

**FARKLI PİŞİRME UYGULAMALARI İLE FIRINCILIK
ÜRÜNLERİNDE AKRİLAMİD OLUŞUMUNUN
SINIRLANDIRILMASI**

**MITIGATION OF ACRYLAMIDE FORMATION IN BAKERY
PRODUCTS BY DIFFERENT BAKING APPLICATIONS**

TOLGAHAN KOCADAĞLI

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA MÜHENDİSLİĞİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :
Prof. Dr. Yaşar Kemal ERDEM

Üye (Danışman) :
Prof Dr.Vural GÖKMEN

Üye :
Prof.Dr. Dilek SİVRİ OZAY

Üye :
Prof.Dr. Hami ALPAS

Üye :
Doç. Dr. Ümran UYGUN

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../..... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof.Dr.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

FARKLI PİŞİRME UYGULAMALARI İLE FIRINCILIK ÜRÜNLERİNDE AKRİLAMİD OLUŞUMUNUN SINIRLANDIRILMASI

Tolgahan Kocadağlı

ÖZ

Bu alışma kapsamında fırıncılık ürünlerinde formülasyonun ve proses koşullarının değiştirilmesi ile akrilamid oluşumunun sınırlandırılması ayrıca üründe bu değişikliklerden doğan duyuusal kayıpların bertaraf edilmesi için çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Akrilamid oluşumunun sınırlandırılması sonucu yetersiz kalan aroma, tat ve yüzey renginin sağlanabilmesi amacıyla bisküvi yapımında hamura çeşitli Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmiştir. Böylece ısıl işlemin sonunda üründe oluşması gereken duyuusal özellikler hamur oluşturma sırasında elde edilerek akrilamid oluşumunu sınırlandırma yoluna gidilmiştir.

Bisküvilerin fırınlanma sıcaklığının düşürülmesi sonucunda akrilamid oluşumunda %30 azalma gözlenmiştir. Formülasyondan sodyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ve sıcaklığın düşürülmesi ile akrilamid oluşumunun sınırlandırılması %80 geçen oranlarda sağlanabilmiştir. Yüzeyde renk gelişimi ise bisküvilerin hamuruna Maillard reaksiyonu ürünlerinin eklenmesi ile başarı sağlanmiştir. Duyusal analiz sonuçlarında ise Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmeden akrilamid azaltılma yoluna gidildiğinde tüketicisi kabul edilebilirliğinin oldukça azaldığı belirlenmiştir. Maillard reaksiyonu ürünleri eklenerek yapılan formülasyonda ise duyuusal özelliklerin oldukça geliştiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada duyuusal özelliklerin kaybının ortadan kaldırılması için Maillard reaksiyonu ürünlerinin kullanılabilirliği gösterilmiştir. Maillard reaksiyonu ürünleri ısıl işlem gören gıdalarda oluşan doğal bileşenlerdir ve gıdalarda doğal katkı maddesi olarak kullanılacakları gösterilmiştir. Bu çalışmada gösterilen yöntem ile hamur oluştururken esmerleşmenin bir kısmının sağlanabildiği ve son üründe arzu edilen duyuusal özelliklerin daha düşük termal yük ve farklı formülasyon ile gerçekleştirilebileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Akrilamid, bisküvi, Maillard reaksiyonu ürünleri, duyuusal zellikler

Danışman: Prof.Dr. Vural GÖKMEN, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

MITIGATION OF ACRYLAMIDE FORMATION IN BAKERY PRODUCTS BY DIFFERENT BAKING APPLICATIONS

Tolgahan Kocadağlı

ABSTRACT

In this study, acrylamide formation was mitigated via modification of recipe and process conditions in bakery products. Moreover, several studies were performed to overcome the loss of sensorial properties stemmed from acrylamide mitigation strategies. To overcome the unsatisfactory flavor and color formation arising from acrylamide mitigation, various Maillard reaction products were added into dough before baking. Thus, the sensorial properties generated at the end of thermal treatment were obtained during dough formation and acrylamide mitigation strategies were achieved in this way.

Acrylamide formation was reduced with the ratio of 30% in biscuits baked at lower temperatures. Additionally, by eliminating ammonium hydrogencarbonate from recipe and reducing the thermal load, more than 80% mitigation in acrylamide formation was achieved. The brownish color development was succeeded by adding Maillard reaction products into dough. It was determined that consumer acceptability relatively declined in modified biscuits baked at lower temperature without adding Maillard reaction products. Addition of Maillard reaction products to formulation enhanced the sensorial properties.

Usability of Maillard reaction products to overcome sensorial losses in acrylamide mitigation was shown in biscuits. Maillard reaction products are naturally formed in heated foods and it was shown that they can be incorporated into bakery products as food grade additives. Browning could be achieved during dough formation and sensorial properties could be obtained while reducing acrylamide formation with different formulation and process conditions.

Key words: Acrylamide, biscuits, Maillard reaction products, sensorial properties

Advisor: Prof.Dr. Vural GÖKMEN, Hacettepe University, Department of Food Engineering, Food Engineering Section

TEŞEKKÜR

Tez alıŐmalarım boyunca değerli grüş ve dűŐünceleriyle her konuda desteğini gördüğüm hocam sayın Prof.Dr. Vural Gökmen'e;

Tezimin deneylerinin gerçekleŐtirilmesinde yardım ve görüşleriyle katkıda bulunan Araştırma Görevlisi arkadaşım Burçe Ata Mogol'a ve laboratuvardaki diğer çalışma arkadaşlarıma;

Eęitim hayatımın her aŐamasında bűyűk bir destek ve anlayıŐla yanımda olan aileme;

Hep yanımda ve destek olan sevgili arkadaşlarım Erkan ırak ve Gaye Katırcı'ya

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
EKLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Maillard Reaksiyonu.....	4
2.2. Akrilamid	6
2.2.1. Gıdalar ile Akrilamid Alımı ve Risk Değerlendirmesi.....	7
2.2.2. Akrilamid Oluşum Mekanizması	10
2.2.3. Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler	13
2.2.4. Fırıncılık Ürünlerinde Akrilamid Oluşumunu Sınırlandırma Stratejileri	14
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1. Kimyasallar ve Malzemeler	18
3.2. Maillard Reaksiyonu Ürünlerinin Oluşturulması.....	18
3.3. Bisküvilerin Hazırlanması	19
3.4. Akrilamid Analizi.....	19
3.5. Asparajin analizi	20
3.6. Glukoz analizi.....	21
3.7. Duyusal analiz.....	22
3.8. Renk Ölçümü	22

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.9. İstatiksel Analiz	23
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	24
5. ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	38
EKLER.....	44
ÖZGEÇMİŞ	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Gıdalarda termal proses sırasında gerçekleşen olaylar	3
Şekil 2.2. Maillard Reaksiyonu	5
Şekil 2.3. Maillard reaksiyonu ile flavor oluşumunun basitleştirilmiş şeması	6
Şekil 2.4. Akrilamidin moleküler yapısı	7
Şekil 2.5. Asparajinden α -hidroksikarbonillerin varlığında akrilamid oluşumu. R: karbonil bileşiğinin kalanını göstermektedir. I, Amadori dönüşümü; II, dekarboksilasyon; III, tautomerizasyon; IV, deaminasyon.	12
Şekil 4.1. Klasik yöntem ile pişirme ve tez çalışmasında uygulanan yöntem ile pişirmenin şematik gösterimi	24
Şekil 4.2. Düşük sıcaklıklarda daha uzun süre ısı işlem ile elde edilen nem oranları	26
Şekil 4.3. Farklı sıcaklık ve sürelerde model bisküvilerde akrilamid miktarındaki değişim	27
Şekil 4.4. Farklı sıcaklıklarda aynı nem oranına sahip ARG-GLC MR ürünü eklenmiş model bisküvilerde amonyum hidrojenkarbonatın elimine edildiği ve edilmediği durumda gözlenen akrilamid miktarları	28
Şekil 4.5. %1 Glukoz ile hazırlanan MR ürünlerindeki protein hidrolizatı miktarındaki değişimin eklenen bisküvide (205°Cx11') akrilamid oluşumu üzerine etkisi.....	30
Şekil 4.6. Protein hidrolizatı içeren Maillard reaksiyonu ürünü eklenen ve amonyum hidrojenkarbonatın elimine edildiği bisküvilerin farklı sıcaklıklarda fırınlanması ile kontrole göre akrilamid miktarındaki değişim.....	31
Şekil 4.7. Aşırı esmerleştirilmiş bisküvi benzeri ürün ile hazırlanan bisküvilerde akrilamid miktarları.....	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Akrilamidin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	7
Çizelge 2.2. Bazı gıda maddeleri grupları için akrilamid miktarları	8
Çizelge 4.1. ARG-GLC Maillard reaksiyonu ürünü eklenen bisküvilerde CIE L*a*b* değerleri ve kontrole göre toplam renk değişimi (ΔE) ($^{\alpha}$: amonyum hidrojenkarbonat içermeyen örnekler; MRP: ARG-GLC MR ürünü eklenmiş bisküviler)	28
Çizelge 4.2. %5 Protein hidrolizatı- %1glukoz ile hazırlanan Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmiş ve amonyum hidrojenkarbonat eklenmemiş bisküvilerde CIE L*a*b* değerleri ve kontrole göre toplam renk değişimi (ΔE)	32
Çizelge 4.3. Aşırı esmerleştirilmiş bisküvi kabuğu benzeri ürün eklenen bisküvilerde CIE L*a*b* değerleri ve kontrole göre toplam renk değişimi (ΔE) ($^{\alpha}$: amonyum hidrojenkarbonat içermeyen örnekler)	34
Çizelge 4.4. Protein hidrolizatı ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünü eklenmiş bisküvilerde duyusal analiz sonuçları ($^{\alpha}$: amonyum hidrojenkarbonat eklenmemiş; MRP: %5 protein hidrolizatı ve %1 glukoz ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünleri katılmış örnekler; her bir grupta aynı harflerin bulunduğu değerler arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır, $p<0.05$).....	35

EKLER DİZİNİ

Sayfa

Ek 1. Ortalama renk değerlerinin belirlenmesinde kullanılan MATLAB kodu.....42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AACC	Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği (American Association of Cereal Chemist)
ARG	Arjinin
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
GLC	Glukoz
HAs	Heterosiklik aminler
HFCS	Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (High Fructose Corn Syrup)
HMF	5-Hidroksimetilfurfural
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
HYD	Hidrolizat
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer)
IRMM	Referans Materyaller ve Ölçümler Enstitüsü (Institute for Reference Materials and Measurements)
JECFA	Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzmanlar Komitesi (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)
MCPD	Monokloropropandiol
MoE	Maruz Kalma Marjı (Margin of Exposure)
MR	Maillard Reaksiyonu
MRP	Maillard Reaksiyonu Ürünü (Maillard Reaction Product)
MS	Kütle Spektrometresi (Mass Spectrometry)
NOAEL	Hiçbir Olumsuz Etkinin Görülmediği Düzey (No Observable Adverse Effect Level)
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (Ultra Performance Liquid Chromatography)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
ΔE	Toplam renk değişimi

1. GİRİŞ

Bisküvilerin fırınlanması fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal bir takım karmaşık değişimi beraberinde getirir. Hacimde artış, suyun buharlaşması, gözenekli yapı oluşumu, protein denatürasyonu, nişastanın jelatinizasyonu, kabuk oluşumu ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu meydana gelen değişimlerdir (Sablani et al., 1998). Üründe ve bulunduğu ortamda gerçekleşen eş zamanlı ısı ve su taşınımı bu sürecin gerçekleşmesinde temel etkindir.

Fırınlama işlemi ile başta viskoelastik olan bisküvi hamuru katı ve arzu edilen duyusal özelliklere sahip bir ürüne dönüşür (Cronin and Preis, 2000). İstenilen duyusal özelliklerin oluşumunda enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak da bilinen Maillard reaksiyonu ile hoş tat, koku ve esmer renk oluşumu sağlanır. Bunun yanında, ısı işlem sonucu gerçekleşen bu kimyasal dönüşümde akrilamid gibi istenmeyen bazı bileşiklerin oluştuğu bilinmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından insanlar için olası kanserojen (grup 2A) olarak sınıflandırılan ve insanda nörotoksik olduğu kanıtlanmış bir bileşiktir. Akrilamid, gıdalarda asparajin amino asidinin deaminasyon ve dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Yüksek sıcaklıkta ısı işlem gören gıdalarda reaktif karbonil bileşiklerin varlığı akrilamid oluşumunu arttırmaktadır. Asparajin ve karbonil bileşikleri arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonu akrilamid oluşumunda ana mekanizma olarak kabul edilmektedir. Fırıncılık ürünlerinde istenilen aroma, tat ve kokunun oluşumu ile akrilamid oluşumu Maillard reaksiyonu ile gerçekleştiğinden benzer ara basamakları içermektedirler. Bu durumdan dolayı akrilamid oluşumunu sınırlandırmakta kullanılan çeşitli yöntemler sonucunda yetersiz aroma, tat ve renk oluşumu görülmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında fırıncılık ürünlerinde formülasyonun ve proses koşullarının değiştirilmesi ile akrilamid oluşumunun sınırlandırılması ve üründe bu değişikliklerden doğan etkilerin bertaraf edilmesi için çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Akrilamid oluşumunun sınırlandırılması sonucu yetersiz kalan aroma, tat ve yüzey renginin sağlanabilmesi amacıyla bisküvi yapımında hamura çeşitli Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmiştir. Protein hidrolizati, arjinin ve un Maillard reaksiyonu ürünlerinin oluşturulmasında amin kaynağı olarak kullanılmıştır. Glukoz karbonil kaynağı olarak kullanılmış, esmer renkli süspansiyonlar kontrollü ısı işlem uygulaması ile elde edilmiştir. Böylece ısı işlemin sonunda üründe oluşması

gereken duyusal özellikler hamur oluşturma sırasında elde edilerek akrilamid oluşumunu sınırlandırma yoluna gidilmiştir.

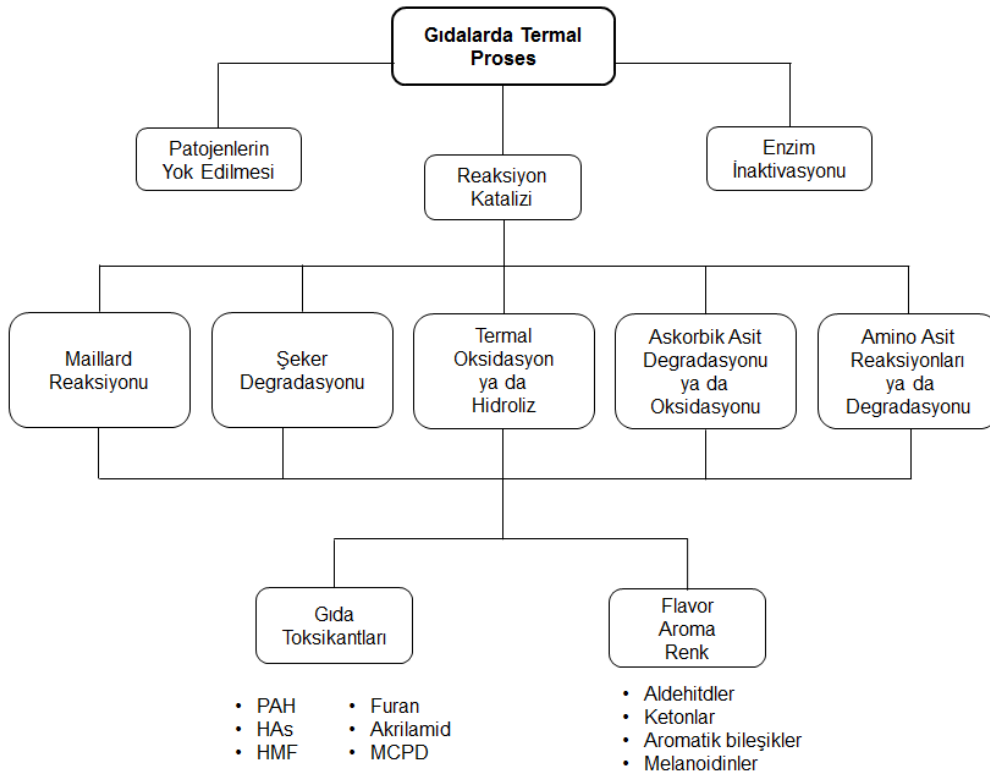
Bisküvi yapımında formülasyondan kabartma ajanı olan amonyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ile akrilamid oluşumunda büyük ölçüde azalma sağlanabilmektedir. Ancak bu durumda istenilen duyusal özellikler sağlanamamaktadır. Bisküvi yapımında hamura eklenen bu süspansiyonlar ile hamurda formülasyona gidilmiştir. Amonyum hidrojenkarbonatın eliminasyonu nedeniyle ortaya çıkan duyusal özelliklerdeki kayıp böylece giderilmeye çalışılmıştır.

Fırıncılık ürünlerinde akrilamid oluşumu temel olarak ürüne uygulanan termal yüke bağlıdır ve yüksek sıcaklık-sürelerde akrilamid miktarı artmaktadır. Fırıncılık ürünlerinde bu termal yükün azaltılması ile yine duyusal özelliklerde azalma meydana gelmektedir. Bu nedenle proses koşullarının değiştirilmesi ve bisküvi yapımında hamura Maillard reaksiyonu ürünlerinin eklenmesi ile hamur oluşturma aşamasında istenilen duyusal özellikler elde edilerek akrilamid oluşumunun sınırlandırılmasına çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Gıdalar genel olarak iki nedenden dolayı işlemden geçirilir: gıdanın raf ömrünü arttırarak muhafaza edilmesi; fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerini etkileyerek ham maddenin modifikasyonu (yenilebilir hale getirilmesi). Termal proses en eski ve en çok kullanılan uygulamadır (Knorr et al., 2007).

Gıdalara uygulanan termal işlemler ile patojenlerin yok edilmesi, reaksiyon katalizi ve enzim inaktivasyonu gerçekleşmektedir (Şekil 2.1). Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ile gıdalarda arzu edilen duyuşsal özellikler oluşur ve birçok gıda tüketilebilir hale gelir. Aroma, tat, renk, tekstür ve görünüş, ısı işlemden oldukça etkilenir ve gıdanın kabul edilebilirliğinde önemli rol oynar.



Şekil 2.1. Gıdalarda termal proses sırasında gerçekleşen olaylar

Bu reaksiyonlar, arzu edilen özelliklerin oluşmasının yanında gıda toksikantlarının oluşumu bakımından gıda güvenliği riski doğurmaktadır. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, furan, heterosiklik aminler, akrilamid, hidroksimetilfurfural ve kloropropanoller gıdalarda ısı işleminin sonucu tetiklenen reaksiyonların ürünleridir (Şekil 2.1).

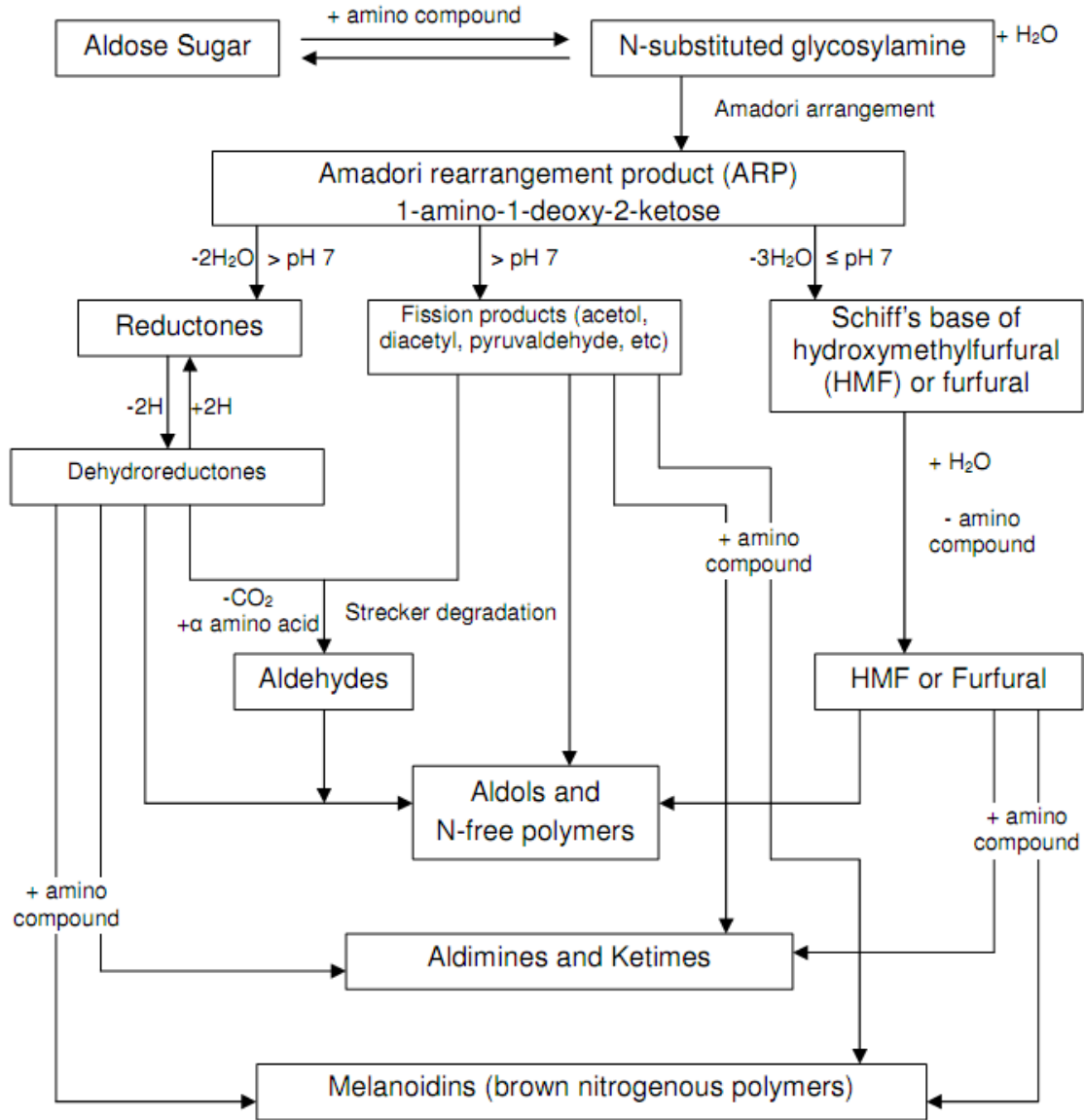
2.1. Maillard Reaksiyonu

Gıdalar yüksek sıcaklara maruz kaldığında ve uzun süre depolandığında gerçekleşen enzimatik olmayan esmerleşme Maillard reaksiyonu olarak bilinmektedir. L.C. Maillard tarafından 1912'de amino asitler ve şekerler arasında gerçekleşen reaksiyon sonucunda esmer renkli maddelerin oluştuğunun bulunmasından beri gıda kimyası alanında önemli bir yer tutmaktadır. Reaksiyon sonucu oluşan maddeler ekmeke, kahve, bisküvi gibi gıdalarda istenilen renk, koku ve tat olarak karşımıza çıkmaktadır.

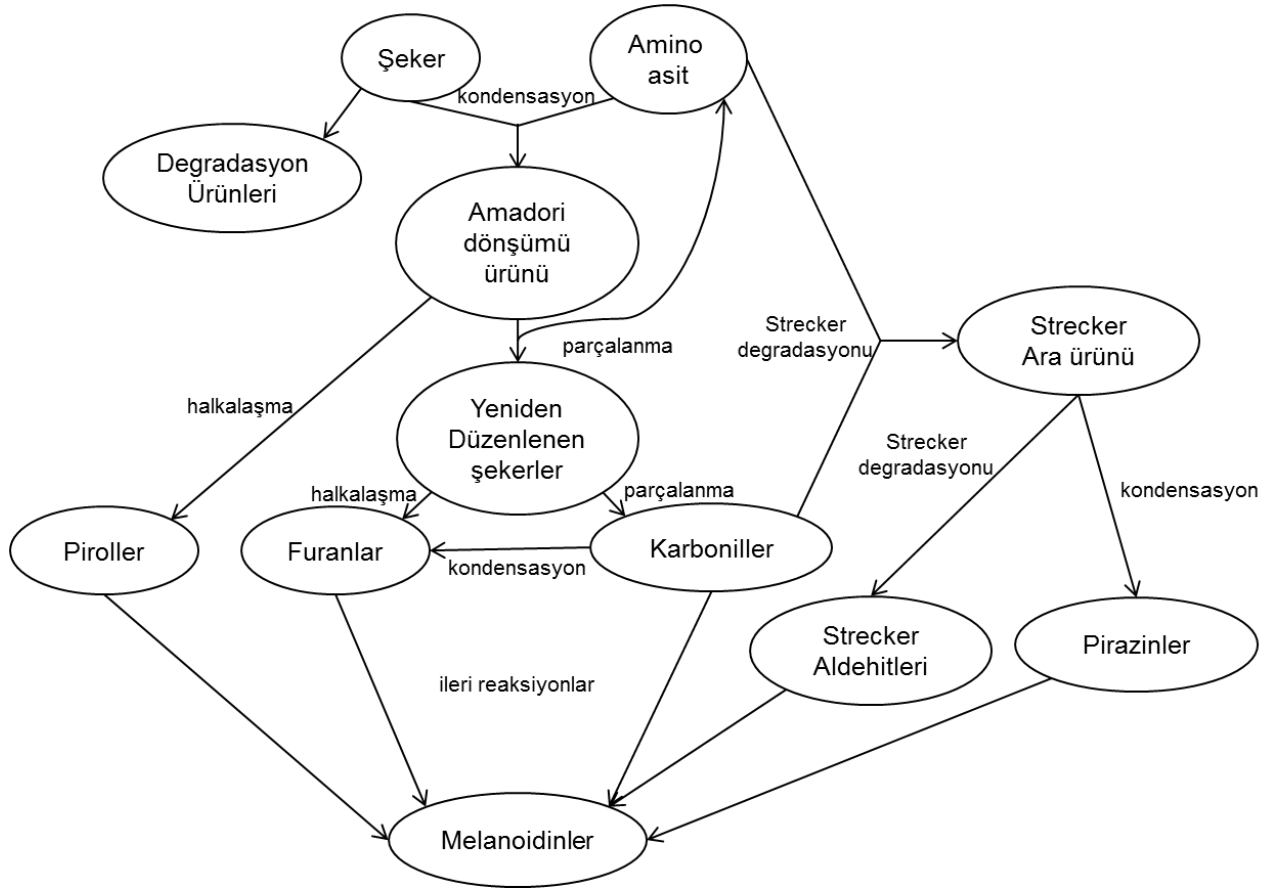
Maillard reaksiyonu çok sayıda uçucu ve uçucu olmayan maddenin oluştuğu karmaşık dönüşümleri kapsar. Şekil 2.2'de görüldüğü gibi Maillard reaksiyonu bir amino asit, peptid veya proteindeki amino grubu ile karbonil grubu içeren bir indirgen şekerin (glukoz, fruktoz) kondensasyon reaksiyonu ile başlar. Reaksiyonun ilk basamağında amino asit 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 α -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 (2-amino-2-deoksialdoz) meydana gelir (Belitz et al., 2009).

Amadori ürünü bileşikler çok sayıda karakteristik tat, aroma ve esmer renkli polimerlerin oluşumunda önemli öncüllerdir. İlerleyen aşamalarda ortam koşullarına da bağlı olarak çeşitli ara ürünlerin oluşumu bir dizi reaksiyon ağında gerçekleşir. Amadori ürününün yıkımı sonucunda parçalanma ürünleri, reaktif ara ürünler (deoksiozonlar) ve uçucu bileşiklerin (aroma) oluşumu ile reaksiyon devam eder (Belitz et al., 2009). Maillard reaksiyonu ile flavor oluşumunun basitleştirilmiş şeması Şekil 2.3'de verilmiştir. Amadori dönüşümü ürünü (ya da Heyns bileşiği) halka yaparak piroller veya piridinler gibi azotlu heterosiklik bileşikler oluşturur. Diğer bir taraftan bölünerek başlangıçtaki şeker zincirinin tamamını içerecek şekilde yeniden düzenlenmiş şekerlere dönüşür. Yeniden düzenlenmiş bu şekerler hem 1-deoksi-2,3-diketonları ve 3-deoksi-1,2-diketonları hem de ketoenol tautomerizasyonu ile yeniden düzenlenen bileşikler içerir. Bu bölünme ile başlangıçtaki amino asit tekrar ortaya çıkar. Dehidrate olmuş şekerler, furanlar ve furfurallar gibi oksijen içeren heterosiklik

bileşikleri oluşturmak için halka yaparlar. Ayrıca yeniden birleşerek furanları oluşturabilen dikarbonil bileşiklere parçalanabilirler. Dikarboniller Strecker degradasyonu mekanizmasında amino asitler ile reaksiyona girerek Strecker aldehitlerine ve pirazinlere ait ara ürünleri oluştururlar (Jousse et al., 2002).



Şekil 2.2. Maillard Reaksiyonu (Hodge, 1953)



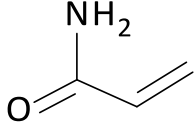
Şekil 2.3. Maillard reaksiyonu ile flavor oluşumunun basitleştirilmiş şeması (Jousse et al., 2002)

Maillard reaksiyonunda oluşan nükleofilik ve elektrofilik ara ürünler arasında gerçekleşen kondensasyon reaksiyonu ile melanoidinler olarak bilinen renkli maddeler oluşur. Melanoidinler azotlu kahverengi polimerik yapıda bileşiklerdir ve bisküvi, ekmek gibi fırıncılık ürünlerinin yüzeyindeki esmer renkten sorumludurlar. Melanoidinlerin yapısı hakkında bilgiler oldukça kısıtlıdır fakat çeşitli öneriler bulunmaktadır. Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarında oluşan furan ve/veya pirol bileşiklerinin tekrarlanan birimlerinden polikondensasyon reaksiyonları ile oluşan polimerler oldukları bilinmektedir (Belitz et al., 2009).

2.2. Akrlamid

Akrlamid, vinilik karbon-karbon çift bağı ve amid grubu içeren çok fonksiyonlu bir moleküldür. Şekil 2.4'de akrilamidin moleküler yapısı görülmektedir. Akrlamidin elektronu eksik çift bağı; nükleofilik eklenme, Diels-Alder ve serbest radikal reaksiyonlarını da içeren çok sayıda reaksiyona yatkındır. Bu nedenle, protein ve protein olmayan (sistein, homosistein, glutatyon) –SH gruplarının, hemoglobinin valin

kökünde N-terminal NH₂ gruplarının, guanin ve diğer nükleik asitlerin NH₂ gruplarının alkilenmesi çift bağ üzerinden olur. Amid kökünün hidroliz, dehidrasyon ve aldehitler ile kondensasyon reaksiyonlarının da akrilamid metabolizmasında rol aldığı düşünülmektedir (Girma et al., 2005).



Şekil 2.4. Akrilamidin moleküler yapısı

Akrilamid, kokusuz kristal yapıda bir katıdır (Girma et al., 2005). Su, metanol, aseton da çözünebilir, yer altı sularında ve toprakta taşınabilirliği yüksektir (Friedman, 2003). Çizelge 2.1’de akrilamidin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden bazıları verilmiştir.

Çizelge 2.1. Akrilamidin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Molekül kütlesi	71.02 g/mol
Suda çözünürlüğü	2.04 kg/L
Erime noktası	84.5 °C
Kaynama noktası	Polimerleşme
Yoğunluk	1.13 g/cm ³

2.2.1. Gıdalar ile Akrilamid Alımı ve Risk Değerlendirmesi

Akrilamidin gıdalarda varlığı ilk olarak kızartılmış hayvan yemi ile beslenen ratlarda yapılan bir çalışmada kanda hemoglobin-akrilamid eklenme ürünü bileşiğinin varlığının belirlenmesi aracılığıyla gösterilmiştir (Tareke et al., 2000). Nisan 2002’de İsveç Ulusal Gıda İdaresi (NFA) ve Stockholm Üniversitesinden bir grup araştırmacı ortaklaşa basın açıklamasında karbonhidratça zengin gıdaların ısıtılma işlem görmesi ile yüksek miktarlarda akrilamid oluştuğunun tespit edildiğini bildirmişlerdir (Tareke et al., 2002). Bu açıklamanın ardından birçok araştırmacı çeşitli gıdalarda değişik miktarlarda akrilamidin varlığını göstermişlerdir (Ahn et al., 2002). Akrilamid, nörotoksik etkileri olduğu bilinen ve insanlar için olası kanserojen madde olarak değerlendirildiğinden (IARC, 1994) gıda biliminde ve endüstrisinde oldukça dikkat

çekmektedir. T.P. Labuza'ya (2011, sözlü görüşme) göre kanserlerin %30'u gıdalar ile alınan akrilamid kaynaklıdır.

Fırıncılık ürünleri, patates kızartmaları, kahvaltılık tahıllar, ve kavrulmuş kahve en önemli akrilamid kaynağı gıda maddeleri olarak öne çıkmaktadır (Açar, 2010). Çizelge 2.2'de çeşitli gıdalarda bulunan akrilamid miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bazı gıda maddeleri grupları için akrilamid miktarları (IRMM, 2006)

Gıda maddesi	Örnek sayısı	Akrilamid (ng/g)	
		minimum-maksimum	ortalama
Patates kızartmaları	1377	5-4653	186
Patates cipsleri	831	5-4215	528
Bisküvi tipi ürünler	1056	4-3324	145
Kızarmış ekmekler	411	5-2838	244
Zencefilli kekler	1003	5-7834	303
Bebek mamaları	157	5-910	79
Diyabetik kekler-bisküviler	402	5-3044	230
Kahvaltılık tahıllar	333	5-1649	60
Kavrulmuş kahve	221	79-975	286

Akrilamid sindirim sisteminden hızlıca emilir ve tüm vücuda büyük ölçüde yayılır (Doerge et al., 2005a; Doerge et al., 2005b), ayrıca fetüs ve anne sütünde olduğu belirlenmiştir (Stadler and Lineback, 2009). Akrilamide maruz kalmanın, akrilamidin epoksit metaboliti olan glisidamid (2,3-epokispropionamid) aracılığı ile insanlarda ve hayvanlarda sinir sistemi hasarına neden olduğu bilinmektedir (Calleman et al., 1990; Costa et al., 1992; Bergmark et al., 1993; Calleman, 1996). Metabolizmasındaki ana rota akrilamidin ve glisidamidin Michael tipi bir reaksiyon ile glutatyona bağlanması sonucu suda çözünür tiyoeterler oluşumu üzerindedir (Friedman, 2003). Akrilamid ayrıca *in vivo* olarak memeli deney hayvanlarında mutajenik ve karsinojenik özellikleri ile reproduktif toksin olarak addedilmektedir (Dearfield et al., 1995). Akrilamid ve metaboliti glisidamid *in vivo* olarak proteinler ve DNA ile kovalent bağlı eklenme ürünleri oluşturur. Hemoglobin ile oluşan spesifik eklenme ürünleri akrilamide maruz kalmanın biyobelirteci olarak kullanılır (Blank, 2005).

Hayvanlarda tek dozda akut toksik etkinin oluşması için günde 100 mg/ kg vücut ağırlığından fazla miktara maruz kalınması gerekmektedir. Sinir sistemi etkisi

(sinirlerde morfolojik değişiklik) için Birleşik FAO/WHO Gıda Katkıları Uzman Komitesi (JECFA) 0.2 mg/ kg vücut ağırlığı (v.a.)/ gün NOAEL (Hiçbir Olumsuz Etkinin Görülmediği Düzey) değerini belirlemiştir. Ayrıca, reproduktif ve gelişimsel etkilerin 2.0 mg/ kg v.a./ gün NOAEL değerinde kemirgenlerdeki erkek fertilitesi ve testisler üzerinde etkisi olduğu tahmin edilmektedir (Blank, 2005).

Akrilamid memeli hücrelerinde *in vivo* ve *in vitro* olarak hem klastojenik (kromozomlarda hasara neden olabilen) hem de mutajeniktir (genetik mutasyona neden olabilen) (Stadler and Lineback, 2009). Akrilamidin ratlarda tümör oluşturduğu gösterilmiştir. Fakat JECFA akrilamid üzerine yaptığı değerlendirmesinde bu mekanizmanın kanıtlanmadığını fakat genotoksik etkisinin göz ardı edilmemesi gerektiğini belirtmiştir. Komite, tüm popülasyonda ortalama akrilamid alımının 1 µg/kg v.a./gün olduğuna karar vermiştir, yüksek miktar tüketimde ise bu değer 4 µg/kg v.a./gün olarak hesaplanmıştır. NOAEL değerinin tahmin edilen akrilamide maruz kalma miktarına bölünmesi ile maruz kalma marjı (MoE, margin of exposure) elde edilmektedir. Buna göre morfolojik sınır hasarının görüldüğü 0.2 mg/ kg v.a./gün NOAEL değerine göre MoE değeri ortalama ve yüksek miktarda tüketim için sırası ile 200 ve 50 olarak bulunmaktadır. Ayrıca JECFA reproduktif ve gelişimsel etkiler için MoE değerleri ortalama ve yüksek miktarda tüketim için sırası ile 2000 ve 500 olarak hesaplanmaktadır. Bu MoE değerlerine göre, ortalama tüketiciler için olumsuz nörolojik, reproduktif ve gelişimsel etkilerin görülme olasılığının düşük olduğuna hükmedilmiştir. Fakat yüksek oranda akrilamide maruz kalanlar için morfolojik sınır hasarının göz ardı edilmemesi gerektiği belirtilmiştir.

Gıdalar ile akrilamid alımı ve birçok kanser türünün görülme sıklığı arasındaki olası bağlantı bir takım epidemiyolojik çalışma ile incelenmiştir. Önceki çalışmaların çoğunda bir bağlantının kurulması başarı ile sonuçlanmamıştır (Stadler and Lineback, 2009). Son çalışmalardan birinde Hollandalı kadınlarda yumurtalık kanseri görülme sıklığındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Hogervorst et al., 2007). Diğer bir epidemiyolojik çalışmada menopoza sonrası kadınlarda kandaki hemoglobine eklenti ürünleri biyobelirteç alınarak gerçekleştirilmiştir (Olesen et al., 2008). Bu çalışmada göğüs kanseri görülme sıklığında düşüğe olsa artışın akrilamid alımına bağlı olduğu bulunmuştur. Hogervorst et al. (2010) epidemiyolojik ve hayvan deneylerini derlediği makalede çalışmaların çoğunluğunda birçok kanser türünde riski arttıran sonuçların olduğunu fakat bazı epidemiyolojik çalışmalarda tersinin

görüldüğünü belirtmiştir. Ek olarak akrilamidin genotoksitesinin kanser oluşturma mekanizmasında tek başına etkili olmadığını, hormonal sistem üzerinde de etkisi bulunabileceğini belirtmiştir.

2.2.2. Akrilamid Oluşum Mekanizması

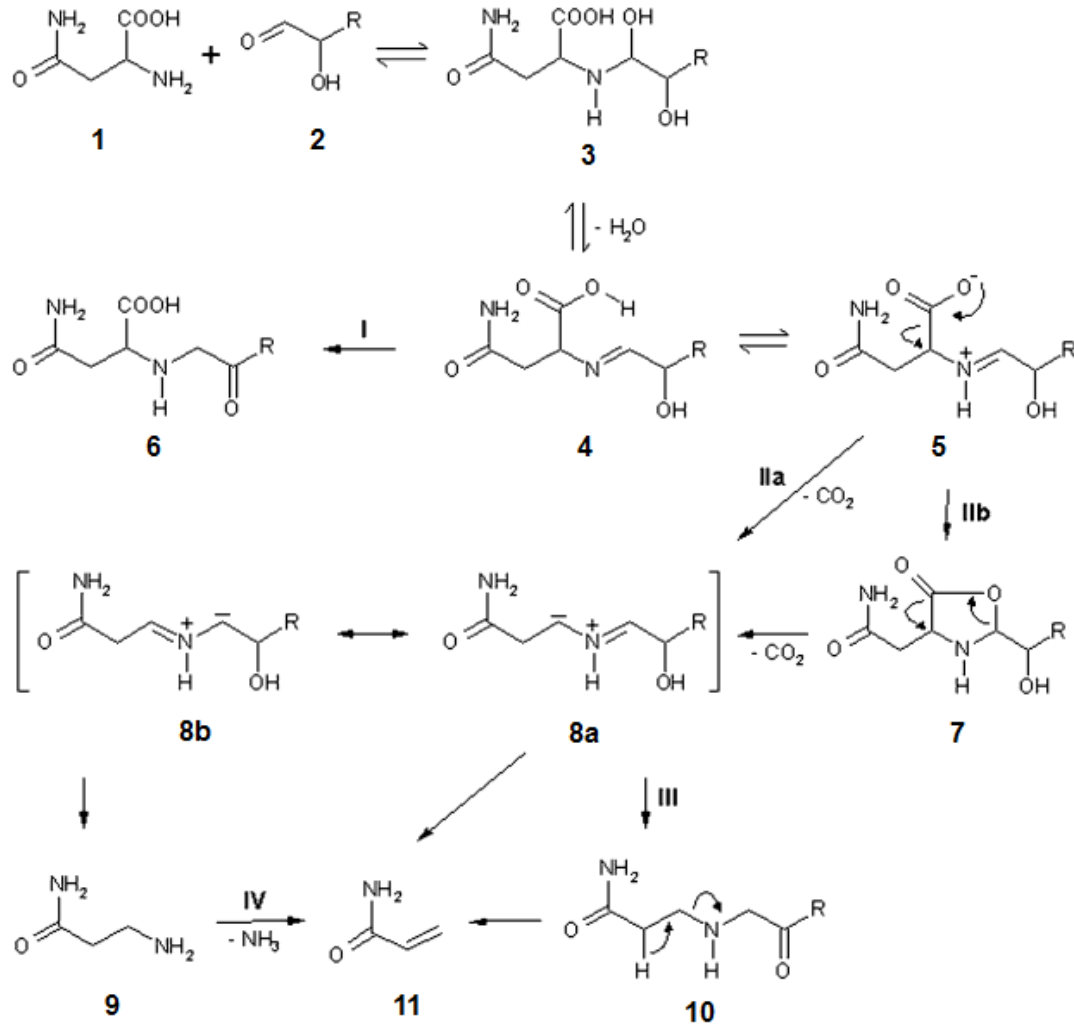
Akrilamid miktarı hakkındaki ilk çalışmalar karbonhidratça zengin gıdalarda oldukça yüksek akrilamid oluştuğunu göstermiştir. Birçok araştırmacı gıdalarda akrilamid oluşumunun ana mekanizmasının Maillard reaksiyonu üzerinden olduğunu ve özellikle asparajin amino asidinin rol aldığını belirtmişlerdir (Mottram et al., 2002; Stadler et al., 2002). Akrilamid molekülünün omurgasını doğrudan kapsayan asparajinin akrilamid ile bağlantısı işaretleme çalışmaları ile gösterilmiştir (Zyzak et al., 2003). Maillard reaksiyonu aracılığı ile akrilamid oluşumunun olası kimyasal rotasını gösteren ana adım bu olmuştur. *N*-glikozilasparajin (Schiff bazı) (Zyzak et al., 2003; Stadler et al., 2004), Strecker aldehiti 3-okzopropanamid (Mottram et al., 2002) ve 3-aminopropionamid (Zyzak et al., 2003; Granvogl et al., 2004; Granvogl and Schieberle, 2006) gibi ara ürünlerin anahtar rol oynadığı ileri sürülmüştür. Akrolein ve akrilik asit üzerinden lipidlerin oksidatif degradasyonu ile gerçekleşen mekanizmanın daha önemsiz olduğu ileri sürülmüştür (Gertz and Klostermann, 2002).

Amino bileşikleri ve indirgen şekerler arasındaki Maillard reaksiyonu ısı işlem gören gıdalarda flavor ve renk oluşumundan sorumludur. Reaksiyon, proses ve depolama sırasında gıdanın bozulması, ayrıca bazı Maillard reaksiyonu ürünlerinin antioksidan özelliklerini de içeren gıda endüstrisindeki diğer alanlarda da rol alır. Dolayısıyla, ısı işlem gören gıdalarda akrilamid oluşumu ile pişmiş gıdalarda oluşan duyuşal özellikler arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır (Stadler and Lineback, 2009).

Reaksiyonun ilk ve kritik basamağı asparajin (1) ve karbonil bileşikleri (2) arasında kondensasyon ile glikokonjugat (3) oluşumudur ve yüksek sıcaklıklarda dehidrate olarak buna karşılık gelen, anahtar ara ürünü, Schiff bazını (4) oluşturur (Şekil 2.5). Bu aşamada oluşan Schiff bazının Maillard reaksiyonunda izleyeceği yol, akrilamid oluşumu yönünde olabileceği gibi Amadori ürününe dönüşümü (I) ile de sonuçlanabilir. Amadori ürününün (6) yıkımı ile reaksiyonun ileriki aşamalarında renk ve aroma maddelerinin oluşumu gerçekleşmektedir. Amadori ürünü akrilamid oluşumunda etkin bir öncül değildir (Stadler et al., 2004). Asparajinin akrilamide (11)

dönüşüm oranının oldukça düşük olması, çoğunlukla %1 civarı, Amadori ürününün akrilamid oluşumundaki etkinliğinin az olması ile örtüşmektedir (Blank, 2005).

Asparajinin Schiff bazı (4, 5) doğrudan (IIa) (Zyzak et al., 2003) ya da okzazolidin-5-on (7) (Yaylayan et al., 2003) ara ürünü üzerinden (IIb) dekarboksile olarak azometin ylid (dekarboksile Schiff bazı) (8) oluşturur. Azometin ylid üzerinden akrilamid oluşumu için çeşitli rotalar önerilmiştir. Azometin ylid (8a) doğrudan parçalanarak akrilamid oluşturur (Zyzak et al., 2003), tautomerizasyon (III) ile dekarboksile Amadori ürününe (10) dönüşür ve bu Maillard ürününden β -eliminasyon ile akrilamid oluşur (Yaylayan et al., 2003), diğer bir yolda ise azometin ylid (8b) üzerinden hidroliz ile oluşan 3-aminopropionamid (9) deamine olarak akrilamide dönüşür (Zyzak et al., 2003; Granvogl and Schieberle, 2006).



Şekil 2.5. Asparajinden α -hidroksikarbonillerin varlığında akrilamid oluşumu. R: karbonil bileşiğinin kalanını göstermektedir. I, Amadori dönüşümü; II, dekarboksilasyon; III, tautomerizasyon; IV, deaminasyon.

Akrilamid oluşumunda her basamağın ayrıntılı mekanizması reaksiyonda yer alan farklı karbonil bileşiklerinin özelliklerine, sıcaklığa ve su aktivitesine bağlıdır (Stadler and Lineback 2009). Asparajinin glukoza eklenmesi ile Schiff bazına dehidrate olmamış başlangıç *N*-(D-glucos-1-il)-L-asparajin Maillard ürününün 180°C de önemli miktarda akrilamid ürettiği gösterilmiştir (Stadler et al., 2004). Asparajin ve indirgen şeker içeren basit model sistemlerde akrilamid oluşumunun en önemli öncülü, büyük ihtimal ile reaktantların oluşturduğu Schiff bazıdır. Buna rağmen reaksiyonda oluşan ve asparajin ile Schiff bazı oluşturma özellikleri olan reaktif karboniller de akrilamid oluşumunda rol almaktadır. Gliksal, metilgliksal ve bütandion glukoz-asparajin model sistemlerinde akrilamid oluşturma potansiyelleri üzerine çalışılmış reaktif bileşiklerdir. Isıtılan gıdalarda bulunan diğer serbest amino asitler, şekerler ile

reaksiyona girerek sistemdeki reaktif karbonil ara ürünlerin havuzuna katkıda bulunmaktadır ve böylece şeker-asparajin Schiff bazının akrilamid oluşumunda daha az etkili bir öncül olduğu kabul edilmektedir (Stadler and Lineback, 2009).

2.2.3. Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Fırıncılık ürünlerinde, bileşenlerdeki farklılıklar ile birlikte asparajin ve reaktif karbonil bileşiklerinin miktarı da değiştiğinden akrilamid oluşumunda içerik önemli bir rol almaktadır. Asparajin, akrilamid oluşumundan sorumlu aminoasit olduğundan, hamurda bulunan asparajin miktarı ile pişmiş ürünlerdeki akrilamid miktarı arasında bir ilişki söz konusudur. Hamurda bulunan serbest asparajinin büyük kısmı undan gelmektedir (Amrein et al., 2004). Tam buğday unu veya kepek ile yapılan formülasyonlarda beyaz una göre daha fazla akrilamid oluştuğu gözlenmiştir (Capuano et al., 2009). Bunun dışında, bal gibi bisküvi bileşimine giren diğer bileşenler hamurdaki serbest asparajin miktarına katkıda bulunabilmektedir (Amrein et al., 2004). Undaki serbest asparajin miktarı ise, tahıl çeşidine, öğütme tipi ve derecesine, tahılın tarımsal özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Taeymans et al., 2004; Elmore et al., 2005).

Amonyum hidrojenkarbonatın akrilamid oluşumunda oldukça fazla etkisi bulunmaktadır. Amrein et al. (2004) amonyum hidrojenkarbonatın formülasyondan çıkarılması ile zencefilli bisküvilerde neredeyse hiç akrilamid oluşmadığını göstermiştir. Fakat bu durumda yüzey esmerleşmesi ve kabarma yetersiz kalmaktadır. Amonyum Maillard reaksiyonunda esmerleşmeyi desteklediği Izzo et al. (1992) tarafından da gösterilmiştir. Amonyum hidrojen karbonatın akrilamid oluşumunda etkisinin, asparajinin reaktif karboniller ile reaksiyonu ile alakalı olduğu düşünülmektedir (Amrein et al., 2004). Maillard reaksiyonunda oluşan reaktif karbonillerin şekerlere göre daha fazla akrilamid oluşturma potansiyeli olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Zyzak et al., 2003; Amrein et al., 2006; Koutsidis et al., 2008). Amonyak indirgen şekerler ile reaksiyona girerek birçok reaktif karbonil bileşiğin (α -dikarboniller, α -hidroksikarboniller vb.) oluşumuna neden olmaktadır (Friedman and Levin, 2008). Bu nedenle amonyum hidrojenkarbonatın akrilamid oluşumunu arttırıcı etkisi dolaylı yoldan gerçekleşmektedir.

Çeşitli çalışmalarda, bisküvi formülasyonlarında bulunan şekerlerin kompozisyonunun akrilamid oluşumunda belirleyici olduğu gösterilmiştir (Pollien et

al., 2003; Robert et al., 2004; Schieberle et al., 2005). Sadece sükröz bulunan formülasyonlarda akrilamid miktarının standart formülasyona göre oldukça azaldığı, bu durumda akrilamid oluşumunun sükröz hidrolizine bağlı olduğu gösterilmiştir (Taeymans et al., 2004; Gokmen et al., 2007).

Bileşenlerden gelen faktörlerin yanında, proses koşulları da akrilamid miktarını etkilemektedir. Ürüne uygulanan termal yük ve ürünün son nem miktarı akrilamid oluşumunda önemli faktörlerdendir. Birçok çalışmada fırınlama boyunca sıcaklık ve zaman etkisi incelenmiştir. Ekmekte oluşan akrilamidin %99'unun kabukta olduğu gösterilmiştir (Surdyk et al., 2004; Claus et al., 2005). Ekmek içinin sıcaklığı nem oranı yüksek olduğundan 100°C'yi geçmemektedir ve dolayısıyla gerekli sıcaklığa ulaşamadığından akrilamid oluşumu gözlenmemektedir. Bisküvilerde 220°C'de sıcaklık-zaman profilinin etkisi izlenmiş ve yüzey sıcaklığının 120°C'yi geçmediği gösterilmiştir (Taeymans et al., 2004). Bisküvinin iç sıcaklığı ise 80°C'yi geçmemektedir ve meydana gelen buharlaşma ile soğuma etkisi yüzey sıcaklığının yükselmesini engellemektedir. Benzer şekilde akrilamid oluşumu bakımından sıcaklık ve nemin elverişli olduğu yüzey ve hemen altındaki bölgede çok ince bir tabaka halinde akrilamidin yoğun olarak bulunduğu belirtilmiştir (Açar and Gökmen, 2009). Patates kızartmalarında akrilamidin büyük kısmının kızartma sırasında en yüksek sıcaklığa ulaşan yüzey kısmında olduğu gösterilmiştir (Gökmen et al., 2006). Isıl işlem uygulanan gıdalarda akrilamid oluşumunun, gıdanın maruz kaldığı sıcaklık-süre ve son nem miktarına doğrudan bağlı olduğu açıkça görülmektedir.

Diğer taraftan yapıda bulunan su, bileşimde yer alan bileşiklerin hareketliliklerini konsantrasyonunu ve hamur matriks yapısında gerçekleşen fiziksel değişiklikleri etkilediğinden, akrilamid oluşumunu bu yönden de etkileyebilmektedir (Robert et al., 2004; Robert et al., 2005).

2.2.4. Fırıncılık Ürünlerinde Akrilamid Oluşumunu Sınırlandırma Stratejileri

Gıdalarda akrilamidin oluşumunun kontrol edilmesinde temel bilgiler, gerçek gıda işleme şartlarında kinetik modelleme çalışmalarına (suyun rolüne, sıcaklık-süre boyunca oluşumuna, eliminasyonuna, şekerlerle ve amino asitlerle rekabetçi reaksiyon kinetiğine) ve hız kısıtlayıcı basamakların belirlenmesine ortam sağlamaktadır (Blank, 2005). Bu çalışmalar, ticari gıda ürünlerinde akrilamid

oluşumunun sınırlandırılması yönünde parametrelerin optimizasyonunu mümkün kılmaktadır.

Birçok temel çalışmada asparajin-karbonhidrat model sisteminde ve farklı gıda matrislerinde akrilamid oluşumunun mekanizması ortaya konmuştur. Bu bilgilere dayanarak akrilamidin azaltılmasında şu mekanistik yaklaşımlar göz önünde bulundurulabilir: (i) Reaksiyon koşullarının değiştirilmesi ile bazı anahtar ara ürünlerin elimine edilmesi; (ii) Akrilamidden başka diğer vinilik bileşiklerin oluşumunu; (iii) Schiff bazı oluşumu, Schiff bazının dekarboksilasyonu, azometin ylid hidrolizi ile 3-aminopropionamid oluşumu gibi anahtar basamakların bloke edilmesi (Zhang and Zhang, 2007).

Gıda sistemlerine asparajinaz uygulaması ile serbest asparajin aspartik aside hidrolize olarak Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumunda rol almadığı gösterilmiştir (Zyzak et al., 2003). Bu çalışmada patates püresi ile hazırlanan atıştırmalık gıdalarda asparajinaz uygulaması ile akrilamidin %99 azaltılabildiği gösterilmiştir. Kraker üretiminde asparajinaz kullanılması ile üründe renk ve flavor değişimi olmadan akrilamid miktarının %70 azaltılabildiği (Vass et al., 2004). Asparajinaz uygulaması oldukça etkili ve son ürünün karakteristik özelliklerini etkilemeyen önemli bir akrilamid azaltma stratejisi olmasına rağmen maliyeti nedeniyle ucuza satılan gıdalarda (ekmek, bisküvi, patates ile hazırlanan atıştırmalıklar vb.) uygulanması pek mümkün görülmemektedir (Claus et al., 2008).

Divalent katyonlar ile muamele edilen çeşitli gıda ürünlerinde akrilamid miktarının oldukça azaltılabildiği gösterilmiştir (Gökmen and Şenyuva, 2007). Bu çalışmada divalent katyonların asparajinin Schiff bazı oluşturmasını engellediği model sistemde gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada patateslerin kızartılmadan önce CaCl_2 çözeltisine daldırılması ile %95 oranında akrilamid oluşumunun sınırlandırılabilirdiği gösterilmiştir. Divalent katyonların kullanımı ayrıca fırıncılık ürünlerinde de mümkündür ve kalsiyum tuzlarının %0.5 oranında kullanılması ile bisküvilerde akrilamid miktarının duyu özelliklerini etkilemeden %70 azaltılabileceği gösterilmiştir (Açar et al, 2010). Bu uygulama ile tekstürde ve renkte herhangi bir değişim olmadığından divalent katyonların kullanımı akrilamidin oluşumunun sınırlandırılmasında önemli bir yer tutmaktadır.

Kabarmayı geliştirmek için fırıncılık ürünlerinde organik asitler genellikle kullanılmaktadır. Hamura asit eklenmesi ve pH'nın düşmesi sayesinde akrilamid miktarında azalma olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Jung et al., 2003; Rydberg et al., 2003; Surdyk et al., 2004). Asparajinin düşük pH'da α -amino grubunun protonlanması sayesinde akrilamid oluşumunda ilk basamak olan imin oluşumunun sınırlandığı belirtilmektedir (Amrein et al., 2004). Hamurda pH'nın sitrik asit ilavesi ile 7.40'tan 3.28'e düşürülmesi ile bisküvide oluşan akrilamid miktarında %67 azalma sağlandığı rapor edilmiştir. Bunun yanında bisküvilerde asidik tadın gelişimi ve yüzey renginde homojen olmayan dağılımın kabul edilemeyen sınırdaki olduğu belirtilmiştir (Gokmen et al., 2007).

Fırıncılık ürünlerinde, formülasyonda yer alan şekerlerin kompozisyonu akrilamid oluşumunda kritik öneme sahiptir. Sükroz yerine glukoz varlığında akrilamid miktarının oldukça yükseldiği, bu yüzden de formülasyonlarda indirgen şekerlerin yerine sükrozun kullanılmasının %50'den fazla azalma sağladığı bildirilmiştir (Amrein et al., 2004; Gokmen et al., 2007). Akrilamid oluşumu ve bisküvilerde yüzey renginin oluşumu ilintili olduğundan indirgen şekerlerin sükroz ile ikame edilmesi sonucunda istenilen esmerleşmenin sağlanamadığı bildirilmiştir (Gökmen et al., 2007).

Proteinler, protein hidrolizatlarının ve amino asitlerin eklenmesi fırıncılık ürünlerinde akrilamid miktarının azaltılabileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Ekmek hamuruna glisin eklenmesi ile akrilamid miktarının %90 oranında azaltılabildiği gösterilmiştir (Brathen et al., 2005) fakat eklenen miktar (%1.5-3) çok yüksektir. Eklenen glisin Maillard reaksiyonunda asparajin ile rekabet ederek akrilamid oluşumunu sınırlandırmaktadır. Glisinden başka kükürt içeren farklı amino asitler ve peptidlerin (metiyonin, sistein, glutatyon gibi) kullanımı ile akrilamidin azaltıldığı krakerlerde (Levine and Smith, 2005) ve patates ürünlerinde (Claus et al., 2008) gösterilmiştir. Ayrıca soya protein hidrolizatı gibi bitkisel proteinlerin asparajin ile rekabetçi davranışı, Maillard reaksiyonunda akrilamid oluşturan önemli ara ürünlerin oluşumunu sınırlandırmaktadır (Cook et al., 2005; Wedzicha et al., 2005).

Farklı türlerde antioksidan maddelerin kullanılması ile akrilamid miktarının azaltılmasında pozitif ya da negatif sonuçları olan birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Şimdiye dek, antioksidan eklenmesi ile akrilamid oluşumunun sınırlandırılması arasında pozitif ya da negatif bir ilişkinin varlığını doğrulayıcı sonuçlar net olarak elde

edilememiştir. Ayrıca antioksidan eklenmesi ile gıda sistemlerinde akrilamid oluşumunun nasıl etkilendiği gösterilmemiştir (Zhang and Zhang 2007). Bunun yanında antioksidanların etki mekanizmasının Maillard reaksiyonunda oluşan serbest radikal ara ürünlerden reaktif serbest elektronları kopararak faydalı bir etkisinin olabileceği belirtilmektedir (Friedman and Levin 2008).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasallar ve Malzemeler

Akrilamid (%99) ve L-asparajin (%99) Sigma (Deisenhofen, Almanya)'dan temin edilmiştir. L-Arjinin, D-glucose, potasyum hekzasiyanoferrate ve çinko sülfat Merck (Darmstadt, Almanya)'dan temin edilmiştir. Formik asit ve metanol J.T.Baker (Deventer, Hollanda) firmasından temin edilmiştir.

0.45 µm naylon membran filtreler, Oasis MCX ve HLB (1 ml, 30 mg) katı faz ekstarksiyon kartuşları, Atlantis T3 kolonu (250 mm, 4.6 mm id., 5 µm) ve Acquity UPLC HSS T3 kolonu (100 mm, 2.1 mm id., 1.8 µm) Waters (Millford, MA, ABD) firmasından temin edilmiştir.

Un, protein hidrolizatı, sodyum hidrojenkarbonat, amonyum hidrojenkarbonat ve shortening yerel üreticiler tarafından sağlanmıştır, bisküvilerin hazırlanmasında kullanılan diğer bileşenler ise marketten temin edilmiştir.

Carrez I çözeltisi, 15 g potasyum hekzasiyanoferrateın 100 ml suda çözülmesiyle, Carrez II çözeltisi ise 30 g çinko sülfateın 100 ml suda çözülmesiyle hazırlanmıştır.

3.2. Maillard Reaksiyonu Ürünlerinin Oluşturulması

Maillard reaksiyonu ürünleri üç farklı formülasyon ile hazırlanmıştır. (i) Eşmolar glukoz ve arjinin içeren karışım; (ii) Glukoz ve soya protein hidrolizatı içeren karışımlar (iii) Buğday unu ve mısır şurubu içeren karışım. 250 ml 0.125 M arjinin ve 0.125 M glukoz içeren çözelti deiyonize su (kaynama sıcaklığında) ile hazırlanmış ve 100°C'de 6 saat boyunca sıkıca kapatılmış cam kaplarda inkübe edilmiştir. 100 ml %1, 2.5 ve 5 protein hidrolizatı ile birlikte %1 glukoz içeren karışımlar deiyonize su (oda sıcaklığında) ile hazırlanmış ve etüvde 100°C'de yeterli esmerleşmenin elde edilmesi için 12 saat boyunca inkübe edilmiştir. Aşırı esmerleştirilmiş bisküvi kabuğu benzeri ürünün oluşturulması için 100 g un, 60 ml deiyonize su ve 1.5 g HFCS (yüksek fruktozlu mısır şurubu) kullanılmıştır. Elde edilen hamur çok ince olacak şekilde alüminyum folyo üzerinde açılarak 225 °C'de 13 dk boyunca fırınlanmıştır. İyi şekilde öğütülmüş örnekten %5'lik olacak şekilde deiyonize suya katılarak süspansiyon hazırlanmıştır.

3.3. Bisküvilerin Hazırlanması

Model bisküviler AACC (American Association of Cereal Chemists) Metot 10-54'te tarif edildiği şekilde bazı modifikasyonlar ile gerçekleştirilmiştir. Bisküvi hamurunun formülasyonunda 40 g bisküvilik buğday unu, 16 g shortening, 12.8 g pudra şekeri (sükroz), 4 g esmer şeker, 0.6 g HFCS, 0.4 g yağsız süt tozu, 0.5 g NaCl, 0.4 g sodyum hidrojenkarbonat, 0.2 g amonyum hidrojenkarbonat ve 8.8 ml su ya da suyun yerine Maillard reaksiyonu ürünleri çözeltileri/süspansiyonları kullanılmıştır. Bazı örneklerde amonyum hidrojenkarbonat formülasyondan çıkartılarak da bisküviler hazırlanmıştır.

Bisküvilerin kontrol (205°C'de 11 dk) ile aynı nem oranlarına ulaşması için 170, 180 ve 190°C'de sırasıyla 15, 13 ve 13 dakika boyunca fırında (Memmert UNE 400, Almanya) ısı işleme tabi tutulmuştur.

3.4. Akrilamid Analizi

Akrilamid analizi için örneklerin hazırlanması Gökmen et al. (2009) tarafından önerilen prosedüre göre yapılmıştır. Öğütülen örneklerden 1.00 g tartılarak üzerine 9 ml 10 mM formik asit, 0.5 ml Carrez I ve 0.5 ml Carrez II çözeltisi ilave edilmiş ve 3 dakika boyunca vortekslenmiştir. Örnek daha sonra 8000 rpm hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. Örnek içerisinde bulunan yağın katı bir tabaka halinde üst fazda ayrılabilmesini sağlayabilmek amacıyla, santrifüjleme işlemi 0°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiş ve soğuk santrifüjleme sonunda üst fazda toplanan yağ tabakası bir spatül yardımıyla süpernatanttan uzaklaştırılmıştır. Yağ tabakası uzaklaştırılmış süpernatant başka bir tüpe aktarılmıştır. Tüpte kalan retentat üzerine tekrar 5 ml 10 mM formik asit ilave edilerek 3 dakika vortekslenmiş ve 8000 rpm hızda 5 dakika soğukta santrifüjlenerek elde edilen ve yağı ayrılan süpernatant, birinci ekstraksiyon basamağında elde edilen süpernatantla birleştirilmiştir. Aynı ekstraksiyon işlemi üçüncü defa tekrarlanarak, tüm süpernatantlar bir araya getirilmiştir (üç kademeli ekstraksiyon). Birleştirilen süpernatantlar, tam olarak karışmalarının sağlanması amacıyla 1 dakika boyunca vortekslenmiş ve ekstraksiyon basamaklarında süpernatantların ayrılması sırasında karışan katı retentat partiküllerinin uzaklaştırılması amacıyla 10000 rpm hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen berrak süpernatantın 1 ml'si, önceden koşullandırılmış Oasis MCX kartuştan, saniyede bir damla hızla geçirilmiştir. Kartuş koşullandırmasından kaynaklanabilecek

seyrelmelerin önüne geçebilmek amacıyla, ilk 7-8 damla atılarak, sonraki damlalar bir vialde toplanmış ve LC/MS-MS'de analiz edilmiştir. Kartuş koşullandırılması kartuştan sırasıyla 1 ml metanol ve 1 ml su geçirilmesi ile gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin analizi Waters Acquity UPLC sistemine bağlı elektrospray pozitif (ES+) moda çalıştırılan bir Waters Acquity TQ (triple quadrupole) detektöre ile gerçekleştirilmiştir. Kromatografik separasyon 0.3 ml/dk akışta 10 mM formik ile %0.5 metanol içeren mobil faz geçirilen Acquity UPLC HSS T3 kolon (1.8 µm, 2.1 mm, 100 mm) ile gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı analiz süresince 40°C'de sabitlenmiş ve Waters ACQUITY FTN Autosampler sıcaklığı 10°C'de tutulmuştur. Elektrosprey kaynağı ile iyonizasyon: kapiler voltaj 0.75 kV; kon voltajı 21 V; ekstraktör voltajı 4 V; kaynak sıcaklığı 120°C; kurutucu gaz sıcaklığı 450°C; kurutucu gaz (N₂) akışı 900 L/h olarak belirlenen parametreler ile gerçekleştirilmiştir. Akrilamidin belirlenmesinde iki kanallı MRM (multiple reaction monitoring) kullanılmıştır. Çarpışma gazının akışı 0.25 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Ana iyon [M+H]⁺ =72'nin parçalanması ile fragment iyonları 55 (çarpışma enerjisi 9 V) ve 44 (çarpışma enerjisi 12 V) gözlenmiştir. Tüm MRM geçişleri için durma süresi (dwell time) 0.2 saniyedir.

Akrilamid stok çözeltisi 10.0 mg/ml derişimde su içerisinde hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, stok çözeltiden 1, 5, 10 ve 20 ng/ml derişimlerine su ile seyreltilerek hazırlanmıştır. 1-20 ng/ml aralığında akrilamid kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır.

3.5. Asparajin analizi

Asparajin analizi bisküvi yapımında kullanılan unda ve Maillard reaksiyonu hazırlamada kullanılan protein hidrolizatında gerçekleştirilmiştir. Undan asparajin ekstraksiyonu için 1.00 g, protein hidrolizatından ise 0.500 g tartılmıştır. Protein hidrolizatından 1.00 g yerine 0.500 g tartılmasının nedeni su ile ekstraksiyon sırasında örneğin suyu absorplayarak şişmesi ve jelleşmesidir. Bu nedenle daha az örnek kullanılarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. İki örnekte de, ilk kademede, 10 ml deiyonize su eklenerek 3 dk boyunca vortekslenmiştir. Ardından örnek 8000 rpm hızda 5 dk santrifüjlenmiştir. Süpernetant başka bir tüpe alınarak, retantat üzerine 5 ml su eklenerek ikinci kademe ekstarksiyon aynı yol ile gerçekleştirilmiştir. Üçüncü kademe ekstraksiyonda 5 ml su ile aynı yöntemle gerçekleştirilerek diğer süpernetantlarla aynı tüpte birleştirilmiştir. Elde edilen süpernetant karıştırıldıktan

sonra örnekten bulaşan katı partiküllerin ayrılması için 8000 rpm hızda 5 dk santrifüjlenerek önceden koşullandırılmış Oasis HLB kartuştan geçirilmiştir. Örneğin kartuştan geçirilmesi saniyede 1 damla hızda gerçekleştirilmiştir. Kartuş koşullandırmasından kaynaklanabilecek seyrelmelerin önüne geçebilmek amacıyla, ilk 7-8 damla atılarak, sonraki damlalar bir vialde toplanmış ve LC/MS'de analiz edilmiştir. Kartuş koşullandırılması kartuştan sırasıyla 1 ml metanol ve 1 ml su geçirilmesi ile gerçekleştirilmiştir.

Öneklerin analizi Agilent 1200 HPLC sistemi (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) ve Agilent 6130 MS dedektör (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) sistemlerinden oluşan LC-MS sisteminde gerçekleştirilmiştir. Sistem pozitif elektrosprey iyonlaştırma modunda kullanılarak, kurutucu gaz sıcaklığı 300 °C, ve fragmentor voltajı 70 eV ayarlanarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım Atlantis T3 kolonda (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 0.8 ml/dak akış hızında, 100 mM formik asit ve metanol 70:30 oranında izokratik olarak kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 40 °C' olarak sabitlenmiştir. Kütle spektrometresi SIM modunda, pozitif iyonizasyon ile çalıştırılmıştır. Asparajin miktar tayini için m/z 133 iyonu kullanılmıştır.

Asparajin stok çözeltisi 1.0 mg/ml derişimde su içerisinde hazırlanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, stok çözeltiden 5, 10, 20 µg/ml derişimlerine su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.6. Glukoz analizi

Maillard reaksiyonu ürünlerinde sistemde kalan glukoz miktarının tespit edilmesi için glukoz analizi gerçekleştirilmiştir. Örnekler onda bir seyreltilerek Carrez klarifikasyonu uygulanmıştır. Arkasından örnekler 0.45 µm naylon filtreden geçirilmiş, Agilent 1100 HPLC sistemine enjekte edilmiş ve refraktif indeks dedektör ile analiz gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım Shodex Sugar SH-1011 kolondan 0.7 ml/dk akışta 0.01 M H₂SO₄ geçirilerek ve kolon sıcaklığı 50°C'de tutularak gerçekleştirilmiştir. Glukoz standart çözeltisi %0.01 konsantrasyonda suda hazırlanmıştır.

3.7. Duyusal analiz

Protein hidrolizatı ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünü eklenen bisküvilerin kontrole göre duyusal farklılıklarını belirlemek için tat, koku, tatlılık ve gevreklik kriterleri kullanılarak tüketici testi uygulanmıştır. Sekiz panelistten kontrol olarak tanımlanan örneğin kriterlerine 5 puan vererek diğer örneklerin kriterlerini kontrole göre kıyaslayarak ± 1 ve katlarını kullanarak puan vermeleri istenmiştir. Örnekler harf ile kodlanmış ve rastgele dizilerek panelistlere sunulmuştur. Örnekler arasında ağzın çalkalanması için panelistlere su sağlanmıştır.

Kontrol bisküvisi AACC metot 10-54'te tarif edildiği şekilde (205°C'de 11 dk) hazırlanmıştır. Örnekler ise formülasyondan amonyum hidrojenkarbonat çıkarılarak ve protein hidrolizatı ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünü eklenerek 170, 180 ve 190°C'de sırasıyla 15, 13 ve 13 dakika boyunca fırınlanmıştır. Ek olarak Maillard reaksiyonu ürünü eklenmeyen örnekteki duyusal özelliklerin kontrole göre değişimin de değerlendirilmesi için formülasyondan amonyum hidrojenkarbonat çıkarılarak, 170°C'de 15 dk fırınlanan bisküvide teste dahil edilmiştir.

3.8. Renk Ölçümü

Bisküvi örneklerinde yüzey esmerleşmesinin izlenebilmesi için renk analizi (CIE L*a*b*) bilgisayar destekli görüntü işleme teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk analizlerinde ilk olarak, ışıklandırma düzeneği kullanılarak analiz edilecek örneklerin renkli görüntüleri bir dijital kamera yardımıyla elde edilmiş ve elde edilen görüntüler bilgisayara aktarılmıştır. Sony Cyber-shot renkli dijital kamera ile çekilen görüntüler JPEG formatında bilgisayara aktarılmıştır. Bilgisayar ortamına aktarılan görüntülere ait RGB değerleri, çeşitli bilgisayar algoritmaları yardımıyla L*a*b* değerlerine çevrilebilmektedir. Bisküvi yüzeyinde ki ortalama renk değerinin belirlenmesi Ek 1'de verilen Matlab kodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Gökmen and Süğüt, 2007).

Örneklerde kontrole göre toplam renk değişiminin hesaplanmasında aşağıda verilen formül kullanılmıştır. Herhangi iki renk arasındaki relatif fark, her bir rengi üç boyutlu renk uzayında bir nokta olarak değerlendirip, aralarındaki Euclidian farkın hesaplanması ile belirlenmektedir. Buna göre toplam renk değişimi (ΔE) şu şekilde hesaplanır:

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_1 - L^*_0)^2 + (a^*_1 - a^*_0)^2 + (b^*_1 - b^*_0)^2}$$

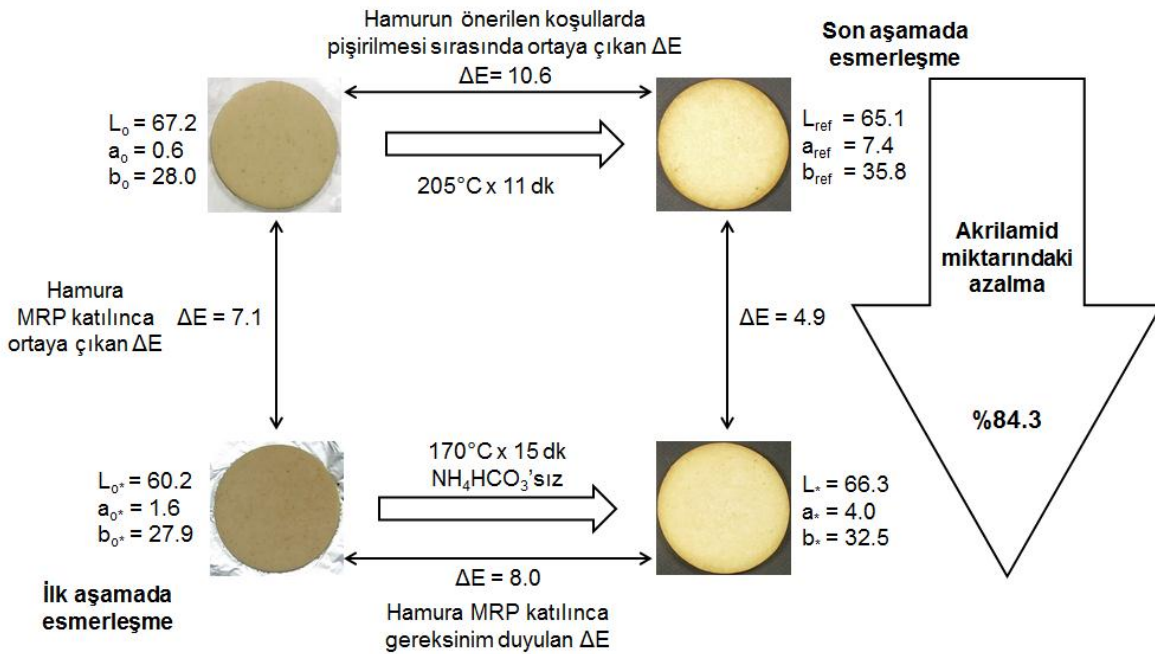
Burada; L^* , a^* ve b^* incelenen örneğe ait renk bileşenlerini, L^*_0 , a^*_0 ve b^*_0 ise referans örneğe ait renk bileşenleri değerlerini ifade eder (Açar, 2010).

3.9. İstatiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS-17.0 programı kullanılmıştır. Grup ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile incelenmiştir. Grup çiftleri arasındaki istatistiksel anlamlı farklılığı araştırmak için Tukey HSD Post-Hoc testi uygulanmıştır. Bu test ile $p < 0.01$ veya $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bisküviler genellikle 200°C civarında ve yaklaşık 10 dakika boyunca düşük nem miktarı ve yeterli esmerleşme elde edilmesi için fırınlanır. Yüzeysel esmerleşmesi ısı işleminin son fazında (Mundt and Wedzicha, 2007) gerçekleştiği gibi akrilamid oluşumu da bu fazda oldukça artmaktadır (Palazoğlu and Gökmen, 2008). Maillard reaksiyonu ile oluşması arzu edilen duyu özellikleri ile akrilamid oluşumu benzer ara ürünleri içerdiğinden akrilamid oluşumunun sınırlandırılması ile istenen duyu özellikleri de olumsuz etkilenmektedir. Bu nedenle bazı akrilamid oluşumunu sınırlandırma stratejileri tüketici kabul edilebilirliği açısından fırıncılık ürünlerinde uygulanamamaktadır. Bu tez çalışmasının amacı da, fırıncılık ürünlerinde formülasyonda ve proses koşullarında yapılan değişikliklerin akrilamid oluşumunu sınırlandırılmasının yanında getirdiği olumsuz etkileri bertaraf etmektir. Bu amaçla AACC Metot 10-54 temel alınarak hazırlanan bisküvi hamuruna çeşitli Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmesi ile ısı işlem sonucu oluşması istenen renk, tat, koku gibi özelliklerin hamur hazırlama aşamasında elde edilmesidir. Şekil 4.1’de, tez çalışmasında uygulanan yöntemin şematik gösterimi ve klasik yöntem ile pişirme, bisküvilerdeki yüzey rengi değerleri ile birlikte verilmiştir.

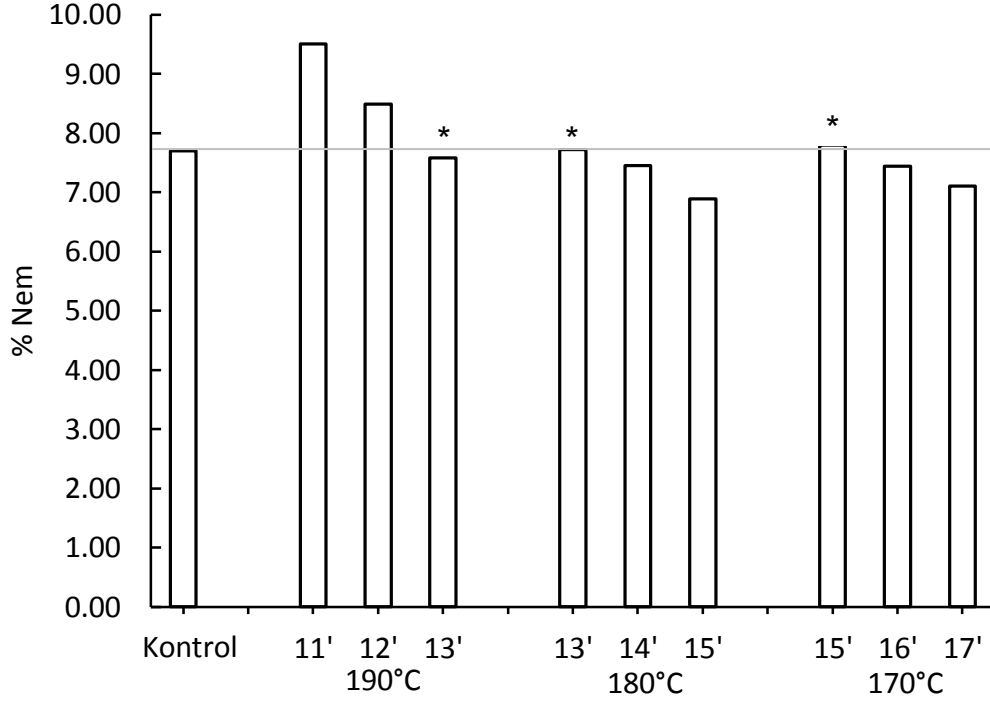


Şekil 4.1. Klasik yöntem ile pişirme ve tez çalışmasında uygulanan yöntemin şematik gösterimi

Klasik yöntem ile yüzey esmerleşmesinin oluşumu fırınlamanın son aşamasında meydana gelmektedir. Bu yöntem ile bisküvinin pişirilmesi sonucunda hamura göre renk değişiminin 10.6 olduğu belirlenmiştir. Bu hamura arjinin-glukoz (ARG-GLC) ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünü eklenmesi ile hamurdaki renk değişimi 7.1 olarak bulunmuştur (Şekil 4.1). Dolayısıyla esmerleşmenin büyük bir kısmı pişirmeden önce elde edilmiş, ürün formülasyonu ve termal yükün azaltılması yöntemleri ile bisküvilerde akrilamid oluşumu izlenmiştir.

Fırıncılık ürünlerinde ısı işlemi termal yükünün azaltılması ile akrilamid oluşumunun azaldığı çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Fakat düşük sıcaklıkta yüzey esmerleşmesi ve aroma bileşenlerinin oluşumu bakımından bu uygulama yetersiz olmaktadır. Bunun önüne geçmek için Maillard reaksiyonu ürünleri eklenecek hamurdan elde edilen bisküvilerin son nem miktarının kontrol ile aynı olmasını sağlayacak ısı işlem parametreleri belirlenmesi bu çalışmanın ilk aşaması olarak gerçekleştirilmiştir. Çünkü son nem miktarı bisküvilerin bozulmadan saklanması ve tekstürel özelliklerinin değişmeden kalması için önemli bir parametre olarak ön plana çıkmaktadır.

AACC Metot 10-54'te tanımlanan bisküvi formülasyonu ve ısı işlem koşulları (205°C'de 11 dk) kontrol olarak baz alınmıştır. Çeşitli denemeler ile pişirme sıcaklığının azaltılması ve yeterli nem miktarına ulaşmak için 190, 180 ve 170°C'de uygulanan süre kontrollü olarak artırılarak bisküvilerde son nem miktarı belirlenmiştir. Ölçümler sonucunda elde edilen nem miktarları Şekil 4.2'de verilmiştir.



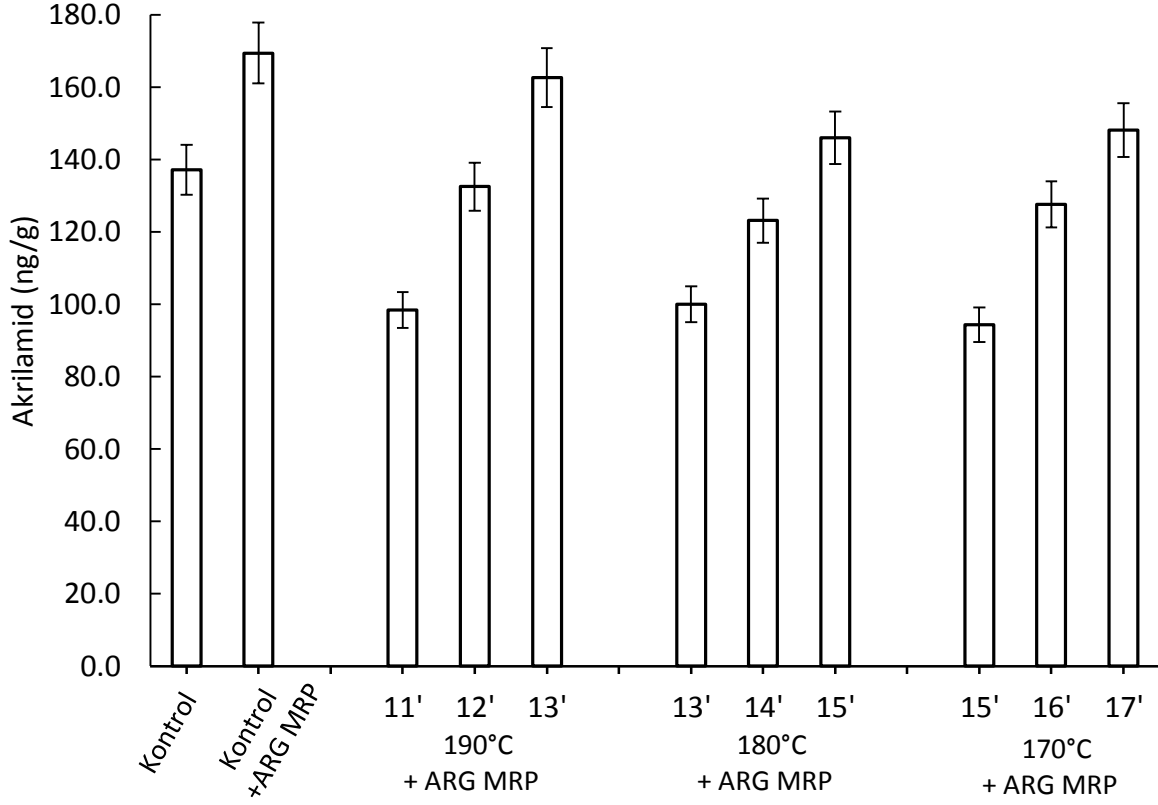
Şekil 4.2. Düşük sıcaklıklarda daha uzun süre ısıtılma ile elde edilen nem oranları

Kontrol bisküvisinde elde edilen nem oranı %7.70 olarak bulunmuştur. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi 190°C'de 11, 12 ve 13 dakika fırınlanan bisküvilerde elde edilen nem oranlarına göre 13. dakikada yeterli oranın (%7.58) yakalandığı görülmüştür. 180°C'de 13, 14 ve 15 dakika boyunca yapılan işlemde ise 13. dakikanın (%7.72) yeterli olduğu belirlenmiştir. 170°C'de ise 15, 16 ve 17 dakika sonunda elde edilen verilere göre 15 dakika ısıtılmanın bu sıcaklıkta yeterli nem oranını (%7.79) elde etmede gerekli olduğu tespit edilmiştir.

ARG-GLC Maillard reaksiyonu ürünü eklenmiş model bisküvilerde farklı sıcaklık ve sürelerde akrilamid miktarının değişimi izlenmiştir. Şekil 4.3'te görüldüğü gibi termal yüke bağlı olarak akrilamid miktarı artış göstermiştir. Bu artış ayrıca süre uzadıkça bisküvilerde kurumanın artması yani son nem miktarındaki düşüş ile yüzey sıcaklığının daha yüksek değerlere erişmesine bağlanabilir.

Kontrol ile aynı sıcaklık ve sürede işlem gören fakat ARG-GLC Maillard reaksiyonu ürünü eklenen örnekte akrilamid miktarı daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$) (Şekil 4.3). Bunun nedeni bu reaksiyon ürünleri karışımında glukozun tamamen tükenmemesinden ve reaktif karbonil olarak akrilamid oluşumunu arttırmıştırdan kaynaklanmaktadır. Bu Maillard reaksiyonu ürününde bulunan glukoz yaklaşık %80

oranında harcanmadan kalmıştır. Buna rağmen düşük termal yük uygulanan bisküvilerde akrilamid miktarı diğerlerinden düşük bulunmuştur ($p<0.01$).

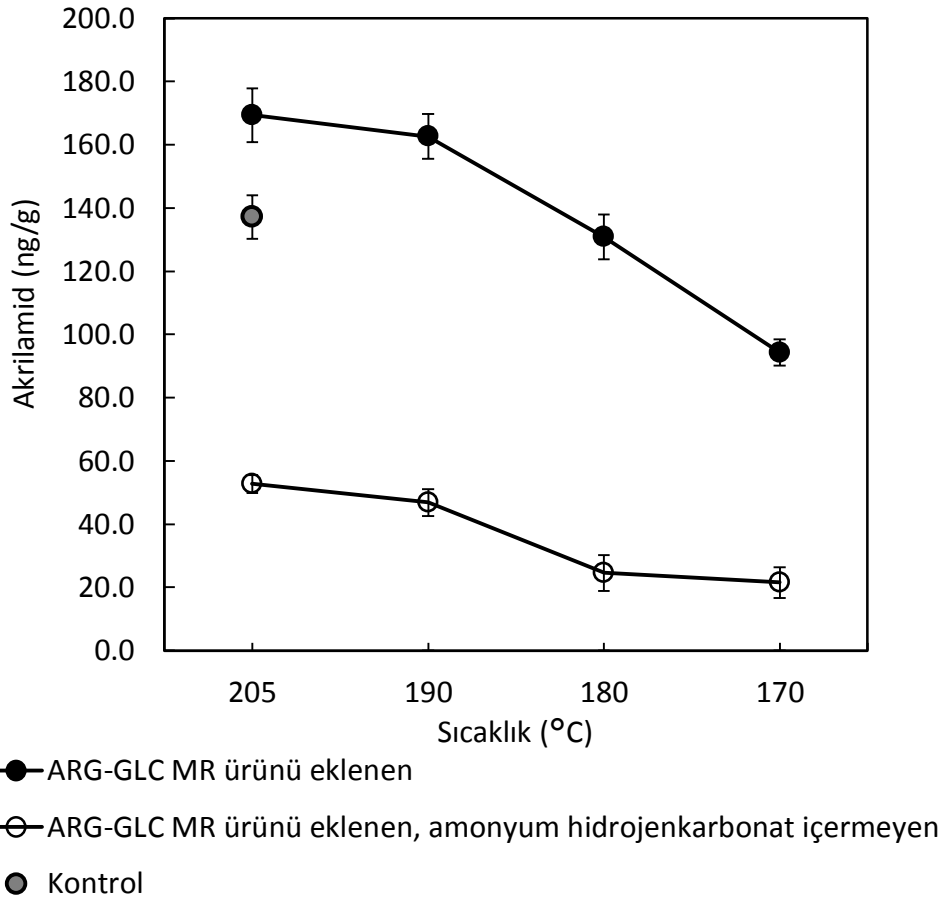


Şekil 4.3. Farklı sıcaklık ve sürelerde model bisküvilerde akrilamid miktarındaki değişim ve kontrollerin kıyaslanması (205°C x 11 dk)

Sıcaklığın düşürülmesi ile akrilamid oluşumunun sınırlandırılması çalışmaları, kontrol ile aynı nem oranına sahip bisküvilerin elde edilebildiği sıcaklık-süreler baz alınarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre ARG-GLC Maillard reaksiyonu ürünü eklenmiş ve 170°C'de 15 dakika boyunca fırınlanmış bisküvide akrilamid miktarının %31.2 azaltılabildiği gözlenmiştir ($p<0.01$) (Şekil 4.4). Bu durumda bisküvinin yüzey rengindeki toplam değişim kontrole göre 3.1 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). 180°C'de fırınlanan bisküvi haricinde akrilamid miktarları kontrolden anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.01$).

Çizelge 4.1. ARG-GLC Maillard reaksiyonu ürünü eklenen bisküvilerde CIE L*a*b* değerleri ve kontrole göre toplam renk değişimi (ΔE) (^a: amonyum hidrojenkarbonat içermeyen örnekler; MRP: ARG-GLC MR ürünü eklenmiş bisküviler)

	L*	a*	b*	ΔE
Kontrol	65.1	7.4	35.8	
205°Cx11' ^a	75.2	2.9	27.5	13.8
205°Cx11' ^a MRP	63.7	8.9	39.6	4.3
190°Cx13' MRP	60.6	9.3	41.6	7.5
190°Cx13' ^a MRP	63.5	8.5	38.2	3.1
180°Cx13' MRP	60.3	7.3	35.3	4.8
180°Cx13' ^a MRP	65.7	4.4	33.2	4.1
170°Cx15' MRP	62.0	7.0	36.2	3.1
170°Cx15' ^a MRP	66.3	4.0	32.5	4.9

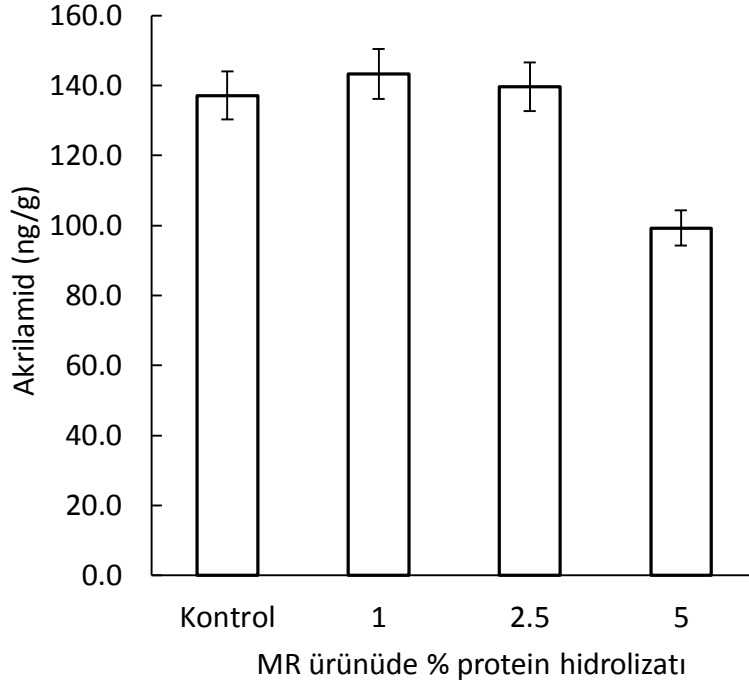


Şekil 4.4. Farklı sıcaklıklarda aynı nem oranına sahip ARG-GLC MR ürünü eklenmiş model bisküvilerde amonyum hidrojenkarbonatın elimine edildiği ve edilmediği durumda gözlenen akrilamid miktarları

Bisküvi formülasyonunda yer alan amonyum hidrojenkarbonat kabarmayı sağlamanın yanı sıra yüzey esmerleşmesinin oluşmasını sağlayan önemli bir bileşendir (Amrein et al. 2004). Amonyum hidrojenkarbonatın bileşimden çıkarılması ile kontrol ile aynı sıcaklık ve sürede (205°C'de 11 dk) yüzey esmerleşmesinde (ΔE) 13.8'lik bir değişim söz konusu olmaktadır. Bu bisküvinin hamuruna eklenen ARG-GLC Maillard reaksiyonu ürünleri ile renkte kontrole göre değişim 4.3 olmaktadır (Çizelge 4.1). Bunun yanında akrilamid miktarı %61.6 azaltılabilmektedir ($p < 0.01$) (Şekil 4.4).

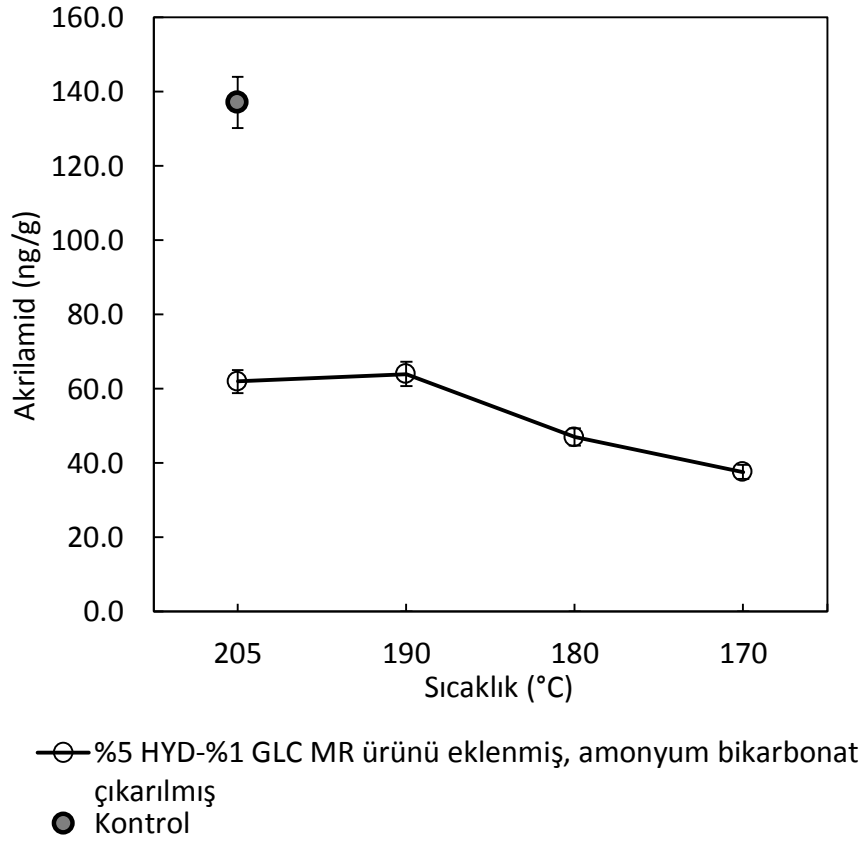
Akrilamid miktarı amonyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ile 190°C'de fırınlanan bisküvide %65.8 azaldığı ve yüzey rengindeki değişimin ise 4.1 olduğu tespit edilmiştir. Benzer formülasyon ile hazırlanan ve 180°C'de fırınlanan bisküvide akrilamid miktarının %82.1 azaldığı ve yüzey rengindeki değişimin ise 4.1 olduğu belirlenmiştir. Sıcaklığın 170°C'ye düşürülmesi sonucunda akrilamid miktarının %84.3 azaldığı bulunmuştur, yüzeydeki esmerleşmedeki değişimin ise 4.9 olduğu bulunmuştur. Hem sıcaklığın azaltılması, hem de amonyum hidrojenkarbonatın elimine edilmesi ile akrilamid miktarının kayda değer miktarda azaltılabildiği görülmüştür. Amonyum hidrojenkarbonatın elimine edildiği ve arjinin ile hazırlanan Maillard reaksiyonu ürünü eklenen tüm örneklerdeki akrilamid miktarları kontrolden anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p < 0.01$).

Farklı miktarlarda soya protein hidrolizatı içeren karışımlar her birinde %1 glukoz içerecek şekilde hazırlanarak, Maillard reaksiyonu ürünleri 100°C'de 12 saat etüvde inkübe edilerek hazırlanmıştır. Elde edilen esmer renkli süspansiyon yine hamura eklenerek bisküviler kontrol ile aynı süre ve sıcaklıkta fırınlanmıştır. Kullanılan soya protein hidrolizatında serbest asparajinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu yüzden hamura eklenen Maillard reaksiyonu ürününden bisküviye serbest asparajin katkısı gelmemektedir. Tümü %1 glukoz ile hazırlanan ve protein hidrolizatı miktarları %1, %2.5, %5 olan Maillard reaksiyonu ürünlerinde sistemde kalan glukoz miktarları sırasıyla %0.81, %0.80 ve %0.73 olarak bulunmuştur. Protein hidrolizatı miktarları %1, %2.5 ve %5 olan Maillard reaksiyonu ürünleri içeren süspansiyonun, eklenen bisküvilerdeki akrilamid oluşumu üzerine etkisi Şekil 4.5'te görülmektedir. Tüm bisküviler 205°C'de 11 dakika boyunca fırınlanmıştır.



Şekil 4.5. %1 Glukoz ile hazırlanan MR ürünlerindeki protein hidrolizatı miktarındaki değişimin eklenen bisküvide (205°Cx11') akrilamid oluşumu üzerine etkisi

Glukoz (%1) ile birlikte %1 ve %2.5 protein hidrolizatı içeren Maillard reaksiyonu ürünleri eklenerek hazırlanan bisküvide kontrole göre akrilamid miktarında sırasıyla %1.82 ve %4.49 artış gözlemlenmiştir (Şekil 4.5). Bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Protein hidrolizatını %5 oranında içeren Maillard reaksiyonu ürünleri ile hazırlanan bisküvide ise kontrole göre %27.60 azalma sağlanmıştır ($p<0.01$). Akrilamid miktarındaki düşük artış yine reaksiyon ürünlerini içeren karışımdaki reaktant olan glukozun tamamen tükenmemesinden kaynaklanmaktadır. Protein hidrolizatı miktarı %5 olduğunda ise glukozun harcanma oranı artmakta buda bisküvide akrilamid oluşumuna önemli bir katkı yapmamaktadır. Ayrıca çeşitli çalışmalarda protein hidrolizatı eklenen karışımlar ile hazırlanan fırıncılık ürünlerinde akrilamid miktarının azaldığı gösterilmiştir (Zhang and Zhang 2007). Kontrol ile aynı koşullarda fırınlanan ve %5'lik protein hidrolizatı karışımı içeren bisküvide akrilamid miktarındaki azalma eklenen hidrolizatın karışımda bulunan karboniller ile asparajin için rekabetçi olarak rol almasından kaynaklanmaktadır. Daha az miktarda karbonilin asparajin ile reaksiyonu sonucu daha az akrilamid oluşumu gözlenmektedir.



Şekil 4.6. Protein hidrolizatı içeren Maillard reaksiyonu ürünü eklenen ve amonyum hidrojenkarbonatın elimine edildiği bisküvilerin farklı sıcaklıklarda fırınlanması ile kontrole göre akrilamid miktarındaki değişim

Amonyum hidrojenkarbonatın formülasyondan çıkarılması ile bisküvilerde akrilamid miktarı kayda değer oranda azaldığından fakat yüzey esmerleşmesi yetersiz kaldığından, % 5 protein hidrolizatı ve %1 glukoz ile hazırlanan Maillard reaksiyonu ürünleri hamura eklenerek düşük sıcaklıklarda fırınlanan bisküvilerde akrilamid miktarındaki değişim Şekil 4.6'te verilmiştir. Bu formülasyona göre hazırlanan ve kontrol ile aynı sıcaklıkta fırınlanan bisküvide akrilamid miktarındaki azalma % 54.78 olarak belirlenmiştir. Yüzey rengindeki değişim ise kontrole göre 3.4 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). Bu formülasyona göre hazırlanan ve 190°C'de 13 dk fırınlanan bisküvinin akrilamid miktarı kontrole göre %53.32 azalmıştır. Yüzey rengindeki değişim ise 4.7 olarak tespit edilmiştir. Bu formülasyona göre hazırlanan ve 180°C'de 13 dk fırınlanan bisküvinin kontrole göre akrilamid miktarındaki azalma %65.72 olarak bulunmuştur. Yüzey rengindeki değişim ise 5.7 olarak belirlenmiştir. Bu formülasyona göre hazırlanan ve 170°C'de 15 dk fırınlanan bisküvinin kontrole

göre akrilamid miktarı %72.57 azalmıştır. Yüzey rengindeki değişim ise 7.4 olarak tespit edilmiştir. Tüm bu ürünlerde akrilamid oluşumunun azalışı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.01$). 205°C ve 190°C'de fırınlanan bu bisküviler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$). 180°C ve 170°C'de fırınlanan bisküvilerinde arasında akrilamid oluşumu bakımından anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

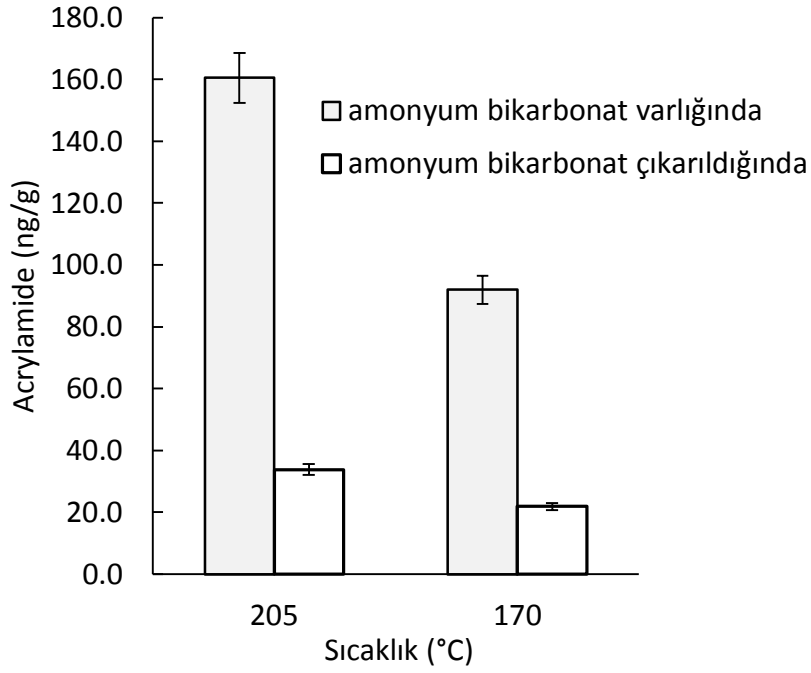
Çizelge 4.2. %5 Protein hidrolizatı- %1glukoz ile hazırlanan Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmiş ve amonyum hidrojenkarbonat eklenmemiş bisküvilerde CIE L*a*b* değerleri ve kontrole göre toplam renk değişimi (ΔE)

	L*	a*	b*	ΔE
205°Cx11'	67.6	7.1	38.1	3.4
190°Cx13'	68.8	5.6	33.5	4.7
180°Cx13'	69.7	6.5	39.0	5.7
170°Cx15'	71.3	6.1	39.7	7.4

Akrilamid miktarının azaltılması ve duyu özelliklerin korunması amacıyla yapılan çalışmada kullanılan diğer Maillard reaksiyonu ürünü de fırında aşırı esmerleştirilerek elde edilen bisküvi kabuğu benzeri üründür. Bisküvi hamuruna eklenecek hale getirmek için iyice öğütülerek, su ile %5'lik süspansiyonu hazırlanmıştır. Amonyum hidrojenkarbonatın eklendiği ve eklenmediği formülasyonlarda 205°C ve 170°C'de fırınlanan bisküvilerde bu esmer renkli süspansiyonun eklenmesi ile akrilamid miktarında gözlenen değişim Şekil 4.7'de verilmiştir.

205°C'de 11 dk fırınlanan, hamuruna undan ve şeker şurubundan (HFCS) elde edilen Maillard reaksiyonu ürünü eklenen bisküvide akrilamid miktarının %17.1 arttığı gözlenmiştir. Kullanılan unda 65.2 µg/g serbest asparajin olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle unda bulunan serbest asparajinin bu Maillard reaksiyonu ürününün hazırlanmasında uygulanan yüksek sıcaklıkta (220°Cx13') oldukça fazla akrilamid (1638 ng/g) oluşturmasıdır. Hamura eklenen ürün nedeniyle bisküvi ısıl işlem öncesi akrilamid ile kontamine olmakta ve son üründe akrilamid miktarı daha fazla bulunmaktadır. Buna rağmen bisküvilerin pişirilmesinde sıcaklığın düşürülmesi ve amonyum hidrojenkarbonatın formülasyondan çıkarılması ile akrilamid oluşumunun sınırlandırılması yoluna gidildiğinde Şekil 4.7'de görüldüğü gibi akrilamid miktarı azaltılabilmektedir. Sıcaklığın 170°C'ye düşürülmesi ile akrilamid oluşumu %32.9

sınırlandırılabilirdiği gözlenmiştir. Ayrıca formülasyondan amonyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ile 205°C'de akrilamid oluşumu %75.3, 170°C'de ise %84.1 azaltılabilmektedir. Kontrole göre tüm örneklerde akrilamid oluşumu açısından anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0.01$). 205°C ve 170°C'de fırınlanan, amonyum hidrojenkarbonatın elimine edildiği bu iki örnek arasında istatistiksel olarak akrilamid oluşumunda anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4.7. Aşırı esmerleştirilmiş bisküvi benzeri ürün ile hazırlanan bisküvilerde akrilamid miktarları

Hamuruna undan ve şeker şurubundan (HFCS) elde edilen Maillard reaksiyonu ürünü eklenen bisküvilerin yüzey rengindeki CIE L*a*b* değerleri ve kontrole göre toplam renk değişimi Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre formülasyondan amonyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ile 205°C 11 dk fırınlanan bisküvide yüzey renginde toplam renk değişimi 12.3 olarak belirlenmiştir. Formülasyondan amonyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ile 170°C'de 11 dk fırınlanan bisküvide ise yüzey renginde toplam renk değişimi 11.8 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Aşırı esmerleştirilmiş bisküvi kabuğu benzeri ürün eklenen bisküvilerde CIE L*a*b* değerleri ve kontrole göre toplam renk değişimi (ΔE) ($^{\alpha}$: amonyum hidrojenkarbonat içermeyen örnekler)

	L*	a*	b*	ΔE
205°Cx11'	75.7	5.2	34.7	10.9
205°Cx11' ^{α}	73.6	3.2	28.1	12.3
170°Cx15'	69.5	3.9	31.4	7.1
170°Cx15' ^{α}	71.9	2.7	27.4	11.8

Bisküvilerde akrilamid, proses kontaminantlarının oluşumu bakımından markör olarak ele alınırsa un ve şeker şurubundan elde edilen Maillard reaksiyonu ürünü bu kontaminantları yüksek miktarda içermektedir. Fakat bu ürün hamura az miktarda eklendiğinde ve akrilamid oluşumunu sınırlandırma stratejileri uygulandığında son üründe akrilamid miktarı daha düşük olmaktadır. Yani bu şekilde hamura termal proses kontaminantı eklense bile son üründe bunun konsantrasyonu kontrole göre çok daha düşük kalmaktadır. Akrilamid oluşumunu sınırlandırma stratejileri sonucu oluşan duyuşal özelliklerin kaybı hem bu ürünün eklenmesi ile azaltılabilmekte, hem de akrilamid oluşumu sınırlandırılabilir.

%5 protein hidrolizatı ve %1 glukoz ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünleri katılmış bisküvilerde yapılan duyuşal analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Duyusal analizde panelistlerden kontrole göre örnekleri karşılaştırmaları istenmiştir. Panelistlere sunulan örnekler; amonyum hidrojenkarbonatın formülasyondan çıkarıldığı, protein hidrolizatı ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmiş 170, 180 ve 190°C'de fırınlanmış bisküvilerden ve sadece amonyum hidrojenkarbonatın formülasyondan çıkarılması ile 170°C'de fırınlanmış bisküviden oluşturulmuştur.

Çizelge 4.4. Protein hidrolizatı ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünü eklenmiş bisküvilerde duyusal analiz sonuçları

	Tat	Koku	Tatlılık	Gevreklik
205°Cx11' (kontrol)	5.00 ^a	5.00 ^a	5.00 ^a	5.00 ^a
170°Cx15' ^a	3.50 ^b	3.88 ^b	3.81 ^b	2.88 ^b
170°Cx15' ^a MRP	5.13 ^a	4.81 ^a	4.63 ^c	4.69 ^c
180°Cx13' ^a MRP	4.81 ^a	4.38 ^c	4.63 ^c	4.38 ^d
190°Cx13' ^a MRP	5.81 ^c	5.63 ^d	4.75 ^c	5.50 ^e

(^a: amonyum hidrojenkarbonat eklenmemiş; MRP: %5 protein hidrolizatı ve %1 glukoz ile hazırlanmış Maillard reaksiyonu ürünleri katılmış örnekler; her bir grupta aynı harflerin bulunduğu değerler arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır, p>0.05)

Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi Maillard reaksiyonu ürünü eklenmeden akrilamid oluşumunun sınırlandırılması için amonyum hidrojenkarbonatın çıkarıldığı 170°C'de fırınlanan örnekte tat, koku, tatlılık ve gevreklik parametrelerinde kontrole göre anlamlı bir düşüş olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Bu örneğe Maillard reaksiyonu eklenerek akrilamid oluşumunun azaltılması sonucunda kontrol ile aynı tat ve koku elde edildiği belirlenmiştir (p>0.05). Tatlılık ve gevreklik değerleri ise kontrole göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur (p<0.05). Amonyum hidrojenkarbonatın çıkarıldığı 180°C'de fırınlanan örneğin tadında kontrole göre anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05), diğer parametreler ise anlamlı olarak farklı bulunmuştur (p<0.05). Benzer hamurdan 190°C'de fırınlanan örnekte ise tat, koku ve gevreklik özellikleri kontrole göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Bu sonuçlara göre Maillard reaksiyonu ürünü eklenmemiş üründe akrilamid oluşumunu sınırlandırma stratejileri uygulandığında tüketici beğenisinde önemli bir düşüş olduğu görülmektedir. Maillard reaksiyonu eklenen bisküvilerde ise bunun önüne geçilebildiği açıkça görülmektedir.

5. ÖNERİLER

Isıl işlem görmüş gıdalarda sağlık açısından risk oluşturan proses kontaminantlarının oluşumu tüketiciler ve endüstri açısından istenmeyen bir durumdur. Bisküvi ve benzeri fırıncılık ürünlerinin tüketiminin yüksek olması içerdiği akrilamid nedeniyle önem kazanmaktadır. Fırıncılık ürünlerinde akrilamid oluşumunun sınırlandırılması için çeşitli yöntemler geliştirilmiş olmasına rağmen bazı durumlarda tüketici beğenisi ve kabul edilebilirliği açısından olumsuz sonuçlar alınmaktadır. Bu stratejilerinin uygunluğu tat, koku ve renk gibi duyuşal özelliklerin korunumuna bağılıdır.

Bu tez çalışması ile bisküvilerde formülasyonun ve proses parametrelerinin değıştirilmesi ile akrilamid oluşumu duyuşal özellikler korunarak sınırlandırılmıştır. Maillard reaksiyonu ürünleri ısıl işlem gören gıdalarda oluşan doğal bileşenlerdir ve çeşitli uygulamalar ile gıdalarda doğal katkı maddesi olarak kullanılabilirler. Bu çalışmada duyuşal özelliklerin kaybının ortadan kaldırılması için Maillard reaksiyonu ürünlerinin kullanılabilirliği gösterilmiştir. Fırıncılık ürünlerinde yüzey esmerleşmesi işlemin son aşamasında gerçekleşmektedir. Bu çalışmada gösterilen yöntem ile hamur oluştururken esmerleşmenin bir kısmının sağlanabildiğı ve son üründe arzu edilen duyuşal özelliklerin daha düşük termal yük ve farklı formülasyon ile gerçekleştirilebileceğı gösterilmiştir.

Bisküvilerin fırınlanma sıcaklığının 205°C'den 170°C'ye düşürülmesi ve aynı nem oranının elde edilmesi için sürenin uzatılması sonucunda akrilamid oluşumunda %30 azalma gözlenmiştir. Formülasyondan sodyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ve sıcaklığın düşürülmesi ile akrilamid oluşumunun sınırlandırılması %80 geçen oranlarda sağlanabilmiştir. Yüzeyde renk esmerleşmesi de bu yöntem ile başarı ile sağlanabilmektedir. 205°C'de fırınlanan bisküvilerde formülasyondan amonyum hidrojenkarbonatın çıkarılması ile yüzeyde ki toplam renk farkı (ΔE) kontrole göre 13.8 olmaktadır. Bu bisküvinin hamuruna Maillard reaksiyonu ürünü eklenmesi ile yüzeydeki toplam renk farkının kontrole göre 4.3'e düştüğü gösterilmiştir. Duyuşal analiz sonuçlarında ise Maillard reaksiyonu ürünleri eklenmeden akrilamid azaltılma yoluna gidildiğinde tüketici kabul edilebilirliğinin oldukça azaldığı belirlenmiştir. Maillard reaksiyonu ürünleri eklenerek yapılan formülasyonda ise duyuşal özelliklerin oldukça geliştiğı belirlenmiştir.

Amino asit, protein hidrolizatı ve un olmak üzere üç farklı amin kaynağından oluşturulan Maillard reaksiyonu ürünlerinin bisküvi bileşimine eklenerek akrilamid oluşumunun sınırlandırılmasında ortaya çıkan duyusal özelliklerin kaybını engellediği bu tez çalışması kapsamında gösterilmiştir. Bu yöntemin endüstriyel ölçekte uygulanabilirliği yöntemin basitliği açısından mümkün görülmektedir.

Termal proses kontaminantlarının oluşumunun sınırlandırılması endüstri ve gıda bilimi açısından büyük önem taşımaktadır. Gıda endüstrisinin önde gelen firmalarının üründe akrilamid miktarının azaltılması üzerine ortak görüşü, son ürün duyusal özelliklerini etkilemeyen ve ürün maliyetini yükseltmeyen çözümlerin geliştirilmesidir. Bunu karşılayan uygulamalar ile üründeki akrilamid miktarının %25 civarında azaltılmasının önemli bir başarı olacağı kabul edilmektedir. Bu tez çalışmasında açıklanan yöntem, fırıncılık ürünlerinde Maillard reaksiyonu ile oluşan duyusal özelliklerin hamur oluşturma aşamasında elde edilmesi ve pişirmenin daha düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi sayesinde bisküvilerde akrilamid oluşumunu %80'lere varan oranda azaltabilmektedir.

KAYNAKLAR

- Açar, Ö. Ç., Gökmen, V. (2009). Investigation of acrylamide formation on bakery products using a crust-like model. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(12), 1521-1525.
- Açar, Ö.Ç, 2010, Bisküvi benzeri ürünlerde pişirme sırasında termal proses kontaminantlarının oluşumunun incelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara
- Açar, Ö.Ç., Pollio M., Monaco, R.D., Fogliano, V., Gökmen, V. (2010). "Effect of Calcium on Acrylamide Level and Sensory Properties of Cookies" *Food Bioprocess Technology*. DOI:10.1007/s11947-009-0317-5
- Ahn, J. S., Castle, L., Clarke, D. B., Lloyd, A. S., Philo, M. R., Speck, D. R. (2002). Verification of the findings of acrylamide in heated foods. *Food Additives and Contaminants*, 19(12), 1116-1124.
- Amrein, T. M., Andres, L., Manzardo, G. G. G., Amado, R. (2006). Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10253-10261.
- Amrein, T. M., Schonbachler, B., Escher, F. E., Amado, R. (2004). Acrylamide in gingerbread. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 227, U43-U43.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4 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.
- Blank, I. (2005). Current status of acrylamide research in food: Measurement, safety assessment, and formation. *Maillard Reaction: Chemistry at the Interface of Nutrition, Aging, and Disease*, 1043, 30-40.
- Braaten, E. B., 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(8), 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.
- Capuano, E., Ferrigno, A., Acampa, I., Serpen, A., Acar, O. C., Gokmen, V., Fogliano, V. (2009). Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide

- formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Research International*, 42(9), 1295-1302.
- Claus, A., Carle, R., Schieber, A. (2008). Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science*, 47(2), 118-133.
- Claus, A., Weisz, G. M., Kammerer, D. R., Carle, R., Schieber, A. (2005). A method for the determination of acrylamide in bakery products using ion trap LC-ESI-MS/MS. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(10), 918-925.
- Cook, D. J., Channell, G. A., Taylor, A. J. (2005). On line monitoring of acrylamide formation. *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, 561, 303-316.
- 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.
- Cronin, K., Preis, C. (2000). A statistical analysis of biscuit physical properties as affected by baking. *Journal of Food Engineering*, 46(4), 217-225.
- Dearfield, K. L., Douglas, G. R., Ehling, U. H., Moore, M. M., Sega, G. A., Brusick, D. J. (1995). Acrylamide - a Review of Its Genotoxicity and an Assessment of Heritable Genetic Risk. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 330(1-2), 71-99.
- Doerge, D. R., Young, J. F., McDaniel, L. P., Twaddle, N. C., Churchwell, M. I. (2005a). Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in B6C3F(1) mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 202(3), 258-267.
- Doerge, D. R., Young, J. F., McDaniel, L. P., Twaddle, N. C., Churchwell, M. I. (2005b). Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in Fischer 344 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 208(3), 199-209.
- Elmore, J. S., Koutsidis, G., Dodson, A. T., Mottram, D. S., Wedzicha, B. L. (2005). Measurement of acrylamide and its precursors in potato, wheat, and rye model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 1286-1293.
- Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4504-4526.
- Friedman, M., Levin, C. E. (2008). Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6113-6140.
- 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(11), 762-771.
- Girma, K. B., Lorenz, V., Blaurock, S., Edelmann, F. T. (2005). Coordination chemistry of acrylamide. *Coordination Chemistry Reviews*, 249(11-12), 1283-1293.

- Gökmen, V., Acar, O. C., Koksel, H., Acar, J. (2007). Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chemistry*, 104(3), 1136-1142.
- Gökmen, V., Palazoglu, T. K., Senyuva, 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(4), 972-976.
- Gökmen, V., Senyuva, H. Z. (2007). Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 103(1), 196-203.
- Gökmen, V., Süğüt, İ., 2007, A non-contact computer vision based analysis of color in foods, *International Journal of Food Engineering*, 3(5), Article 5.
- 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(15), 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(16), 5933-5938.
- Hodge, J. E. (1953). Dehydrated Foods - Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(15), 928-943.
- Hogervorst, J. G., Schouten, L. J., Konings, E. J., Goldbohm, R. A., van den Brandt, P. A. (2007). A prospective study of dietary acrylamide intake and the risk of endometrial ovarian, and breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16(11), 2304-2313.
- Hogervorst, J. G. F., Baars, B. J., Schouten, L. J., Konings, E. J. M., Goldbohm, R. A., van den Brandt, P. A. (2010). The carcinogenicity of dietary acrylamide intake: A comparative discussion of epidemiological and experimental animal research. *Critical Reviews in Toxicology*, 40(6), 485-512.
- IARC. (1994). Acrylamide. *Iarc Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans - Vol 60*, 60, 389-433
- IRMM, (2006). Acrylamide database, Institute for Reference Materials and Measurements, <http://irmm.jrc.ec.europa.eu/html/activities/acrylamide/index.htm>.
- Izzo, H. V., Ho, C. T. (1992). Ammonia Affects Maillard Chemistry of an Extruded Autolyzed Yeast Extract - Pyrazine Aroma Generation and Brown Color Formation. *Journal of Food Science*, 57(3), 657-&.
- JECFA, (2005). Summary and Conclusions of Sixty-fourth meeting, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, pp.7-17.
- 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. Y., Choi, D. S., Ju, J. W. (2003). A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in french fries. *Journal of Food Science*, 68(4), 1287-1290.
- Knorr, D. (2007). *Thermal Processing of Food: Potential Health Benefits and Risks*. In G. Eisenbrand, K. H. Engel, A. Hartwig, D. Knorr (Eds.). Bonn: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGoA.
- Koutsidis, G., De la Fuente, A., Dimitriou, C., Kakoulli, A., Wedzicha, B. L., Mottram, D. S. (2008). Acrylamide and pyrazine formation in model systems containing asparagine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6105-6112.
- Levine, R. A., Smith, R. E. (2005). Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4410-4416.
- Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., Dodson, A. T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419(6906), 448-449.
- Mundt, S., Wedzicha, B. L. (2007). A kinetic model for browning in the baking of biscuits: Effects of water activity and temperature. *Lwt-Food Science and Technology*, 40(6), 1078-1082.
- Olesen, P. T., Olsen, A., Frandsen, H., Frederiksen, K., Overvad, K., Tjonneland, A. (2008). Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish Diet, Cancer and Health study. *International Journal of Cancer*, 122(9), 2094-2100.
- Palazoglu, T. K., Gokmen, V. (2008). Reduction of acrylamide level in French fries by employing a temperature program during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6162-6166.
- Pollien, P., Lindinger, C., Yeretjian, C., Blank, I. (2003). Proton transfer reaction mass spectrometry, a tool for on-line monitoring of acrylamide formation in the headspace of Maillard reaction systems and processed food. *Analytical Chemistry*, 75(20), 5488-5494.
- 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.
- Robert, F., Vuataz, G., Pollien, P., Saucy, F., Alonso, M. I., Bauwens, I., Blank, I. (2005). Acrylamide formation from asparagine under low moisture Maillard reaction conditions. 2. Crystalline vs amorphous model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4628-4632.
- Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L., & Tornqvist, M. (2003). Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 7012-7018.

- Sablani, S. S., Marcotte, M., Baik, O. D., Castaigne, F. (1998). Modeling of simultaneous heat and water transport in the baking process. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 31(3), 201-209.
- Schieberle, P., Kohler, P., Granvogl, M. (2005). New aspects on the formation and analysis of acrylamide. *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, 561, 205-222.
- 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., Lineback, D. R. (2009). *Process Induced Food Toxicants*. In). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- 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.
- 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(7), 2047-2051.
- Taeymans, D., Wood, J., Ashby, P., Blank, I., Studer, A., Stadler, R. H., Gonde, P., Van Eijck, P., Lalljie, S., Lingnert, H., Lindblom, M., Matissek, R., Muller, D., Tallmadge, 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(5), 323-347.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Tornqvist, M. (2000). Acrylamide: A cooking carcinogen? *Chemical Research in Toxicology*, 13(6), 517-522.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Tornqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4998-5006.
- Vass, M., T.M. Amrein, et al. (2004). "Ways to reduce acrylamide formation in cracker products." *Czech Journal of Food Science*, 22, 19-21.
- Wedzicha, B. L., Mottram, D. S., Elmore, J. S., Koutsidis, G., Dodson, A. T. (2005). Kinetic models as a route to control acrylamide formation in food. *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, 561, 235-253.
- Yaylayan, V. A., Wnorowski, A., Locas, C. P. (2003). Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1753-1757.
- 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(5), 521-542.

Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., Gruber, D. C., Morsch, T. R., Strothers, M. A., Rizzi, G. P., Villagran, M. D. (2003). Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4782-4787.

EKLER

EK 1. Ortalama renk değeri belirlenmesinde kullanılan MATLAB kodu

```
RGB=imread('image.jpg');
RGB=im2double(RGB);
Z=roipoly(RGB);
[d1,d2]=size(Z);
c=0;
L=[];
for a=1:d1
    for b=1:d2
        if Z(a,b)==1
            n=1;
            c=c+1;
            L(n,c)=a;
            n=2;
            L(n,c)=b;
            end
        end
    end
end
cform = makecform('srgb2lab');
lab = applycform(RGB,cform);
P=[];
for n=1:c
    P(n,:)=impixel(lab,L(2*n),L(2*n-1));
end
roil=[];roia=[];roib=[];
sum_l=0;sum_a=0;sum_b=0;
for n=1:c
    sum_l=sum_l+P(n,1);
    sum_a=sum_a+P(n,2);
    sum_b=sum_b+P(n,3);
end
roil=sum_l/c;
roia=sum_a/c;
roib=sum_b/c;
Lab__value=[roil roia roib]
close all
```

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tolgahan KOCADAĞLI

Doğum Yeri : Balıkesir

Doğum Yılı : 1984

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1995 - 2002 Ayvalık Anadolu Lisesi, Ayvalık, Balıkesir

Lisans 2003 - 2008 Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankara

Yabancı Dil: İngilizce, İtalyanca

İş Tecrübesi:

2010- ... Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü