOQ) ise Fın₂ kodlu üründe olduğu,
- Patates çalışmalarında, Çizelge 4.13 incelendiğinde sıcaklık arttıkça akrilamid miktarının arttığı (P_{170°C} < P_{180°C} < P_{190°C}),
- Çizelge 4.14 incelendiğinde parmak patateslerde en etkili ön işlemin akrilamid miktarında % 83,09’luk bir azalma gerçekleştiren P₁₄ kodlu ön işlemin (**5g/L NaCl ve 70 °C su içinde 7 dakika bekletme**) olduğu tespit edilmiştir.

ÖNERİLER;

- Bu ve benzer çalışmalardan elde edilen veriler ileride Akrilamid için ‘**Maksimum Kalıntı Limitleri**’ listesinin oluşabilmesine katkı sağlamak için daha fazla örnek ve matrisle tekrarlanmalıdır.
- Gıdalardaki akrilamidi minimum seviyelere çekmek için uygulanabilirliği yüksek ön işlemler için yeni çalışmalar yapılmalıdır.
- Patates mümkünse haşlanarak tüketilmelidir
- Eğer kızartılacaksa kızartılmadan önce ev tuzu (NaCl) ilave edilmiş sıcak suda 5-10 dakika bekletildikten sonra kızartılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

Açar, Ö.,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.

Açar, Ö.Ç. 2010. Bisküvi benzeri ürünlerde pişirme sırasında termal proses kontaminantlarının oluşumunun incelenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara,18.

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.

Ahn, J. S., Castle, L., Clarke, D. B., Lloyd, A. S., Philo, M. R., Speck, D. R. 2002. Verification of findings of acrylamide in heated foods. *Food Additives and Contaminants*, 19:1116-1124.

Aktaş, K.R. 2008. Peksimet Ekmeklerinde HPLC-MS Yöntemiyle Akrilamid Tayini. Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2.

Alpözen, E. 2012. İzmir Gevreğinde Akrilamid Düzeylerinin Belirlenmesi ve Pişirme Koşullarının Akrilamid Oluşumu Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir,18.

Alpözen, E., Üren, A. 2014. Akrilamid Ekstraksiyonunda Kullanılan SPE Kartuşların Özellikleri, *Analiz* 35, 21:42-46.

American Cancer Society, 2014.What is acrylamide?

<http://www.cancer.org/cancer/cancercauses/othercarcinogens/athome/acrylamide>, 28.04.2014.

Amrein, T. M., Andres, L., Escher, F., Amado, R. 2007. Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options.*Food Additives and Contaminants*, 24:13-25.

Amrein, T. M., Andres, L., Schönbachler, B., Conde-Petit, B., Escher, F., Amado, R. 2005. Acrylamide in almond products. *European Food Research and Technology*, 221:14-18.

Amrein, T. M., Schönbachler, B., Escher, F., Amado, R. 2004. Acrylamide in gingerbread: Critical factors for formation and possible ways for reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:4282-4288.

Anonymous, 2003a. Acrylamide, U.S. Environmental Protection Agency, <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/acrylami.html>,12.02.2003.

Anonymous, 2003b. Dedection and Quantitation of Acrylamide in Foods/U.S. Department of Health and Human Services (U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition Office of Plant and Dairy Foods and Beverages, www.cfsan.fda.gov, 24.02.2003.

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

Anonymous, 2004a. FDA Action Plan for Acrylamide in Food

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

Baardseth, P., Blom, H., Skrede, G., Mydland, L. T., Skrede, S., Slindel, E. 2006a. Acetic acid fermentation reduces acrylamide formation and other maillard reactions in French Fries. *Journal of Food Science*, 71(1):28-33.

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.

Becalski, A., Lau, B. P. Y., Lewis, D., Seaman, S. W. 2003. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:802-808.

Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. 2009. *Food Chemistry* (4th ed.): Springer.

Bergmark, E., Calleman, C. J., He, F. S., Costa, L.G. 1993. Determination of Hemoglobin Adducts in Humans Occupationally Exposed to Acrylamide. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 120(1):45-54.

Biedermann, M., Biedermann-Brem, S., Noti, A., Grob, K.. 2002. Methods for determining the potetional formation and its elemination in raw materials for food preparation, such as potatoes. *Mitteilungen aus Lebensmittel untersuchung und Hygiene*, 93:653-667.

Biedermann, M., Noti, A.,Biedermann-Brem, S., Mozzetti, V., Grob, K.. 2002a. Experiments on acrylamide formation and possibilities to decrease the potential of acrylamide formation in potatoes. *Mitteilungen aus Lebensmittel untersuchung und Hygiene*, 93:668-687.

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.

Brathen, E., Kita, A., Knutsen, S. H., 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.

- Calleman, C. J. 1996. The metabolism and pharmacokinetics of acrylamide: Implications for mechanisms of toxicity and human risk estimation. *Drug Metabolism Reviews*, 28(4):527-590.
- Calleman, C. J., Bergmark, E., Costa, L. G. 1990. Acrylamide is metabolized to glycidamide in the rat-evidence from hemoglobin adduct formation. *Chemical Research in Toxicology*, 3(5): 406-412.
- Calleman, C. J., Bergmark, E., Stern, L. G., Costa, I. G. A. 1993. Nonlinear dosimetric model for hemoglobin adduct formation by the neurotoxic agent acrylamide and its genotoxic metabolite glycidamide. *Environmental Health Perspectives*, 99:221-223.
- Capuano, E., 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.
- Capuano, E., Oliviero, T., Acar, Ö. C., Gökmen, V., Fogliano, V. 2010. Lipid oxidation promotes acrylamide formation in fat-rich model systems. *Food Research International*, 43:1021-1026.
- 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., 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., Hu, X. 2008. Survey of acrylamide levels in Chinese foods. *Food Additives and Contaminants*, 1(2):85-92.
- Ciesarova, Z., Kiss, E., 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., 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., 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., Hendrickx, M. E., 2005c, Effect of amino acids on acrylamide formation and elimination kinetics, *Biotechnology Progress*, 21:1525-1530.
- Claus, A., Carle, R., 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.

Costa, L. G., Deng, H., Gregotti, C., Manzo, L., Faustman, E. M., Bergmark, E., Calleman, C. J. 1992. Comparative-Studies on the Neuroproductive and Reproductive Toxicity of Acrylamide and Its Epoxide Metabolite Glycidamide in the Rat. *Neurotoxicology*, 13(1):219-224.

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., 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.

De Vleeschouwer, K., Plancken, I. V., Loey, A.V., 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.

Doğan, İ.S., Meral, R. 2006. Gıdalarda akrilamid ve önemi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu. S,629-632.

Dybing, E., Sanner, T. 2003. Risk assesment of acrylamide in foods. *Toxicological Sciences*, 75:7-15.

EC SCF 2002. Opinion of the Scientific Committee on food on new findings regarding the presence of acrylamide in food, European Commission Scientific Committee on Food. http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/summary_report_64_final.pdf , 2002.

Eerola, S., Hollebekkers, K., Hallikainen, A., Peltonen, K. 2007. Acrylamide levels in Finnish foodstuffs analysed with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51:239-247.

Ehling, S., Hengel, M., Shibamoto, K., 2005. Formation of acrylamide from lipids. *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*. Friedman, M. Mottram D.S. (eds.), New York, Springer, pp.223-233.

Elmore, J. S., Koutsidis, G., Dodsan, A. T., Mottram, D. S., 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.

Enstrümantal Analiz, Kütle Spektrometre Uygulamaları, 2014.
http://www.bayar.edu.tr/besergil/kutle_1.pdf, 04.05.2014

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, 83.

Esat, Ali. 2014. Gıda Katkı Maddeleri ve Kontaminantları.
<http://www.turktox.org.tr/gida/index.php?p=limitdegerler>, 26.04.2014.

European Commission Recommendation, 2014. On investigations into the levels of acrylamide in food.
(http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/recommendation_10012011_acrylamide_food_en.pdf, 12.05.2014)

Fiselier, K., Bazzocco, D., Gama-Baumgartner, F., Grob, K., 2006. Influence of the frying temperature on acrylamide formation in French fries. *European Food Research and Technology*, 222:414-419.

Food standard agency, 2014. Acrylamide.
(http://www.food.gov.uk/science/acrylamide/#.U3D9VIF_sud, 12.05.2014)

Foot, R. J., Haase, N. U., Grob, K., Gonde, P. 2007. Acrylamide in fried and roasted potato products: A review on progress in mitigation. *Food Additives and Contaminants*, 24:37-46.

Friedman, M., 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.

Friedman, M., 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.

Gaz Kromatografisi, 2014. <http://www.msxllabs.org/forum/kimya/218979-gaz-kromatografisi.html#ixzz30UUpOzGi>, 01.05.2014

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., 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., 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.

- Gianni, S., Armando, F., Gabriella, M., Massimo, R., Sauro, V., Sergio, A. 2007. HPLC–MS validation of Qualisa Food biosensor kit for cost-effective control of acrylamide levels in Italian coffee. *Food Control*, 18:1267-1271.
- Göbel, A., Kliemant, A. 2007. The German minimization concept for acrylamide. *Food Additives and Contaminants*, 24:82-90.
- Gökmen, V., Palazoğlu, T.K., Şenyuva, H.Z. 2006. Relation between the acrylamide formation and time-temperature history of surface and core regions of French fries. *Journal of Food Engineering* 77:972–976.
- Gökmen, V., Şenyuva, H. Z., Dülek, B., 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., Açar, Ö. Ç., Köksel, H., Acar, J. 2007. Effect of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies, *Food Chemistry*, 104:1136-1142.
- Gökmen, V., Palazoğlu, T. K. 2008. Acrylamide formation in foods during thermal processing with a focus on frying. *Food Bioprocess Technology*, 1:35-42.
- Graf, M., Amrein, T. M., Graf, S., Szalay, R., Escher, F., 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., Fagt, S. 2004. Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee. *Analytica Chimica Acta*, 520:177-182.
- Granda, E. C. 2005. Kinetics of Acrylamide Formation in Potato Chips. Master Thesis, Texas A&M University, Biological and Agricultural Engineering, ABD 171.
- Granvogl, M., Jezussek, M., Koehler, P., Schieberle, P. 2004. Quantitation of 3-aminopropionamide in potatoes: A minor but potent precursor in acrylamide formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4751-4757.
- Granvogl, M., Schieberle, P. 2006. Thermally generated 3-aminopropionamide as a transient intermediate in the formation of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:5933-5938.
- Grivas, S., Jagerstad, M., Lingnert, H., Skog, K., Törnqvist, M., Aman, P. 2002. Acrylamide in food - mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. Report from Swedish Scientific Expert Committee, 22.
- Guenther, H., Anklam, E., Wenzl, T., Stadler, R. H. 2007. Acrylamide in coffee: Review of progress in analysis, formation and level reduction. *Food Additives and Contaminants*, 24:60-70.

Gutsche, B., Weisshaar, R., Buhlert, J. 2002. Acrylamid in Lebensmitteln-Ergebnisse aus der amtlichen Lebensmittelüberwachung Baden-Württembergs, Deutsche Lebensmittel Rundschau, 98: 437-443.

Haase, N.U., Matthaeus, B., Vosmann, K. 2003. Acrylamide formation in foodstuffs- Minimizing strategies for potato crisps. Deutsche Lebensmittel Rundschau, 99: 87-90.

Halford, N. G., Curtis, T. Y., Muttucumaru, N., Postles, J., Mottram, D.S. 2011. Sugars in crop plants. Annals of Applied Biology, 158:1-25.

Hamlet, C.G., Sadd, P.A., 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.

He, F. S., Zhang, S.L., Wang, H. L., Li, G., Zhang, Z. M., Li, F. L., Dong, X. M., Hu, F. 1989. Neurological and electroneuromyographic assesment of the adverse effects of acrylamide on occupational exposed 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. Effect of prooxidants and antioxidants. European Food Research and Technology, 227:519-525.

Hodge, J.E. 1953. Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model Systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1:928-943.

Honicke, K., Gatermann, R., Harder, W., Hartig, L. 2004. Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 520: 207-215.
<http://www.cfsan.fda.gov/~Ird/pestadd.html#acrylamide>, March 2004.

http://www.bayar.edu.tr/besergil/kutle_1.pdf, 05.05.2014

<http://gidaarge.akdeniz.edu.tr/cihazlar.i32.yuksekk-performansli-sivi-kromatografisi-hplc->, 02.05.2014

IARC, 1994. Acrylamide in some industrial/chemicals; IARC monographs on the evaluation of careinogenic risks to humans. International Agency for research on cancer: Lyon, France, 60:389-433.

Infrared Spectroscopy and Mass Spectrometry, 2014.

http://wps.prenhall.com/wps/media/objects/340/348272/Instructor_Resources/Chapter_12/Wade12.ppt,03.05.2014.

JECFA 2005. Summary and Conclusions of Sixty-fourth meeting, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Rome, pp.7-17.

Jiao, J., Zhang, Y., Ren, Y., Wu, X., 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.

Jousse, F., Jongen, T., Agterof, W., Russell, S., Braat, P. 2002. Simplified kinetic scheme of flavor formation by the Maillard reaction. *Journal of Food Science*, 67(7):2534-2542.

Jung, M., Choi, D., 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.

Kaplan, O., Kaya, G., Özcan, C., İnce, M., Yaman, M. 2009. Acrylamide concentration in grilled foodstuffs of Turkish kitchen by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Microchemical journal*, 93:173-179.

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.

Kim, C. T., Hwang E., Lee, H. J. 2005. Reducing Acrylamide in Fried Snack Products by Adding Amino Acids. *Food Chemistry and Toxicology*, 70:354-358

Kim, C. T., Hwang, E. S., Lee, H. J. 2007. An improved LC/MSMS method for the quantitation of acrylamide in processed foods. *Food Chemistry*, 101:401-409.

Kita, A., Brathen, E., Knutsen, S.H., Wicklund, T. 2004. Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:7011-7016.

Knol, J. J., Viklund, G.A.I., Linssen, J. P. H., Sjöholm, I. M., Skog, K. I., Boekel, M. A. J. S. 2009. Kinetic modelling: A tool to predict the formation of acrylamide in potato crisps. *Food Chemistry*, 113:103-109.

Knutsen, S. H., Dimitrijevic, S., Molteberg, E. L., Segtnan, V. H., Kaaber, L., 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.

Kocadağlı, T. 2011. Farklı pişirme uygulamaları ile fırıncılık ürünlerinde akrilamid oluşumunun sınırlandırılması. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3.

Kromatografik Yöntemler ve HPLC Yöntemi, 2014.

http://emr-chromatography.com/Kromatografik_Yontemler.html, 01.05.2014.

Lee, K.G., Shibamoto, T. 2002. Toxicology and antioxidant activities of non-enzymatic browning reaction products: Review. *Food Reviews International*, 18:151-175.

Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Slog, K., Törnqvist, M., Aman, P. 2002. Acrylamide in food mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46:159-172.

Mestdagh, F., De Wilde, T., Delporte, K., Peteghem, C. V., De Meulenaer, B. 2008a. Impact of chemical pre-treatments on the acrylamide formation and sensorial quality of potato crisps. *Food Chemistry*, 106:914-922.

Mestdagh, F., De Wilde, T., Fraselle, S., Govaert, Y., Ooghe, W., Degroot, J. M., Verhe, R., Peteghem, C. V., Meulenaer, B. D. 2008d. Optimization of the blanching process to reduce acrylamide in fried potatoes. *LWT - Food Science and Technology*, 41:1648-654

Mestdagh, F., Lachat, C., Baert, K., Moons, E., Kolsteren, P., Peteghem, C. V., De Meulenaer, B. 2007b. Importance of a canteen lunch on the dietary intake of acrylamide. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51:509-516.

Mestdagh, F., Maertens, J., Cucu, T., Delporte, K., Van Peteghem, C., De Meulenaer, B. 2008c. 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., Meulenaer, B. D., Peteghem, C. V. 2007a. Influence of oil degradation on the amounts of acrylamide generated in a model system and in French fries. *Food Chemistry*, 100 (3):1153-1159

Mills, C., Mottram, D.S., Wedzicha, B.L. 2009. Acrylamide, In: Stadler R.H., Lineback, D.R., editor. *Process Induced Food Toxicants*, 23-50

Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., Dodson, A.T. 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419(6906):448-449.

Mottram, D.S., Low, M.Y., Elmore, J.S. 2006. The Maillard reaction and its role in the formation of acrylamide and other potentially hazardous compounds in foods. Skog, K., Alexander, J. (eds), *Acrylamide and other hazardous compounds in heat-treated foods*, Cambridge, 328-353.

Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., Dodson, A.T. 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419:448-449.

Motwani, H. V., Törnqvist M. 2011. Quantitative analysis by liquid chromatography–tandem mass spectrometry of glycidamide using the cob(I)alamin trapping method: Validation and application to in vitro metabolism of acrylamide. *Journal of Chromatography A*, 1218:4389-4394.

Mucci, L., Dickman, P., Steineck, G., Adami, H., Augustsson, K. 2003. Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney and bladder: Absence of an association in a population-based study in Sweden. *British Journal of Cancer*, 88:84-89.

Negishi, C., Wakabayashi, M., Tsuda, M., Sato, S., Sigimura, T., Saito, H., Maeda, M., Jagerstad, M. 1984. Formation of 2-amino-3,7,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline, A new mutagen, by heating creatinine, glucose and glycine. *Mutation Research Letters*, 140:55-59.

Olsson, K., Svensson, R., 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., Kov-bayashi, H., Yooshida, M. 2003. Analysis of acrylamide by LC/MSMS 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., 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., 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., Demirel, S. 2008. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21:564-568.

Özkaynak, E., Ova, G., 2006. Akrilamid-Gıdalarda oluşan önemli bir kontaminant. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.

Palazoğlu, T. K., 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.

Park, Y.W., Yang, H.W., Storkson, J.M., Albright, K.J., Liu, W., Lindsay, R.C. 2005. Controlling acrylamide in french fry and potato chips models and a mathematical model of acrylamide formation-Acrylamide: Acidulants, phytate and calcium. In M. Friedman & D. Mottram (Eds.), *Chemistry and safety of acrylamide in food*, 561:343-356.

Paulsson, B., Granath, F., Grawe, J., Ehrenberg, L., Tornqvist, M. 2001. The multiplicative model for cancer risk assessment: applicability to acrylamide. *Carcinogenesis*, 22(5):817-819.

Pedreschi, F., Bustos, O., Mery, D., Moyano, P., Kaack, K., Granby, K. 2007b. Colour kinetics and acrylamide formation in NaCl soaked potato chips. *Journal of Food Engineering*, 79:989-997.

- Pedreschi, F., Kaack, K., Granby, K. 2004. Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 37:679-685.
- Pedreschi, F., Kaack, K., Granby, K. 2006. Acrylamide content and color development in fried potato strips. *Food Research International*, 39:40-46.
- Pedreschi, F., Moyano, P. 2005. Oil Uptake and Texture Development in Fried Potato Slices. *Journal of Food Engineering*, 70: 557-563
- Pedreschi, F., Segtnan, V. H., 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., Segtnan, V. H., 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.
- Pelucci, C., Francheschi, S., Levi, F., Tricholopoulos, D., Bosetti, C. 2003. Fried potatoes and human cancer. *International Journal of Cancer*, 105:558-560.
- Pittet, A., Perisset, A., Oberson, J. 2004. Trace level determination of acrylamide cereal-based foods by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1035:123-130.
- Quan, Y., Chen, M., Zhan, Y., 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.
- Robert, F., Vuataz, G., Pollien, P., Saucy, F., Alonso, M. I., Bauwens, I., Blank, I. 2004. Acrylamide formation from asparagine under low-moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22):6837-6842.
- Rommens, C. M., Yan, H., Swords, K., Richael, C., Ye, J. 2008. Low-acrylamide French fries and potato chips, *Plant Biotechnology Journal*, 6:843-853.
- Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L., 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., Liang, L. 2008. Effectiveness of methods for reducing acrylamide in bakery products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6154-6161.
- Sakamoto, J., Hashimoto, K. 1986. Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice-effects on fertility and sperm morphology. *Archives of Toxicology*, 59:201-205.

Schieberle, P., Koehler, P., Granvogl, M. 2005. New aspects on the formation and analysis of acrylamide. *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, Friedman, M. Mottram D.S. (eds.), New York, Springer, pp.205-222.

Serpen, A., 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.

Shelby, M. D., Cain, K. T., Cornett, C.V., Generoso, W. M. 1987. Acrylamide: Induction of heritable translocations in mal emice. *Environmental Mutagen*, 9:363-368.

Shin, D., Kim, C., Lee, Y., Choi, W., Na, Y., Lee, K. 2010. Reduction of acrylamide by taurine in aqueous and potato chip model systems. *Food Research International*, 43:1356-1360.

Sohn, M., Ho, C.T. 1995. Ammonia generation during thermal degradation of aminoacids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43:3001-3003

Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A., Robert, M. C., Riediker, S. 2002. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419(6906):449-450.

Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A., Robert, M. C., Riediker, S. 2002. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419(6906):449-450.

Stadler, R. H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., Goldmann, T., Hau, J., Blank, I. 2004. In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17): 5550-5558.

Stadler, R.; Scholz, G. 2004. Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation and potential strategies of control. *Nutrition Reviews*, 62(12): 449-467.

Studler, A., Blank, I., Stadler, H. 2004. Thermal processing contaminants in foodstuffs and potential strategies of control. *Czech Journal of Food Sciences*, 22:1-10.

Surdyk, N., Rosen, J., Andersson, R., 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.

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., Thompson, S., Silvani, D., Whitmore, 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.

- Tardiff, R. G., Gargas, M. L., Kirman, C. R., Carson, M. L., Sweeney, L. M. 2010. Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. *Food and Chemical Toxicology*, 48:658-667.
- Tareke, E., Lyn-cook, B., Robinson, B., Ali, S. F. 2008. Acrylamide: A Dietary Carcinogen Formed in Vivo? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6020-6023.
- Tareke, E., Ryderbg, P., Eriksson, S., Törnqvist, M. 2000. Acrylamide: A cooking carcinogen? *Chemical Research in Toxicology*, 13:517-522.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson S., Törnqvist, M. 2002. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:4998-5006.
- Tateo, F., Bononi, M., 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.
- Taubert, D., Harlfinger, S., Henkes, L., Berkels, R., Schömig, E. 2004. Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:2735-2739.
- Torres, M. D. A., Parreno, W. C. 2009. Thermal processing and quality optimization. In J. Singh & L. Kaur (Eds.). *Advances in potato chemistry and technology* (First edition ed., pp. 163–219). Elsevier.
- Tritscher, A., 2004. Human health risk assesment of processing-related compounds in food. *Toxicology Letters*, 149:177-186.
- Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J., 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.
- Tuncel, N. B., Yılmaz, N., 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.
- Vass M., Amrein T. M., Schönbachler B., Esher F., Amadom R. 2004. Ways to reduce the acrylamide formation in cracker products. *Czech Journal of Food Science*, 22:19-21.
- Vattem, D.A., Shetty, K. 2003. Acrylamide in food: a model for mechanism and its reduction. *Innovations Food Science and Emerging Technology*, 4:33-338.
- Vicklund, T., Ostliea, H., Lothe, O., Knutsen, S. H., Brathen, E., Kita, A. 2006. Acrylamide in potato crisp-the effect of raw material and processing, *LWT - Food Science and Technology*, 39:571-575.

- Viklund, G., Olsson, K. M., Sjöholm, I. M., 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.
- Wakaizumi, M., Yamamoto, H., Fujimoto, N., Ozeki, K. 2009. Acrylamide degradation by filamentous fungi used in food and beverage industries. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108(5):391-393.
- Wang, H., Lee, W.M. Shuang, S. 2008. SPE/HPLC/UV studies on acrylamide in deep-fried flour-based indigenous Chinese foods. *Microchemical Journal*, 643:1254-1261
- Wenzl, T., Beatriz, M., Anklam, E. 2003. Overview on Analytical Methods for the Determination of Acrylamide in Food Products. European Commission Joint Research Centre Institute of Reference Materials and Measurements Food Safety Unit, Belçika, 18-45
- Wenzl, T., Beatriz de la Calle, M., Anklam, E. 2003. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products; a review. *Food Additives and Contaminants*, 20(10):885-902.
- Wenzl, T., De la Calle, B., Gatermann, R., Hoenicke, K., Ulberth, F., 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., 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., Gökmen, V. 2007. Analysis of heat-induced contaminants (acrylamide, chloropropanols and furan) in carbohydrate-rich food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389:119-137.
- Williams, J.S.E. 2005. Influence of Variety and Processing Conditions on Acrylamide Levels in Fried Potato Crips. *Food Chemistry*, 90:875-881.
- Wise, L. D., Gordon, L. R., Soper, K. A., Duchai, D. M., Morrissey, R. E. 1995. Developmental neurotoxicity evaluation of acrylamide in Sprague-Dawley rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 17:189-198.
- Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M., Shibamoto, T. 2003. Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3999-4003.
- Yavuz, H., Ateş, C., Bayram, N., Özcengiz, C.K. 2014. Diyarbakır kadayıfının Yapımı ve tarihsel gelişimi. Basım Aşamasında
- Yavuz, O., Aksoy, O. 2006. Örnek hazırlamada katı faz ekstraksiyonu metodu. *Fen Bilimleri Enstitüsü Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. 20(3) : 259-269

Yaylayan, V., Wnorowski, A., Locas, C. 2003. Why asparagin needs carbohydrates to generate acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:1753-1757.

Yaylayan, V.A., Stadler, R.H. 2005. Acrylamide Formation in Food: A Mechanistic Perspective. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 88 (1):262-267

Zhang, Y., Zhang, G., 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., Ren, Y. 2006. Rapid determination of acrylamide contaminant in conventional fried foods by gas chromatography with electron capture dedector. *Journal of Chromatography A*, 1116:209-216.

Zhang, Y., 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.

Zhou, X., Fan, L. Y., Zhang, W., Cao, C. X. 2007a. Separation and determination of acrylamide in potato chips by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Talanta*, 71:1541-1545.

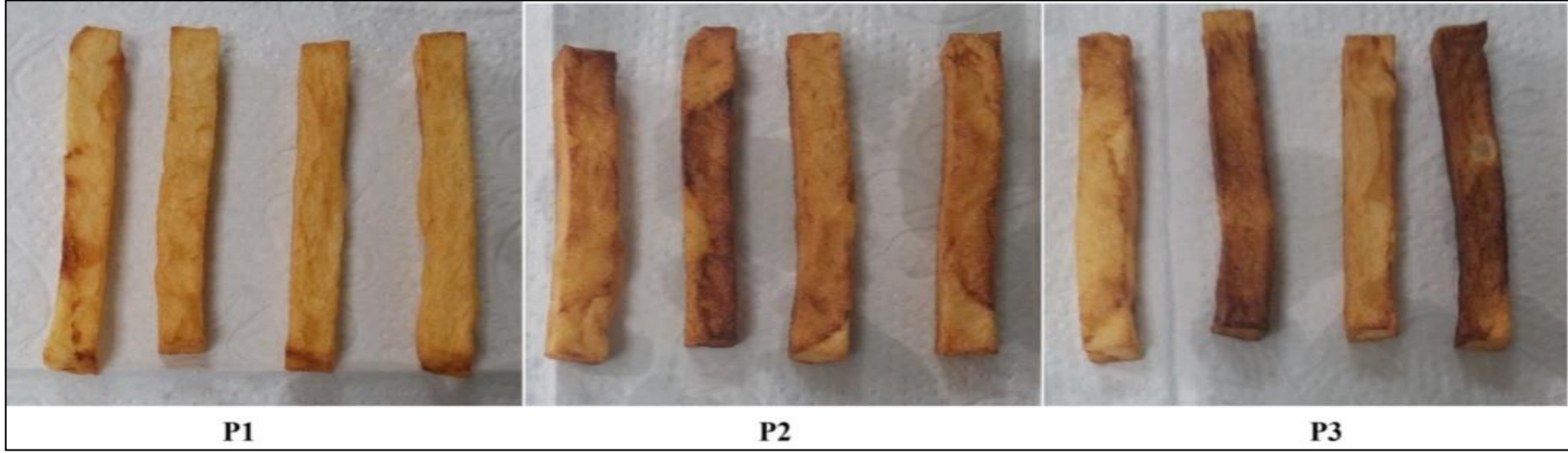
Zhang, Y., Wang, J., Zhang, Y. 2007a. Study on formation of acrylamide under low-moisture asparagine-sugar reaction system. *Food Chemistry*, 104:1127-1135.

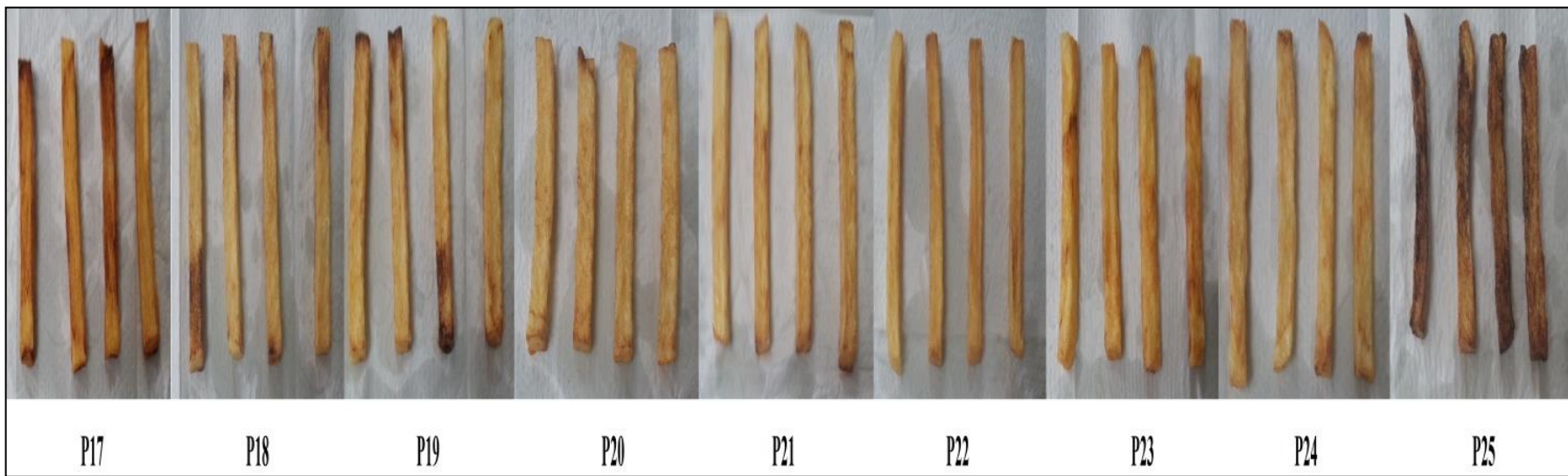
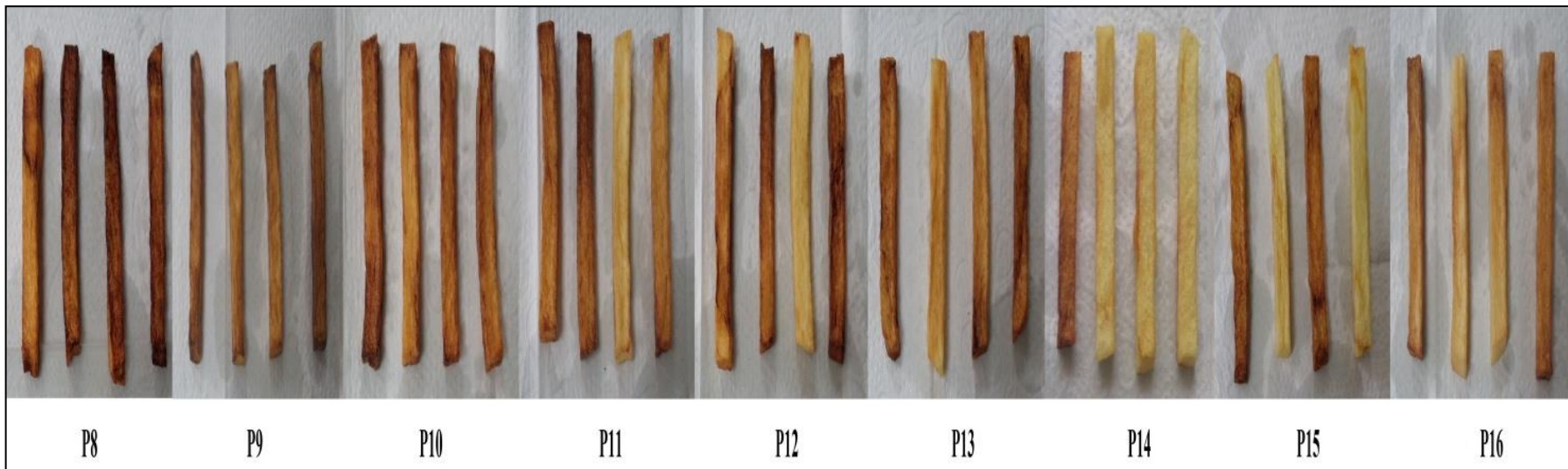
Zhu, Y., Li, G., Duan, Y., Chen, S., Zhang, C., Li, Y. 2008. Application of the standard addition method for the determination of acrylamide in heat-processed starchy foods by gas chromatography with electron capture detector. *Food Chemistry*, 109:899-908.

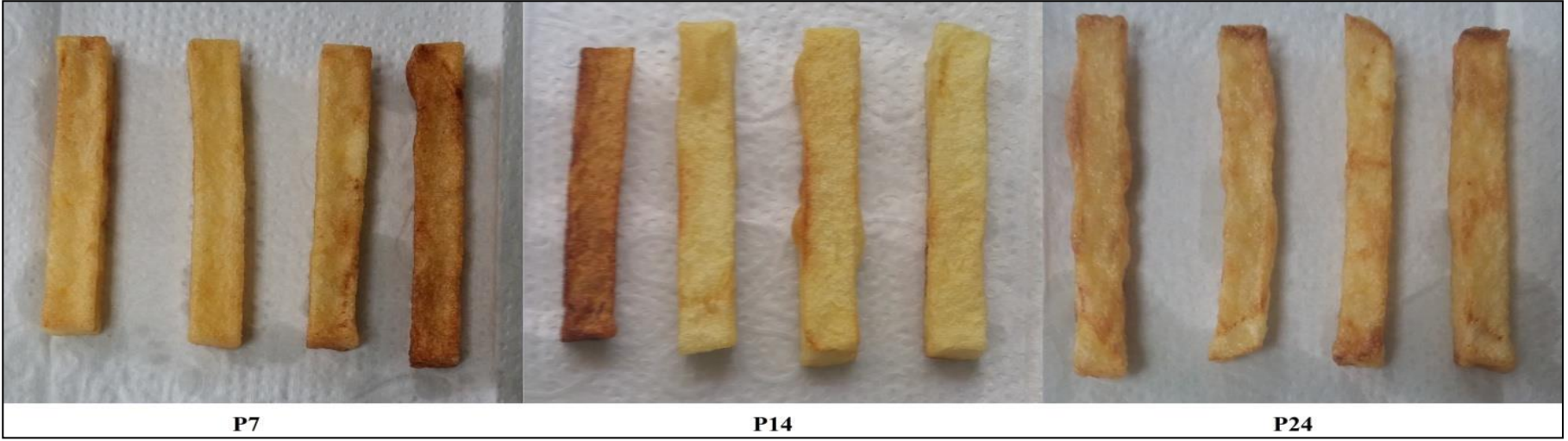
Zyzak, D., Sanders, R., Stokanovic, M., Tallmadge, D., Eberhart, B., Ewald, D. 2003. Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:4782-4787.

EKLER

Kızartılmış Patates Görselleri







ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aydın YILDIZ

Doğum Yeri : Diyarbakır

Doğum Tarih : 26.10.1979

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Yunus Emre Lisesi-Diyarbakır 1994-1997.

Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü 1998-2002.

Yük. Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya A.B.D. 2007-2010.

Doktora : Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya A.B.D. 2010-2014.

Çalıştığı Kurum/Kurumlar

Diyarbakır Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü 2004 -