

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FARKLI TAHILLARDAN ÜRETİLEN MALT**  
**UNLARININ AKRİLAMİD**  
**DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Zeynep KÜÇÜK**

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih: 20.07.2009**

**Tez Danışmanı:**

**Yrd. Doç. Dr. N. Barış TUNCEL**

**ÇANAKKALE**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

Zeynep KÜÇÜK, tarafından Yrd. Doç. Dr. N. Barış TUNCEL yönetiminde hazırlanan “FARKLI TAHILLARDAN ÜRETİLEN MALT UNLARININ AKRİLAMİD DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

.....  
**Yrd. Doç. Dr. N. Barış TUNCEL**  
.....

Jüri Başkanı

.....  
Yrd. Doç. Dr. Emin YILMAZ  
.....

Jüri Üyesi

.....  
Doç. Dr. Yusuf DİLGİN  
.....

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 20/07/09

Prof. Dr. Neşet AYDIN

.....  
Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından 2009/80 no'lu proje ile desteklenmiştir.

## **İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI**

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca gösterdiği üstün sabır ve gayretle bu çalışmayı ortaya çıkarmama büyük yardımları olan, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili danışmanım **Yrd. Doç. Dr. Barış TUNCEL**'e

Çalışmamın her aşamasında yardım ve desteğini gördüğüm ve birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili arkadaşım, **Arş. Gör. Neşe YILMAZ**'a

Tezimin renk analizleri için, gerekli ortam ve koşulları sağlayan, analizler boyunca yardımını gördüğüm sevgili hocam **Yrd. Doç. Dr. Habib KOCABIYIK** ve **Arş. Gör. Mehmet Burak BÜYÜKCAN**'a

Çalışmamın önemli bir bölümünü oluşturan kromatografik analizlerimin yapılmasında büyük yardımlarını gördüğüm SEM laboratuvar A.Ş. çalışanlarından kimya mühendisi **Sn. Timur KARADAĞ** ve kimya mühendisi **İrfan ÜNLÜSAYIN**'a

İstatistiksel analizlerimin yapılması ve yorumlanmasında desteğini gördüğüm sevgili hocam **Doç. Dr. Mehmet MENDEŞ**'e

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen ve çalışmalarım boyunca her anlamda yanımda olan aileme ve emeği geçen herkese, Teşekkürlerimi sunarım.

**Zeynep KÜÇÜK**

**Temmuz, 2009**

## **SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ**

**ACN:** Asetonitril

**ADI:** Kabul Edilebilir Günlük Alım Dozu

**DNA:** Deoksiribonükleik Asit

**EPA:** Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı

**FAO:** Dünya Gıda ve Tarım Örgütü

**FDA:** Amerikan Gıda ve İlaç Örgütü

**GC-MS:** Gaz Kromatografisi ve Kütle Spektrometresi

**HPLC:** Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

**IARC:** Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü

**IS:** Internal (iç) Standart

**JECFA:** Gıda Katkıları Birleşik Uzman Komitesi

**LC/ESI-MS:** Sıvı Kromatografisi ve Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometresi

**LOAEL:** Gözlenmemiş En Düşük Ters Etki Seviyesi

**MeOH:** Metanol

**NFA:** Norveç Gıda Ajansı

**NOAEL:** Gözlenemeyen Yan Etki Seviyesi

**PPM:** Milyonda Kısım

**PPB:** Milyarda Kısım

**SPE:** Katı Faz Ekstraksiyon

**USEPA:** Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

**UV:** Ultraviyole Işımlar

**V:** Volt

**WHO:** Dünya Sağlık Örgütü

## ÖZET

### FARKLI TAHILLARDAN ÜRETİLEN MALT UNLARININ AKRİLAMİD DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Zeynep KÜÇÜK

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. N. Barış TUNCEL

20.07.09, 52 s.

Bu çalışmada laboratuvar koşullarında üretilen buğday, arpa ve çavdar maltlarının akrilamid miktarları belirlenmiştir. Bütün malt çeşitleri, 250 °C’de sabit sıcaklıkta ve yedi farklı sürede (10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 dakika) kavularak üretilmiştir. Malt unlarının renk değerleri belirlenerek akrilamid miktarları arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Akrilamid analizleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve sıvı kromatografi-elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (LC/ESI/MS) yöntemleriyle belirlenmiş, her iki yöntemin karşılaştırılması yapılmıştır.

LC/ESI/MS metodu ile ölçülen akrilamid değerlerine kavurma süresinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek akrilamid miktarı 10 dakikalık kavurma süresine ait malt örneklerinde gözlenirken, süre uzadıkça akrilamid miktarlarında azalma tespit edilmiştir. Renk değerlerinden  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerleri ile kavurma süreleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur.

HPLC sonuçlarına göre tahıl çeşidi ve kavurma süresi interaksyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek akrilamid miktarı 15 dakika kavruan buğday maltında görülürken, en düşük akrilamid miktarı 40 dakika kavruan buğday ve arpa maltlarında tespit edilmiştir. Her iki yöntemle de elde edilen akrilamid değerlerinin benzer olduğu gözlenmiş, uygulanan yüksek sıcaklık ve proses süresinin uzamasıyla akrilamid miktarında parçalanmaya bağlı bir azalış tespit edilmiştir. Tüm tahıl türlerinden elde edilen  $a^*$  renk değeri ile akrilamid miktarı arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar, buğdaydan elde edilen malt unlarının akrilamid miktarının, diğer tahıllardan elde edilen maltha nispetle yüksek olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Akrilamid, malt unu, sıcaklık, renk.

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF ACRYLAMIDE AMOUNT OF MALT FLOURS OBTAINED FROM DIFFERENT CEREAL SPECIES

Zeynep KÜÇÜK

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Food Engineering Division, Thesis of Master of Science

Advisor: Assist. Prof. Dr. N. Barış TUNCEL

20.07.09, 52 p.

Acrylamide amount of wheat, barley and rye malts produced in laboratory conditions were determined in this study. Malts were produced by roasting at constant temperature of 250 ° C for 7 different times (10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 minutes). The relationship between the amount of acrylamide and the color of malt flour was determined. Acrylamide analysis was performed with high pressure liquid chromatography (HPLC) and liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometer (LC/ESI/MS) and comparison of the stated analytical methods was made.

The effect of roasting time on acrylamide amount which analysed by LC/ESI/MS method was found statistically significant. The highest acrylamide amount was observed at malt flours roasted for 10 minutes. However, acrylamide amount was decreased by prolonged process time. Positive correlation was determined between the color characteristics of  $L^*$ ,  $b^*$  and chroma with roasting time.

The interaction between cereal species and roasting time was found statistically significant according to the HPLC results. The highest acrylamide amount which analysed by HPLC method was found in wheat malt roasted for 15 minutes while the lowest one was wheat and barley malts roasted for 40 minutes. Positive correlation was determined between the color characteristics of  $a^*$  and acrylamide amount of all evaluated cereal species. The data obtained from HPLC and LC/ESI/MS methods were similar. It was found out that acrylamide was tend to be reduced due to high temperature and long process time. Consequently, due to the results obtained from two methods, acrylamide amount of wheat malt found significantly higher than malts made from other cereal species.

**Keywords:** Acrylamide, malt flour, temperature, colour.

## İÇERİK

Sayfa

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ .....       | ii  |
| İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI ..... | iii |
| TEŞEKKÜR.....                        | iv  |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....        | v   |
| ÖZET .....                           | vi  |
| ABSTRACT.....                        | vii |

## BÖLÜM 1 – GİRİŞ .....1

|  |    |
|--|----|
| 1.1. Akrilamidin Kimyasal Yapısı .....           | 3  |
| 1.2. Akrilamidin Fizyolojik Etkileri.....        | 4  |
| 1.3. Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizması..... | 6  |
| 1.4. Akrilamid Günlük Alım Değerleri.....        | 8  |
| 1.5. Akrilamid Analiz Metotları.....             | 9  |
| 1.6. Malt Unu.....                               | 10 |
| 1.6.1. Malt Unu Elde Edilişi.....                | 12 |

## BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....14

|   |    |
|---|----|
| 2.1. Akrilamidin Kantitatif Analizine Yönelik Yapılan Çalışmalar..... | 14 |
| 2.2. Tahıllarda Akrilamid Oluşumuna Etki Eden Faktörler.....          | 16 |
| 2.2.1. Gıda Kompozisyonu.....   | 16 |
| 2.2.2. Proses Durumu ve Sıcaklık.....                                 | 18 |
| 2.3. Akrilamidle İlgili Mevzuat ve Standartlar.....                   | 20 |

## BÖLÜM 3- MATERYAL VE YÖNTEM.....22

|   |    |
|---|----|
| 3.1. Materyal.....  | 22 |
| 3.2. Yöntem.....  | 22 |
| 3.2.1. Tahılların Malt Unu Üretimi İçin Hazırlanması..... | 22 |
| 3.2.2. Malt Unununun Kavrulması.....                      | 22 |
| 3.2.3. Deneme Planı.....                                  | 23 |



|   |           |
|---|-----------|
| 3.2.4. Fiziksel Analizler.....  | 23        |
| 3.2.4.1. Renk Tayini.....   | 23        |
| 3.2.5. Enstrumantal Analizler.....  | 24        |
| 3.2.5.1. Akrilamidin Ekstraksiyonu ve Katı Faz Ekstraksiyon<br>(SPE).....   | 24        |
| 3.2.5.2. Akrilamid Miktarının Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi<br>Kullanılarak Belirlenmesi (HPLC) .....          | 24        |
| 3.2.5.2.1. HPLC Analiz Koşulları.....   | 25        |
| 3.2.5.3. Akrilamid Miktarının LC/ESI/MS Kullanılarak Belirlenmesi<br>.....  | 25        |
| 3.2.5.3.1. LC-ESI/MS Analiz Koşulları.....  | 26        |
| 3.2.5.4. İstatistiksel Analizler.....   | 26        |
| <br>  |           |
| <b>BÖLÜM 4- ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>   | <b>27</b> |
| <br>  |           |
| 4.1. HPLC Analizine Ait Bulgular.....   | 27        |
| 4.1.1. HPLC Analizi İçin Akrilamid Konsantrasyonu Hesabı.....   | 27        |
| 4.1.2. HPLC İle Elde Edilen Akrilamid Miktarına Ait Bulgular.....   | 29        |
| 4.2. LC/ESI/MS Analizine Ait Bulgular.....  | 31        |
| 4.3. HPLC ile LC/ESI/MS Metotlarının Karşılaştırılması.....   | 33        |
| 4.4. Malt Unlarının Renk Karakteristiklerine Ait Bulgular.....  | 34        |
| 4.4.1. LC/ESI/MS ile HPLC Yöntemleriyle Elde Edilen Akrilamid<br>Sonuçları ile Renk Değerleri Arasındaki İlişki ..... | 39        |
| <br>  |           |
| <b>BÖLÜM 5- SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>   | <b>43</b> |
| <br>  |           |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>  | <b>49</b> |
| Çizelge Listesi .....   | I         |
| Şekiller Listesi .....  | II        |
| Özgeçmiş.....   | III       |

## **BÖLÜM 1**

### **GİRİŞ**

Akrilamid, ilk kez 1893 yılında Almanya’da Christian Moureau tarafından kimyasal bir bileşik olarak tanımlanmış ve 1952–1954 yılları arasında ticari ve kimyasal amaçlı olarak Almanya’da kullanılmıştır (Anonim, 2004).

Akrilamidin polimer formu; boya sentezinde, baraj temellerinde, tünel ve kanalizasyonlarda yoğun olarak kullanılırken; monomer formunun bilim adamları tarafından moleküler biyoloji ile genetik mühendisliği alanlarında elektroforez jelinin hazırlanmasında kullanımı görülmüştür (Tornqvist ve ark., 2002).

Endüstriyel ve laboratuvar kullanımının haricinde, son yıllarda günlük diyetle yer alan gıdalarda da yüksek miktarlarda akrilamid tespit edilmiştir. Bu bulgular, Nisan 2002 tarihinde İsveç Ulusal Gıda Dairesi ve Stockholm Üniversitesi tarafından karbonhidratça zengin gıdalarda önemli seviyede akrilamid varlığı tespit edilmesi ile doğrulanmıştır (Anonim, 2002a). Aynı bulgular bu tür gıdalarla beslenen hayvanların yemlerinde de tespit edilmiştir (Tareke, 2000).

İsveçli araştırmacılar tarafından akrilamidin tespiti, dünyanın ilgisini bu konu üzerine çekmiş ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından bazı nörotoksik ve kanserojenik etkiler gösterdiği ispatlanan akrilamid, insanlar için olası kanserojen olarak 2A grubunda sınıflandırılmıştır (Anonim, 1994). Akrilamidin bu kategoride yer alması Dünya Sağlık Örgütü başta olmak üzere birçok kuruluşun dikkatini bu konu üzerine çekmiştir. Akrilamidin özellikle günlük diyetin başlıca öğelerini oluşturan karbonhidratça zengin gıdalarda yer alması bu konunun araştırılması gerekliliğini bir kez daha vurgulamıştır (Tareke, 2002).

Konunun bilim dünyasına girişi ise 1997 yılında İsveç’te gerçekleştirilen bir tünel inşaatı sırasında yaşananlara dayanmaktadır. Stockholm Üniversitesi tarafından, Güney İsveç’te (Halandsa) meydana gelen bir tünel kazasında, çalışan işçiler üzerinde yapılan incelemede, işçilerin kanında akrilamid ve hemoglobin arasında oluşan spesifik bir reaksiyon ürünü tespit etmişlerdir. İlk etapta bulunan reaksiyon ürününün sigara içmeyen işçilerde de görülmesinden dolayı kaynak tam olarak açıklanamamıştır. Ancak daha sonra

tünel duvarlarının incelenmesi ile akrilamidin gıda kaynaklı olmadığı, bu duvarların inşaatı sırasında nehir yatağından kaynaklı su sızıntısını engellemek amacıyla, bağlayıcı harca su tutucu özelliğinden dolayı katılan akrilamidle ilgili olduğu anlaşılmıştır (Törnqvist ve ark., 1997).

İsveç'te 1400 ton dolgu maddesinin tünel duvarlarında kullanımı sonucu, arazi ve su kaynakları, toksik bir kimyasal olan akrilamidle kontamine olmuş ve bu durum ulusal bir skandal olarak duyurulmuştur. Tünelde çalışan işçilerde akrilamidin nörotoksik özelliğinden dolayı uyuşukluk, halsizlik gibi durumlar görülmeye başlanmıştır.

Son olarak, Kasım 1997 tarihinde güneybatı İsveç'in Bjare yarımadasında yaşayan İsveçliler, ineklerinin felç olup ölmesi ve balıkların besleme havuzunda ölü bir şekilde bulunması üzerine durumdan endişe duymaya başlamışlardır. Yaşanılan gelişmeler sonucunda yapılan incelemede çevreye büyük miktarda akrilamid sızdığı ve bu sızıntının çevrede büyükbaş hayvan ve balık ölümlerine neden olduğu görülmüştür. Bu durum halkta panik yaratmış ve bu bölgeden elde edilen süt ve ürünleri dökülmüş, sebzeler tarlada bozulmaya bırakılmış, büyükbaş hayvanlar imha edilmiştir. Buna ek olarak, konuyla ilgili hiçbir ölüm haberi alınmamasına rağmen, sağlık üzerine uzun süreli olumsuz etki göstermesinden dolayı, yayılan akrilamidin çevrede yaşayan insanları ve inşaatı çalışan personeli de etkilediği düşünülmüş, yapılan analizlerde bireylerin kanında akrilamidin hemoglobinin ile reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan bazı katılma ürünlerine rastlandığı rapor edilmiştir (Hagmar ve ark., 2001). Bölgede yaşayan insanların, hayvanların ve üretilen gıda maddelerinin akrilamid şüphesi ile analizi, dikkatlerin geriye dönük olarak insanlardaki olası akrilamid maruziyetine yönelmesine yol açmıştır (Törnqvist, 2005a).

Konuyla ilgili olarak, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'nın yaptığı araştırmada, günlük vücut ağırlığının her kg'ı için  $4,5 \times 10^{-3}$  akrilamid alan farelerde, maruz kalma oranına bağlı olarak bütün tümör çeşitlerinde istatistiksel bir artış görülmüştür (Anonim, 1993).

Aynı şekilde laboratuvar çalışanları ile tünel benzeri yerlerde çalışan işçilerde akrilamide maruz kalma oranının çok yüksek olduğu bu değer günde 80–100  $\mu\text{g}$ ' a kadar yükselebildiği rapor edilmiştir (Bergmark, 1997; Törnqvist ve ark., 1998).

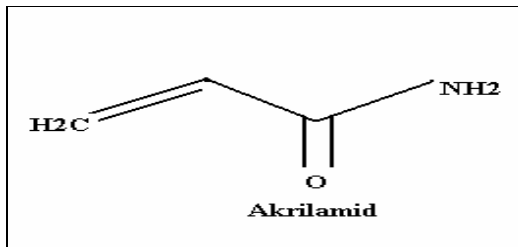
Yapılan bu çalışmalardan elde edilen bulgular, akrilamidin endüstriyel kaynaklar yanında gıda kaynaklı alımının da önem arz ettiğini göstermiştir. Gıdalarda akrilamid oluşumunda sıcaklık ve sürenin önemli bir etkisi olduğu bilindiğinden dolayı, yüksek sıcaklık muamelesine tabi tutulmuş gıdaların insanlar tarafından tüketimi önem kazanmıştır. Özellikle patates ve tahıl gibi yüksek nişasta içeriğine sahip gıdalarla, kahve gibi kavrulmuş ürünler akrilamid alımında ana kaynaklar olarak bilinmektedir (Murkovic, 2004).

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmanın amacı, malt unlarında kavurma sıcaklığı ve süresinin etkisiyle oluşan akrilamid miktarını tespit edip, malt üretiminde kullanılan tahıl çeşidi ve kavurma süresinin akrilamid oluşumuna etkisini belirlemektir. Akrilamid konusunda başta patates ve tahıl kaynaklı ürünler olmak üzere birçok üründe inceleme yapılmış, ancak malt ununda akrilamid oluşumu ile ilgili çok az sayıda literatüre rastlanmıştır. Ancak kavrulmuş malt ununda uygulanan sıcaklık ve sürenin akrilamid oluşumunda etkili olduğu bilindiğinden bu araştırmaya gerek duyulmuştur.

### 1.1. Akrilamidin Kimyasal Yapısı

Akrilamid, 2-propenamid olarak bilinen düşük molekül ağırlıklı ve suyu seven bir maddedir. Polaritesi ve düşük molekül ağırlığından dolayı, yapılan izotop deneylerinde, insan ve hayvan vücudunda kolaylıkla etkinlik gösterebildiği tespit edilmiştir (Sumner, 1992).

Akrilamidin diğer isimleri etilen karboksamid, propenoik asit amid, akrilik amid ve vinil amiddir. Molekül formülü  $CH_2=CH-C(=O)-NH_2$  şeklindedir. Akrilamidin molekül yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Akrilamidin Molekül Yapısı (Lützow, 2003).

Molekül ağırlığı 71,08 olan akrilamid, benzenden kristallenmekte ve oda sıcaklığında kokusuz, tatsız, beyaz renkli katı kristaller halinde bulunmaktadır. Bileşiminde % 50,69 karbon, %22,51 oksijen, % 19,71 azot ve % 7,09 hidrojen elementleri bulunmaktadır.

Erime noktası 84,5 °C olup 25 mm Hg basıncına sahip ortamdaki kaynama noktası 125 °C'dir. 25 °C 'deki yoğunluğu 1,127 g.m/L, 20 °C 'deki buhar basıncı 0,007 mm Hg'dir. Sudaki %50'lik (a/h) çözeltisinin pH değeri 5,2–6,0 arasındadır. Yakıcı veya tahriş edici özelliği yoktur. Genel olarak 30 °C suda, metanolde, etanolde, asetonda, etil asetatta, kloroformda, benzende ve heptanda çözünürlüğe sahiptir.

Akrilamid günlük yaşamımızda kullandığımız birçok ürünün içinde farklı şekilde yer alan, monomerik ve polimerik olmak üzere iki formu bulunan, çok yönlü organik bir bileşiktir. Akrilamidin monomerik formu iki farklı fonksiyonel gruba sahiptir. Bu gruplar, elektronca zayıf bir çifte bağ ile bir amid grubu olup kimyasal reaksiyonlara bu gruplar aracılığıyla katılmaktadır (Anonim, 2005).

Bu reaksiyonlarının yanı sıra akrilamid, vücutta metabolizasyonu esnasında CYP2E1 enzimi aracılığıyla bir epoksit türeviden olan glisidamide dönüşmektedir.

Glisidamid, akrilamid zararlarının değerlendirilmesi açısından anahtar bir role sahiptir. Bu nedenle, akrilamid toksik etkilerinin büyük bir kısmını bu madde aracılığıyla göstermektedir.

## **1.2. Akrilamidin Fizyolojik Etkileri**

Akrilamidin insanlar ve hayvanlar üzerindeki etkisine yönelik araştırmalar sonucunda, insan sağlığı açısından kanserojenik ve nörotoksik olmak üzere 2 etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Friedman, 2003).

Bununla birlikte akrilamid ve metaboliti glisamidin organizma içinde ve dışında kanserojenik ve genotoksik etkiler gösterdikleri saptanmıştır (Wilson, 2006).

Yapılan hücre çalışmalarında, akrilamid ve glisamidin kromozal yıkımlara ve nokta mutasyonuna neden olduğu görülmüştür. Akrilamid ve glisamidle muamele olmuş, fare ve

insan hücrelerinde A-G ile G-C ve G-T dönüşümlerinde yüksek mutasyon oranı bulunmuştur (Rice, 2005).

2 yıl boyunca yüksek oranda akrilamid içeren suyla (günde 2mg/kg) beslenen farelerde, akrilamidin kanserojenik etkisi araştırılmış ve erkek farelerde tiroid ve testislerde, dişi farelerde ise meme salgı bezleri ile merkezi sinir sisteminde tümör oluşumunda artış görülmüştür (Johnson, 1986; Friedman,1995).

90 gün içme suyu tüketimi sonucu bulunan akrilamid değerleri için gözlenemeyen yan etki seviyesi (NOAEL) vücut ağırlığı üzerinden 200 µg/kg, gözlenmemiş en düşük ters etki seviyesi (LOAEL) 1000 µg/kg olarak rapor edilmiştir (Burek, 1980).

Plazmadaki serbest akrilamid oranı için, hemoglobindeki valin bileşeni ve idrardaki sistein oranı incelendiğinde, insan kanında akrilamid görülme oranını farelere göre 5 kat düşük bulunmuştur (Calleman, 1996).

Akrilamidin yemekle vücuda alınıp idrarla dışarı atılmasına yönelik olarak deneklerin idrarlarında yapılan değerlendirmede; 0,94 mg akrilamid içeren gıdanın vücuda alımından 72 saat sonra %60'ı idrarda bulunmuştur (Fuhr, 2006).

Akrilamidin bütün genotoksik etkisi 25 mg/kg ve üzeri alımlarda görülmüştür. Hemoglobindeki akrilamid bileşenleri sigara içenlerde içmeyenlere göre çok yüksek bulunmuştur. Sigara içmeyenlerdeki akrilamid bileşenlerinin seviyesi, günlük akrilamid oranının az ya da çok olmasına göre 5 kat değişmektedir. Bu bulgular maruz kalan insanlarda akrilamidin bağlayıcı bir molekül olduğunu ve genotoksik etkisinin bulunduğunu göstermiştir.

Akrilamidin bağlayıcı etkisi üzerine yapılan çalışmalarda, insan dokularına ait DNA'larda akrilamidin bağlayıcı etkisi bulunmamışken, insan lenfositlerine ait DNA'larda 0,5-50 µM akrilamid zararı tespit edilmiştir (Blasiak, 2004).

### **1.3. Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizması**

Maillard reaksiyonu ekmek kabuğunda renk ve aroma teşkilinde önemli bir yere sahipken akrilamid gibi toksik bileşenlerin oluşumuna da neden olabilmektedir (Mottram ve ark, 2002; Zyzak, 2003).

Akrilamid, 120 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda asparajinle indirgen şekerler arasında meydana gelen ve maillard reaksiyonu olarak bilinen esmerleşme reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (Friedman ve ark, 2003; Mottram ve ark, 2002).

Asparajin, patates ve tahıllarda aminoasit ve indirgen şekerler arasındaki maillard reaksiyonu üzerinden akrilamid oluşturması nedeniyle esas aminoasit olarak bilinmektedir. Asparajin üzerinden akrilamid teşkili, patates ve tahıl gibi bitkisel kaynaklı ürünlerin yapılarında bu aminoasidi yüksek oranda içermeleri ile açıklanabilir.

Asparajin, dekarboksilasyon ve deaminasyon ile akrilamide dönüşebilir, ancak asparajinin akrilamide dönüşümünde esas gerekli olan madde karbonhidratlardır (Yaylayan, 2003).

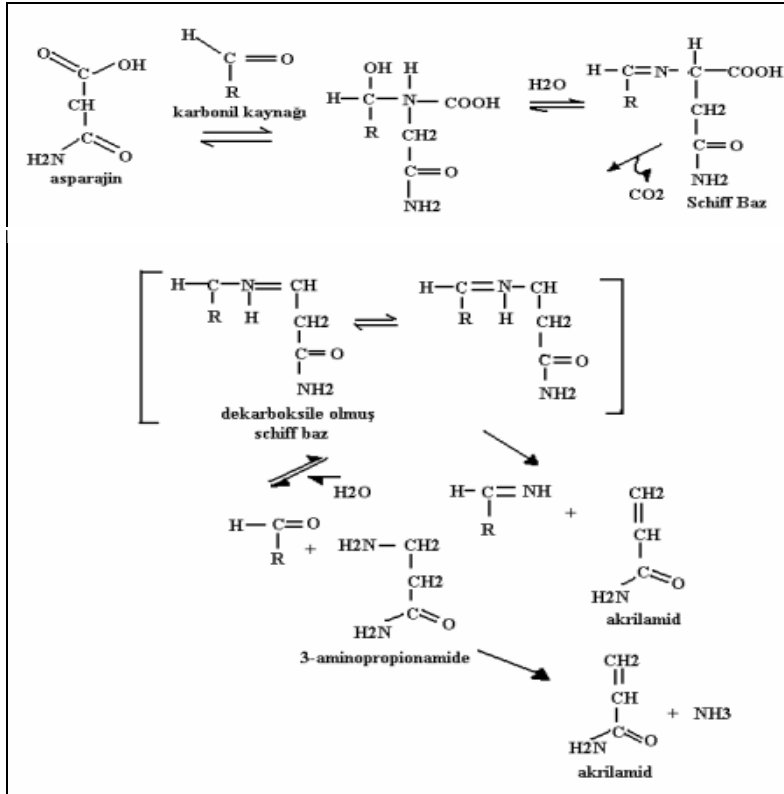
Bazı karbonil kaynaklarının maillard reaksiyonu arttıracığı görülmüştür. Bunlar fruktoz ve glikoz gibi  $\alpha$ -hidroksi karbonil bileşenleri olup aktivasyon enerjisi üzerindeki düşük etkilerinden dolayı diğer bileşenlere kıyasla daha etkilidirler (Yaylayan ve Stadler, 2005).

Bunun yanında glioksal gibi şeker yıkım ürünleri de maillard reaksiyonuna neden olmaktadır (Amrein, 2006).

Yapılan çalışmalarda pişmiş gıdalarda indirgen şeker ve karbonil kaynaklarından sonra aminoasit, asparajin ve amidlerin de akrilamid oluşumunda önemli yere sahip olduğu görülmüştür. Dekarboksile olmuş asparajinin (3-aminopropionamide) ısıtma uygulandığında indirgen şeker yokluğunda akrilamid oluşturma kabiliyetine sahip olduğu tespit edilmiştir (Zyzak, 2003).

Akrilamidin maillard reaksiyonu ile oluşumunda ilk basamak, Schiff baz teşkili olup, bu oluşum Amadori ürünlerinin dekarboksilasyonuna alternatif düşük enerji sağlamaktadır. Oluşan Schiff baz parçalanarak 3-aminopropionamide hidrolize olarak buradan akrilamid oluşumu meydana gelmekte ya da Schiff bazdan aradaki 1-2 oluşum elimine edilerek doğrudan akrilamid oluşmaktadır (Granvogl, 2004).

Maillard reaksiyonunda meydana gelen Schiff bazın erken dekarboksilasyonu, Amadori ürünü oluşumuna ve  $\beta$  eliminasyonu sonucu akrilamid oluşumuna neden olmaktadır (Yaylayan, 2003). Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu Şekil 2'de gösterilmiştir.



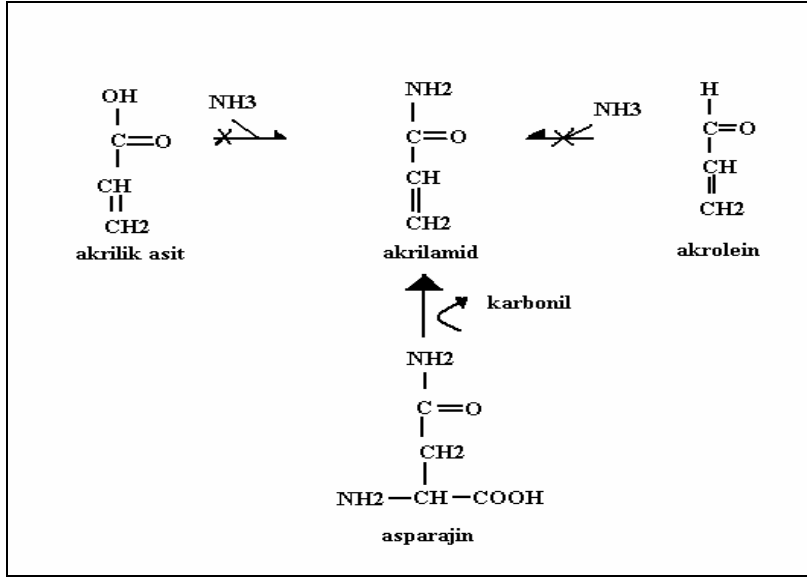
Şekil 2. Maillard Reaksiyonu Üzerinden Akrilamid Oluşumu (Zyzak, 2003).

Gıdalarda akrilamid oluşumu genel olarak maillard reaksiyonu üzerinden meydana gelmekte olup birkaç alternatif yol da bulunmaktadır. Özellikle yağlara uygun olmayan yüksek sıcaklık uygulandığında, gliserolün dehidrasyonu sonucu akrolein ve akrilik asit oluşumu görülmektedir (Becalski, 2003).



Uygun şartlar altında akrolein, asparajinle birlikte dikkate değer oranda akrilamid oluşturmaktadır. Akrolein yapısal olarak akrilamide benzeyen ve kızartma işlemi sırasında yağda oluşan bir maddedir. Ayrıca nişasta, şeker, aminoasit ve proteinlerin sıcaklıkla yıkımı esnasında akrolein oluşumu görülmektedir (Yasuhara, 2003).

Akrilik asit, asparajin ve akrolein üzerinden akrilamid oluşumu Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Akrilik asit, asparajin ve akrolein üzerinden akrilamid oluşumu (Petersen, 2003).

Diğer bir yolda asparajinin Strecker reaksiyonu olup, Strecker aldehit doğrudan veya akrilik asit mekanizması üzerinden akrilamidi meydana getirmektedir (Becalski ve Mottram, 2002; Stadler, 2003).

#### 1.4. Akrilamid Günlük Alım Değerleri

İnsanlarda günlük akrilamid alımı, vücut ağırlığının her 1 kg'ı için 0,5  $\mu\text{g}$ 'ı aşmayacak şekilde ortalama 35  $\mu\text{g}$  seviyesinde olmalıdır (70 kg'lık bir birey için).

Günlük akrilamid alımı Norveçli araştırmacılar tarafından, erkekler ve bayanlar için vücut ağırlığı üzerinden 0,36  $\mu\text{g}$  ve 0,33  $\mu\text{g}$  olarak, 13 yaş civarı erkek ve kız çocuklar için

ise 0,52 µg ve 0,49 µg olarak belirlenmiştir. En yüksek alım 16-30 yaş arası erkeklerde görülmüştür (Anonim, 2002b).

Çocuk ve gençlerde daha yüksek alım değeri ile karşılaşılmasının nedeni, yüksek kalorili gıdalarla birlikte akrilamid bakımından zengin olan patates cipsi ve patates kızartması gibi ürünleri bolca tüketmelerinden kaynaklanmaktadır. Akrilamidin günlük alım değerlerinin üzerinde alınması insan sağlığı açısından tehlikeli olmakla birlikte istenmeyen sonuçlara da yol açmaktadır.

Norveç'te yapılan araştırmalar, patates ürünleri ve kahvenin akrilamid alımının en önemli kaynakları olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalarda akrilamidin diyetle alımı her birey için 31 µg olarak hesaplanmıştır. Patates cipsi, patates kızartması gibi gıdaların günlük akrilamid alımına %36, kahvenin ise %39 oranında bir katkısı olduğu görülmüştür (Perez ve ark., 2000).

Amerika'da Gıda ve İlaç Dairesi tarafından rapor edilen gıdalar üzerinden hesaplama yapılarak, akrilamidin günlük enerji alımına %38, toplam günlük demir alımına %47, günlük folik asit alımına %42 etkisi olduğunu belirlenmiştir. Bunun yanında sigara kullanımının akrilamid alımına etkisi 1–2 µg/sigara şeklindedir (Petersen ve Tran, 2005).

Tüketicilerin günlük diyetlerinde yer alan gıda maddelerinin farklı oranlarda akrilamid içerdiği tespit edilmiştir. Bu gıda maddelerinin farklı porsiyonlarının akrilamid alımına etkisi incelenmiş ve akrilamid alımına yüksek oranda katkısı olan kahvaltılık tahılların 1 kg'ının akrilamid değeri 131 µg/kg iken 55 gr'lık porsiyonda 7,3 µg akrilamid bulunmuştur. Kahve için 1 kg'ının akrilamid değeri 8,5 µg/kg iken 240 gr'lık kahve tüketiminin 3,2 µg akrilamidin vücuda alınmasına neden olduğu rapor edilmiştir (DiNovi ve Howard, 2004).

### **1.5. Akrilamid Analiz Metotları**

Akrilamid monomerini belirlemek için son yıllarda birçok metot geliştirilmiştir. Uygulanan metotların çoğu HPLC ve GC tekniklerine dayanmaktadır. Bahsedilen yöntemler gıda maddelerinin kompleks bir yapıya sahip olmasından dolayı, düşük sıcaklık derecelerinde pişirilen gıdalardaki akrilamid miktarını tespit etmede yeterli olamamaktadır.

Bu metotların seçicilikten yoksun olması da gıda ürünündeki akrilamid miktarının ilave edilen akrilamid standartı ile doğrulanmasını gerektirmektedir.

Bu yöntemlerin hassasiyetini arttırmak açısından, farklı pişirme ve üretim prosesi uygulanan gıdalardaki akrilamid miktarını tespit etmede kullanılan ilk yöntem, izotop dilüsyonuna dayanan LC-MS metodudur. Bu yöntem 2002 tarihinde, pişirilmiş gıdalarda GC-MS ile elde edilen sonuçları doğrulamak amacıyla geliştirilmiştir.

İlerleyen yıllarda bu metotlar dışında akrilamid seviyesini belirlemede birkaç analitik metot daha kullanılmaya başlanmıştır. Uygulanan metotlarda genel analiz tekniği olarak MS kullanılmış, daha sonra kromatografik yöntemle birleştirilerek ya da doğrudan bileşiğin analiz edilmesi sağlanmıştır.

Akrilamid analizi üzerinde çalışan birkaç grup, laboratuarlarda uygulanan akrilamid analizinde GC-MS ve LC-MS kullanımının uygun olacağı üzerinde birleşmişlerdir. Bu 2 metodun güvenilirliği birbirine yakın olmakla birlikte, GC-MS/MS ve LC-MS/MS şeklinde kullanılmaları daha hassas sonuçların elde edilmesini sağlamıştır.

LC-MS/MS metodu akrilamidin türevlendirmeye gerek kalmadan analiz edilebilmesi, basit ve kolay bir analiz imkanı sunması açısından önemlidir. Ayrıca akrilamidin LC ters fazında yüksek polaritesinden dolayı düşük alıkonmasının neden olduğu problem de bu yöntemle minimuma indirilmektedir. GC-MS/MS yöntemi ise laboratuvar kullanımına uygun olması ve kullanımının basit olması gibi avantajlara sahiptir.

Bu yöntemlerden, GC-MS ile 10–30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  aralığındaki değerler hesaplanırken, GC-MS/MS ile 1–2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  düzeyindeki düşük akrilamid değerlerine kadar inilebilmiştir. LC-MS/MS metodu ile belirlenen akrilamid değeri ise 20-50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  aralığındadır (Anonim, 2002c).

### **1.6. Malt Unu**

Malt üretimi başta arpa olmak üzere seçilmiş tahıl tanelerinden olmaktadır. Arpa (*Hordeum vulgare*) malt üretiminde en sık kullanılan tahıldır. Bunun yanında buğdayın (*Triticum aestivum*) kavrulmuş malt üretiminde kullanımı dikkate değer oranda olup az

miktarda pirinç, yulaf ve darı da kullanılmaktadır (Narziss, 1976; Byrne, 1993; Briggs, 1998; Taylor ve Boxall, 1999).

Malt unları çok çeşitli olup, uygulanan kavurma işleminin derecesi ve renk durumlarına göre; yeşil malt, beyaz malt, koyu renkli malt ve solgun malt olarak sınıflandırılmaktadır. Çok yüksek sıcaklık derecelerine kadar sıcaklık muamelesi uygulanarak elde edilen maltlar ise özel malt olarak adlandırılmıştır. Kavrulmuş maltlar da bu grup içerisinde yer almaktadır (Briggs ve ark., 2004).

Kavrulmuş malt unu, Türk Gıda Kodeksi'nde ekmek katkı maddesi olarak kullanımına izin verilen doğal bir katkı maddesidir. Malt ekstraktı ve bira maltı olarak da bilinen kavrulmuş malt ununun kullanım alanı geniştir.

Kavrulmuş malt ununun diğer malthardan farkı, normalde son işlem olarak uygulanan kurutma işleminden sonra ek bir kavurma işlemi uygulanmasıdır. Kavurma işleminin bu malthara kazandırdığı renk ve aromanın önemi büyüktür (Narziss, 1976; Bemment, 1985; Gretenhardt, 1997; Briggs ve Maule, 1998).

Kavrulmuş maltların renk ve aroma özellikleri, malt ununun elde edildiği arpa varyetesi, malt elde edilme parametreleri, malthara uygulanan fırınlama ve kavurma sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Bu parametrelerin uygulanışına göre koyu renkli maltlar; karamel, şeker, malt, aromatik ve bal benzeri aromalar içermektedir. Koyu renkli maltlar, yanık aromaya sahip olmalarından dolayı lezzeti diğer malthara göre oldukça fazla olup çok geniş bir lezzet spektrumuna sahiptir (Chandra, 1999).

Kavrulmuş malt unları sahip oldukları renk, aroma gibi özelliklerden dolayı başta ekmek ve pastane ürünleri olmak üzere kraker, bisküvi, grissini ve peksimet ile çikolata, tatlılar, sıcakta çözünen içecekler, malt kahvesi ile bebek mamaları üretiminde renk ve aroma artırıcı madde olarak kullanılmaktadır.

Kavrulmuş malt unu katıldığı ürüne renk ve aroma vermesinin yanı sıra içerdiği dekstrinler ve özel şekerler ile üründe tadın güçlenmesine, hamur stabilitesi ve düzgünlüğünün artmasına ve raf ömrünün uzamasına yardımcı olmaktadır.

Ekmekçilik açısından malt ununun önemi, ürüne kazandırdığı yüksek su kaldırma yeteneği ve istenilen kıvamda hamur elde etmeyi sağlamasıdır. Ekmekte istenilen renge göre % 1-3 oranında kullanılan malt unu, hamur stabilitesi, un kuvveti ve un karışımının zayıflığını iyileştirme ve bayatlamayı geciktirmeye yardımcı olması açısından önemlidir.

Kavrulmuş malt ununun ekmeğe kazandırdığı üstün özelliklerden dolayı, esmer renkli ekmekler ile (light ekmek, çavdar ekmeği, tam tahıl ekmeği, diyet ekmekleri, v.b.) hamburger ekmekleri ve bagetlerde genellikle renklendirici olarak kullanılmaktadır. Ekmeğe güzel bir görünüm de veren kavrulmuş malt unu, esmer ekmeklerin rengini güçlendirir ve malt aroması sayesinde ekmeğin lezzetini artırır. Özel ekmeklerden sovital pidesi ve siyah Rus ekmeği gibi ekmekler de kavrulmuş malt unu içermektedir.

Son dönemlerde arpa maltı kepeği yeni çıkan bir ürün olup, çözünmeyen liflere sahiptir. Bu ürün, malt ekstraktı ile dövülmüş arpa maltı kombinasyonunun vakum altında kurutulması ile hazırlanarak, ekmek ile ekmek dışındaki diğer ürünlerde kullanılmaktadır.

Malt ununun ekmekçilikte kullanımı çok yüksek olup, temel un ağırlığının %25-33'i kadardır. Bu kullanım renk ve aroma açısından arzu edilmekle birlikte akrilamid oluşumu açısından ürünü riskli hale getirmektedir.

### **1.6.1. Malt Unu Elde Edilişi**

Malt yapılmasında 4 temel aşama vardır. Bu aşamalar sırasıyla tahılların hazırlanması (muhafaza, temizleme, sınıflama), su alması, çimlenmesi ve kurutulup kavrulması şeklindedir.

Malt unu yapımında ilk olarak, malt üretiminde kullanılacak olan tahılların temin edilmesi ve uygun şartlarda muhafazası sağlanır. Depolanan tahıllar kullanım öncesi çeşitli yöntemlerle temizlenerek, boyutlarına göre maltlık ve yemlik olarak ayrılır. İlk aşamada maltlık olarak sınıflandırılan tahıllara ikinci aşamada yeterli miktarda su verilerek çimlenme aşamasına uygun hale gelmeleri sağlanır. Su alarak şişen tahıllar uygun sıcaklıkta çimlenmeye bırakılır. Çimlendirme işlemi esnasında tahıl tanesindeki nişasta ve

proteinin embriyoya geçmesi ve tahılda yedek besin deposunun oluşması sağlanır. Son olarak çimlenmesini tamamlamış tahıl çeşitli yöntemlerle kurutulur. Malt unu üretiminde bu aşamaya kadar uygulanan işlemler ortak olup, bu aşamadan sonra uygulanacak kavurma işlemi arzu edilen malt çeşidine göre değişmektedir. İstenilen renk ve aroma kriterlerine göre kavru lan tahıl taneleri, ekmekçilik başta olmak üzere bir çok alanda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır.

## BÖLÜM 2

## ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

## 2.1. Akrilamidin Kantitatif Analizine Yönelik Yapılan Çalışmalar

Akrilamid ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı birçok yöntem kullanılmış ve çeşitli gıdalarda farklı oranlarda akrilamid tespit edilmiştir. Çalışmalar sonucu, başta ekmekçilik ve pastane ürünleri olmak üzere yüksek akrilamid değerine sahip gıdalardan çeşitli yöntemlerle elde edilen akrilamid miktarları Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Çeşitli gıda maddelerinden farklı metotlar uygulanarak elde edilen akrilamid miktarları

| Gıda maddesi       | Akrilamid miktarı   | Metot     | Referans   |         |   |
|--------------------|---------------------|-----------|--|---------|---|
| Buğday gevreği     | 121 µg/kg           | GC-MS     | (Koh, 2006; Murkovic, 2004; Konings ve Svensson, 2003) |         |   |
| Yulaf gevreği      | 27 µg/kg            |           |  |         |   |
| Pirinç gevreği     | 68 µg/kg            |           |  |         |   |
| Mısır gevreği      | 67 µg/kg            |           |  |         |   |
| Bisküvi            | 82 µg/kg            |           |  |         |   |
| Kraker             | 213 µg/kg           |           |  |         |   |
| Ekmek              | 43 µg/kg            |           |  |         |   |
| Kızarmış ekmek     | 58 µg/kg            |           |  |         |   |
| Poğaç              | 19 µg/kg            |           |  |         |   |
| Hazır kahve        | 254 µg/kg           |           |  |         |   |
| Türk kahvesi       | 264 µg/kg           |           |  |         |   |
| Kızarmış patates   | 843,3 +/- 0,9 µg/kg |           |  | HPLC-UV | (Paleologos E.K., Kontominas M.G.,2005) |
| Fırın patates      | 238,2 +/- 0,5 µg/kg |           |  |         |   |
| Çikolatalı bisküvi | 400,4 +/- 0,7 µg/kg |           |  |         |   |
| Kakao              | 83,8 +/- 0,4 µg/kg  |           |  |         |   |
| Kahve              | 68,0 +/- 0,4 µg/kg  |           |  |         |   |
| Geleneksel bisküvi | 229 ng/g            | LC/ESI/MS | (Wenzl ve Anklam, 2007)                                |         |   |

|                                 |              |            |   |
|---------------------------------|--------------|------------|---|
| Ekmek                           | 49 µg/kg     | GC/MS      | (Tateo ve Bononi,2003)                                  |
| Kızartılmış ekmek               | 290 µg/kg    | LC-MS/MS   | (Becalski, 2003)  |
| Kızartılmamış ekmek             | 19 µg/kg     |            |   |
| Hafif kızartılmış çavdar ekmeği | 28 µg/kg     |            |   |
| Kızartılmamış çavdar ekmeği     | 17 µg/kg     |            |   |
| Kızarmış ekmek                  | 183 ±3 µg/kg | LC-MS/MS   | (Konings, 2003)   |
| Koyu çavdar ekmeği              | 44 ±13 µg/kg |            |   |
| Buğday ekmeği                   | <30 µg/kg    |            |   |
| Patates cipsi                   | 620 µg/kg    | HPLC/MS-MS | (Hoenicke K., Gatermann R., Harder W., Hartig L., 2004) |
| Gevrek ekmek                    | 439 µg/kg    |            |   |
| Terayağlı bisküvi               | 546 µg/kg    |            |   |
| Kakao                           | 190 µg/kg    |            |   |
| Kavrulmuş kahve                 | 282 µg/kg    |            |   |
| Çözünür kahve                   | 816 µg/kg    |            |   |
| Bebek gıdaları                  | 8 µg/kg      | GC/MS-MS   |   |
| Kraker                          | 1072 ng/g    | LC-MS      | (Şenyuva H. Z., Gökmen V., 2005)                        |
| Patates cipsi                   | 433 ng/g     |            |   |
| Bisküvi                         | 389 ng/g     |            |   |
| Kek                             | 204 ng/g     |            |   |
| Bebek gıdası                    | 149 ng/g     |            |   |
| Çörekler                        | 126 ng/g     |            |   |
| Kahvaltılık tahıl               | 112 ng/g     |            |   |
| Ekmek                           | 108 ng/g     |            |   |

Çizelge 1’de incelenen gıdalar dışında önemli miktarda akrilamid oluşumu gösteren malt unlarının gıda sanayinde kullanımı yaygındır. Bununla birlikte malt unlarında akrilamid bulunuşu ile ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada piyasadan toplanan farklı malt unlarındaki akrilamid miktarları GC-MS yöntemi ile incelenmiş ve solgun maltharda 630-660 µg/kg, özel melanoidin maltharında 2210 µg/kg



akrilamid bulunmuştur. Çavdardan elde edilen karamel ve kavrulmuş maltların, aynı sıcaklıkta arpadan elde edilen maltha göre daha düşük akrilamid oranına sahip olduğu görülmüştür. Düşük akrilamid değeri, çavdar maltının içerdiği indirgen şeker ve asparajin içeriğinin farklılığı ile alakalıdır. Çavdarda asparajin miktarı buğdayın hemen hemen 4 katı civarındadır. Aynı şekilde buğday maltlarında daha düşük akrilamid değeri ile karşılaşılması bu durumdan kaynaklanmaktadır (Mikulíková ve Sobotová, 2007).

Elde edilen bulgular, farklı tahılların yapısal özelliklerden dolayı, farklı asparajin içeriğine sahip olabileceğini göstermiştir. Pirinç en düşük asparajin miktarına sahipken, yulaf ve mısır ortalama bir değere sahiptir. Bunun yanında buğday kepeği başta olmak üzere tahıl kepeğinde asparajin miktarı çok yüksek bulunmuştur. Bu durum ise asparajin içeriği yüksek tahılların, yüksek oranlarda akrilamid oluşturacağını göstermiştir.

## **2.2. Tahıllarda Akrilamid Oluşumuna Etki Eden Faktörler**

Tahıllarda akrilamid oluşumunu etkileyen faktörler, gıda kompozisyonu, proses durumu ve tüketicinin uyguladığı proses şartları olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır.

### **2.2.1. Gıda Kompozisyonu**

Gıda kompozisyonu içerisinde gıda maddesinin yapısında bulunan öncü maddelerden şekerler ve aminoasitler ile gıda maddesinin pH derecesi ve içerdiği nem miktarının akrilamid oluşumuna etkisi incelenmiştir.

Gıda maddelerinde akrilamid oluşumunda yer alan öncü maddeler, şekerler ve aminoasitlerdir.

Şekerlerin akrilamid oluşumuna etkisi incelendiğinde, indirgen şeker varlığında oluşan akrilamid miktarının indirgen olmayan şekerlerin oluşturduğu miktara göre yüksek olduğu görülmüştür. Çeşitli şekerlerin akrilamid oluşumuna katkıları sırasıyla fruktoz>glukoz>sukroz şeklindedir (Becalski, 2002).

Fırıncılık ürünlerinde asparajin limit faktör olmasına rağmen şekerlerin de akrilamid oluşumunda önemli rolü bulunmaktadır. Buğday krakerlerinde invert şeker

şurubu sükrozla değiştirildiğinde akrilamid miktarında %60 oranında bir azalış görülmüştür (Vass, 2004).

Diğer bir öncü madde olan aminoasitlerden, başta asparajin olmak üzere, metionin, glutamin, aspartik asit ve sistein akrilamid oluşumunu arttıran başlıca aminoasitlerdir. Asparajinin tahıl ürünlerindeki önemi büyük olup, patatesteki akrilamid oluşumuna neden olan esas madde indirgen şeker iken, tahıl ürünlerinde asıl kaynak asparajindir (Lantz ve ark., 2006).

Farklı aminoasitlerin glikozla reaksiyona girerek oluşturduğu akrilamid değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler Çizelge 2’de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Farklı aminoasitler ile glukozun reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid değerleri (Mottram, 2002)

| REAKSİYON              | Akrilamid/aminoasit (mg/mol) |
|------------------------|------------------------------|
| Asparajin + glukoz     | 221                          |
| Glisin + glukoz        | <0,5                         |
| Sistein + glukoz       | <0,5                         |
| Metionin + glukoz      | <0,5                         |
| Glutamin + glukoz      | 0,5-1,0                      |
| Aspartik asit + glukoz | 0,5-1,0                      |

Çizelge 2’deki değerler incelendiğinde, en yüksek akrilamid oluşumuna neden olan aminoasidin asparajin olduğu görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada buğday ekmeğine katılan asparajinin kabukta 6000 µg/kg oranında akrilamid oluşturduğu tespit edilmiştir. Asparajin katkısı olmadan üretilen ekmek kabuğunda akrilamid miktarı 270 µg/kg, ekmek kırıntısında ise 128 µg/kg olarak bulunmuştur (Surdyk ve ark, 2004).

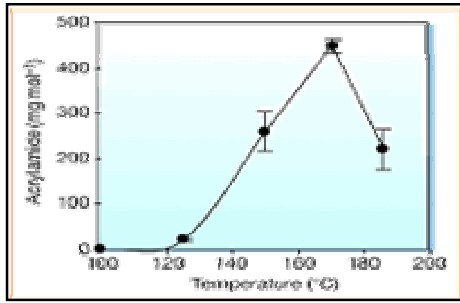
Şeker ve aminoasitlerin dışında pH derecesi ve nemin akrilamid oluşumuna etkisi büyüktür. pH değerinin farklı sıcaklık ve sürelerde akrilamid oluşumuna etkisinin bazik

ortamdan asidik ortama doğru (8,0>5,5>3,0) azalış şeklinde olduğu tespit edilmiştir (Becalski, 2002).

Gıdalardaki nem içeriğinin akrilamid oluşumunda önemli bir faktör olduğu bilinmekle beraber bu anlamda yapılan araştırmalar devam etmektedir (Stadler, 2006).

### 2.2.2. Proses Durumu ve Sıcaklık

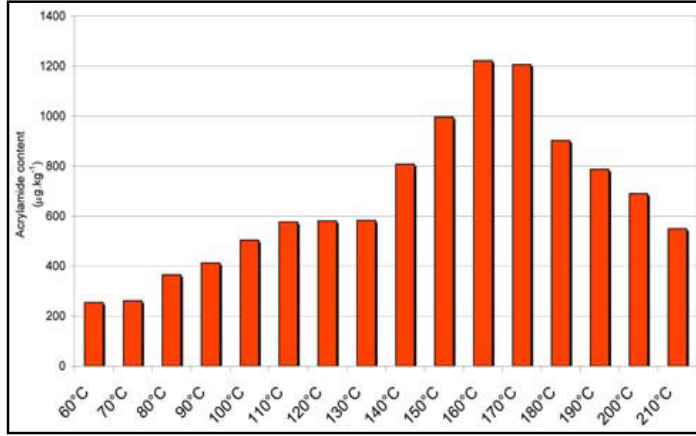
Proseste uygulanan sıcaklığın artmasıyla üründe oluşan akrilamid miktarı da artış göstermektedir. Akrilamid miktarındaki bu artış belli sıcaklık derecelerine kadar devam ederken, yüksek sıcaklık derecelerine ulaşıldığında akrilamidin yıkımıyla birlikte oluşan miktarlarda düşüş olduğu görülmüştür. Bu durum Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Farklı sıcaklık değerlerinde üründe oluşan akrilamid miktarı ( mg/mol) (Mottram, 2002).

Şekil 4'teki grafik incelendiğinde, 120-170 °C sıcaklık aralığında akrilamid miktarı sürekli artarken, daha yüksek sıcaklıklarda azalış gösterdiği görülmüştür.

Sıcaklığın akrilamid oluşumuna etkisi ile ilgili olarak malt unlarında yapılan bir çalışma Şekil 5'te gösterilmiştir. Bu çalışmada 60-210 °C'lik sıcaklık aralığında oluşan akrilamid miktarları incelenmiş ve en yüksek akrilamid oluşumunun 150-170 °C'lik aralıkta meydana geldiği, daha yüksek sıcaklıklarda ise akrilamid yıkımıyla oluşan miktarların azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 5. Malt unlarına uygulanan farklı kavurma sıcaklıklarında oluşan akrilamid miktarları ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (Mikulíková ve Sobotová, 2007).

Akrilamid oluşumunda sürenin önemi de büyüktür. Düşük sıcaklıkta uzun pişirme süresi uygulanarak akrilamid miktarının azaltılabileceği bilinmektedir. Bagdonaite ve Murkovic (2004), yaptıkları çalışmada, kahvede 260 °C sıcaklıkta 5 dakika uygulanan kavurma işlemi sonucu çok yüksek oranlarda akrilamid tespit etmişler ve kavurma süresinin artması ile akrilamid miktarında yıkıma bağlı bir azalış görüldüğünü rapor etmişlerdir.

Gıda kompozisyonu ve uygulanan proses şartları dışında tüketicinin uyguladığı pişirme şartlarının da akrilamid oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir. Uygun olmayan pişirme şartları akrilamid miktarında artışa neden olmuştur. Bu durumla ilgili olarak tüketicinin ekmeğe uyguladığı farklı kızartma şartları sonucunda oluşan akrilamid miktarları Çizelge 3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3. Tüketicinin uyguladığı kızartma şartlarında oluşan akrilamid miktarı (ppb)  
(Chin, 2000)

|                             | Akrilamid (ppb) |               |
|-----------------------------|-----------------|---------------|
|                             | Beyaz Ekmek     | Buğday Ekmeği |
| Kızartılmamış               | 19              | 76            |
| Çok hafif kızartılmış       | 38              | 48            |
| Hafif kızartılmış           | 65              | 215           |
| Orta derecede kızartılmış   | 87              | 470           |
| Yüksek derecede kızartılmış | 272             | 332           |

Çizelge 3'e göre, tüketici tarafından beyaz ekmek ve kepekli ekmeğe kızartma işlemi uygulanmış ve oluşan akrilamid değerleri ölçülmüştür. Beyaz ekmekte kızartma derecesinin artmasıyla akrilamid miktarında da artış görülürken, kepekli ekmekte belli bir dereceye kadar akrilamid artışı, yüksek kızartma derecelerinde ise akrilamid yıkımına bağlı bir azalış görülmüştür.

### 2.3. Akrilamidle İlgili Mevzuat ve Standartlar

Düşük miktarlarda olması nedeniyle farklı gıdalarda akrilamidin bulunuşu ile ilgili bir mevzuat henüz bulunmamaktadır. Bununla birlikte Türkiye ve yurtdışında, çeşitli kuruluşlar tarafından akrilamid alımıyla ilgili üst limitler belirlenmiştir.

Avrupa birliği (AB) tarafından akrilamid alımına ait izin verilen üst sınırlar, gıdalar için günde 0,5-0,8 µg/kg (ortalama 70 kg ağırlığında bir insan için 35-56 µg/kg), su için 0,1 µg/L, paketlenme materyali için 10 µg/kg, havada 30 µg/m<sup>3</sup> ve kozmetik ürünlerde 0,1-0,5 mg/kg olarak belirlenmiştir (Stadler ve ark., 2002).

Paketlemede kullanılan ve gıda ile temas eden plastik için yasal bir limit bulunmaktadır. Buna göre ambalaj materyalinden gıdaya geçiş yapan madde miktarının milyarda 10 birimden fazla olamayacağı belirtilmiştir.

Akrilamide yeraltı ve yüzey sularında rastlanmıştır. Suların arıtılması işleminde sudaki istenmeyen maddeleri filtre etmek amacıyla temizleyici ajan olarak kullanılmıştır. USEPA'nın yaptığı araştırmada sularda 0,5 µg/L akrilamid ile karşılaşılmıştır. Bu değer in üzerindeki miktarların kontaminasyona neden olduğu bildirilmiştir (Anonim, 2004).

Codex Alimentarius ve Türk Gıda Kodeksine göre; içme sularında yapılan analizler sonucu, yasal sınır değeri 0,1 µg/L (Madde 98/83/EC) olarak belirlenmiştir. 1993 tarihinde WHO'ın yayınladığı raporda içme sularında izin verilen maksimum akrilamid değerini 0,5 µg/kg olarak yayınlamıştır.

2005'te WHO'ın yayınladığı raporlarda, 70 kg'lık bir insan için izin verilen maksimum akrilamid miktarının günlük 21-140 µg/kg olduğu görülmüştür.

**BÖLÜM 3****MATERYAL VE YÖNTEM****3.1. Materyal**

Malt üretimi için araştırmada kullanılan buğday, arpa ve çavdar tahılları piyasadan temin edilmiştir. Yabancı maddelerinden ayrılan tahıllar kullanım öncesi bez torbalarda saklanmıştır. Kavurma işlemi için teflon tencere ve dörtlü ocak kullanılmıştır. Kromotografik yöntemlerle akrilamid analizi için gerekli kimyasal ve diğer malzemeler BAP projesi ile temin edilmiştir. HPLC analizi için, istenilen saflıkta metanol, asetonitril, formik asit, akrilamid, metakrilamid standartı ve potasyum hekzasiyanoferrat, çinko sülfat, azot gazı gibi kimyasal maddeler ile 0,45 µm membran filtre ve oasis HLB (1ml, 30 mg) SPE kolon kullanılmıştır. LC/ESI/MS yöntemi için ise istenilen saflıkta metanol, formik asit ve akrilamid standartı gibi kimyasallar ile 0,45 µm selüloz asetat filtre kullanılmıştır. HPLC analizi için cihazda Zorbax SB-C18 250 mm x 4.6mm i.d, 5 µm kolon, LC/ESI/MS analizi içinse Zorbax SB-C18 3,0 x 75 mm; 3,5 µm akrilamid kolonu kullanılmıştır.

**3.2. Yöntem****3.2.1. Tahılların Malt Unu Üretimi İçin Hazırlanması**

Malt unu elde etmek amacıyla alınan buğday, arpa ve çavdar tahılları ilk olarak sodyum hipoklorit ile sterilizasyon işlemine tabi tutulmuş ardından saf su ile 3 kez yıkanarak taş, toprak vb yabancı maddelerinden arındırılmıştır. Temizlenen tahıllar çimlendirme kabine alınarak, 18 saat 22 °C, 6 saat 18 °C sıcaklık derecesinde 3 gün süreyle çimlenmeye tabi tutulmuştur. Çimlendirme sonrası uygun nem düzeyine ulaşan tahıl taneleri 50-60 °C sıcaklığa ayarlı etüvde 1 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan taneler valsli değirmende öğütülerek malt unu elde edilmiştir.

**3.2.2. Malt Ununun Kavrulması**

Buğday, arpa ve çavdar unlarından 150'şer gr alınmış ve önceden 250 °C'ye ayarlanmış elektrikli ocak üzerinde ısıtılmış olan tencerede kavrulmuştur. Yapılan ön

denemelerde arzu edilen kavrulmuş malt unu rengine, 40 dakikalık kavurma işlemi ile ulaşıldığı tespit edilmiştir. Bu doğrultuda, malt unlarının farklı oranlarda kavurulması sonucu oluşan renk ve akrilamid değerlerini belirlemek amacıyla 40 dakikalık kavurma süresine ait çeşitli zaman dilimlerinde (10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 dakika) 7 farklı malt örneği alınmıştır.

### **3.2.3. Deneme Planı**

Analiz için buğday, arpa ve çavdar olmak üzere 3 farklı tahıl kullanılmıştır. Bu tahıllardan renk analizi için 3 tahıl çeşidinden, 7 farklı sürede, 3 paralel olacak şekilde (3x7x3) 63 örnek alınmıştır. HPLC metodu ile akrilamid tayininde her tahıl çeşidinden 2 paralel olacak şekilde (3x7x2) 42 örnek, LC/ESI/MS ile akrilamid tayini için (3x7x1) deneme planında 21 örnek alınarak analize tabi tutulmuştur.

### **3.2.4. Fiziksel Analizler**

#### **3.2.4.1 Renk Tayini**

Kavrulmuş malt unu örneklerinin, kavurma süresine bağlı değişimleri, CR-400 model Minolta kolorimetre kullanılarak ölçülmüştür. Renk ölçümlerinin yapılabilmesi için örneklerin aynı pozisyonda standart şekilde konumlandırılması amacıyla örnekler beyaz renkli kağıtlar üzerine konulmuştur. Her örneğin renk ölçümünden önce kolorimetre cihazının kalibrasyonu, beyaz kalibrasyon porseleni ile yapılmıştır. Daha sonra örneğin fiziksel yapısına uygun olan başlık renk ölçüm cihazına takılarak sırayla renk ölçümü yapılmıştır. Çalışmada her örnek için iki ölçüm yapılmış ve bulunan değerlerin ortalaması alınmıştır. Bu şekilde malt örnekleri CIE sistemine göre  $L^*$  (parlaklık),  $a^*$  (kırmızılık/yeşillik),  $b^*$  (sarılık/mavilik) bakımından değerlendirilmiştir.

Konuyla ilgili yapılan çalışmalar, CIE sisteminden elde edilen  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerlerinin, kavrulmuş badem, buğday ekmeği, çavdar ekmeği, patates cipsi ve kavrulmuş kahveden elde edilen akrilamid sonuçları ile ürün yüzeyinde oluşan renk arasındaki ilişkiyi doğrulamada önemli etkiye sahip olduğu göstermiştir (Surdyk, 2004; Şenyuva ve ark., 2005; Amrein ve Pedreschi, 2006; Lukac, 2007).



### **3.2.5. Enstrumantal Analizler**

#### **3.2.5.1. Akrilamidin Ekstraksiyonu ve Katı Faz Ekstraksiyon(SPE)**

Akrilamid ekstraksiyonu, malt unu örneğini HPLC ve LC/ESI/MS yöntemleriyle analize uygun hale getirmek amacıyla yapılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi, Gökmen ve ark., (2005)'nın HPLC cihazı ile akrilamid miktarını belirlemede kullandıkları yöntem referans alınarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemde ilk olarak 5gr örnek falcon tüpe alınıp, üzerine 10 ml metanol eklenmiştir. Örnek 10 dakika tüp karıştırıcıda karıştırılmış ve 9000 rpm, 5 °C'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Temiz süpernatant başka bir falcon tüpe transfer edilerek üzerine sırasıyla 100 µl Carrez I (potasyum hekzasiyanoferrat sulu çözeltisi) ve 100 µl Carrez II (çinko sülfat sulu çözeltisi) proteinlerin çökmesi amacıyla ilave edilmiş ve 5 dakika tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Süpernatant tekrar 9000 rpm, 5 °C'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası temiz süpernatanttan 4 ml cam tüpe alınarak içindeki MeOH 40°C'lik su banyosunda azot gazı eşliğinde uçurulmuştur. Uçurulan örneğe 1ml MeOH eklenerek 2-3 dakika tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır.

Elde edilen ekstrakt, safsızlıklarından ayrılmak üzere katı faz ekstraksiyon (SPE) ünitesinden geçirilmiştir. Koşullama ve örnek yükleme olmak üzere 2 aşamadan oluşan SPE ünitesinde ilk olarak örnek koşullanmıştır. Koşullamada 1ml metanol, 1ml su, Oasis HLB (1 ml, 30 mg) SPE kolondan geçirilmiştir. Örnek yükleme aşamasında ise 1ml örnek 0,45 µm membran filtreden geçirilerek SPE'ye verilmiştir. İlk birkaç damlası atılarak viale alınan örnek, enjeksiyona hazır hale getirilmiştir.

#### **3.2.5.2. Akrilamid Miktarının Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Kullanılarak Belirlenmesi (HPLC)**

HPLC ile malt unlarında akrilamid analizi, Gökmen ve ark., (2005)'na göre metottan yapılmıştır. Analizde, materyal bölümünde belirtilen HPLC analizine uygun saflıktaki kimyasallar ile diğer malzemeler kullanılmıştır. Analizde yer alan kimyasallardan metakrilamid, analizin hassasiyetinin artırılması için iç standart olarak kullanılmıştır. Molekül ağırlığı 85 gr olan metakrilamidden 12,5 mg tartılıp saf suyla 250

ml'ye tamamlanarak stok çözelti hazırlanmış ve bu derişim 10ml/25ml düzeyinde seyreltilerek kullanılmıştır.

Akrilamid analizinde, Agilent Technologies 1200 Series marka HPLC cihazı kullanılmıştır. Analiz boyunca mobil faz olarak %100 ultra saf su ile %2 formik asitli ACN, %97 ultra saf su + %3 ACN olarak isokritik akış şeklinde uygulanmıştır.

### **3.2.5.2.1. HPLC Analiz Koşulları**

Mobil faz: Ultra saf su, ACN (isokritik elüsyon )

Kolon tipi: Zorbax SB-C18 250 mm x 4.6mm i.d, 5 µm kolon

Kolon fırını sıcaklığı: 5 °C

Enjeksiyon hacmi: 10µL ( 5 µL örnek veya standart + 5 µL IS)

UV dedektör koşulları: 200 nm

Akış hızı: 0,4 ml/dak

Analiz süresi: 24dk

### **3.2.5.3. Akrilamid Miktarının LC-ESI/MS Kullanılarak Belirlenmesi**

LC-ESI/MS ile akrilamid miktarının belirlenmesinde, HPLC analizi için uygulanan ekstraksiyon prosedürü ile elde edilen örnekler kullanılmıştır. Farklı olarak bu örnekler enjeksiyon öncesi 1/10 oranında su ile seyreltilmiştir. Aynı işlem hazırlanan akrilamid standardı için de yapılmıştır. Analizde materyal bölümünde belirtilen kimyasal ve diğer malzemeler kullanılmıştır.

LC-ESI/MS ile yapılan akrilamid tayininde Agilent 1200 (Triple Quad) marka cihaz kullanılmıştır. Analizde, MS ile yapılan önceki çalışmalarda akrilamidin öncü iyonları olarak bilinen 55 *m/z* ve 72 *m/z* öncü iyonlarının uygun analiz koşullarında belirlenmesi sağlanmıştır. Yöntemde kısa kolon kullanılması nedeniyle, analiz 10 dakikada tamamlanmıştır. Analizde mobil faz olarak, %1 formik asitli su ile %1 formik asitli MeOH kullanılmıştır. Akış gradient olup, akrilamid pikinin elde edildiği ilk 3 dakikada %5 MeOH, %95 su uygulanmış; 3-5 dakika arasında %95 MeOH, %5 su ile yıkama yapılmış ve 5-10 dakikalık sürede %5 MeOH, %95 su ile kolonun analiz için yeniden

koşullanmasına olanak verilmiştir. Analiz için her tahıl çeşidinden 7 örnek alınmış ve 21 enjeksiyon yapılmıştır.

### **3.2.5.3.1. LC-ESI/MS Analiz Koşulları**

Mobil faz: %1 formik asitli su, %1 formik asitli MeOH (Gradient akış)

Kolon tipi: Zorbax SB-C18 3,0 x 75 mm; 3,5 µm kolon

Kolon fırını sıcaklığı: 40 °C

Enjeksiyon hacmi: 5 µL

Akış hızı: 0,5 ml/dak

Analiz süresi: 10 dakika

#### **ESI/MS için;**

Kurutma gazı sıcaklığı: 250 °C

Akış: 11 lt/dak

Nebulizer gaz: 50 Psi

Turbo gaz sıcaklığı: 300 °C

İyon sprej voltajı: 3000 V

Fragmentör voltaj: 90 V

Precursor iyon Q1 ve Q2: 72 *m/z*, 55 *m/z*

Dwell time: 50 ms

### **3.2.5.4. İstatistiksel Analizler**

Veriler, faktöriyel düzende 2 yönlü varyans analiz tekniği (ANOVA) ve nonparametrik yöntemler kullanılarak minitab paket programı yardımıyla analiz edilmiştir. Malt unlarından elde edilen renk değerleri ile akrilamid miktarlarının karşılaştırılması, MDS tekniğinde Alscal yaklaşımı kullanılarak SPSS paket programı yardımıyla yapılmıştır. Verilerin yorumlanmasında Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmış olup MSTAT-C paket programı kullanılmıştır. Denemeler, renk analizi için 3 tekerrürlü, HPLC analizi için 2 tekerrürlü yapılmış, LC/ESI/MS analizi için ise tekerrür olmaksızın yürütülmüştür.

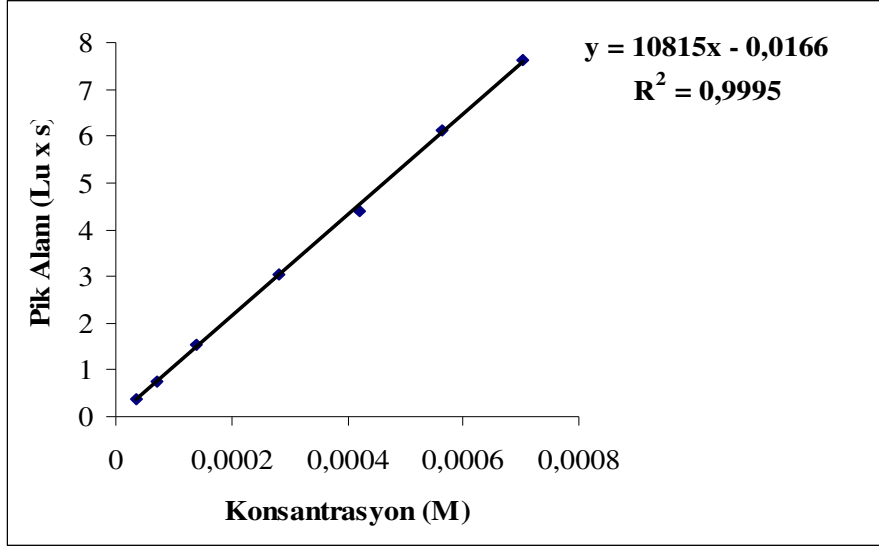
**BÖLÜM 4****ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. HPLC Analizine Ait Bulgular****4.1.1. HPLC Analizi İçin Akrilamid Konsantrasyonu Hesabı**

HPLC cihazı ile yapılan analizler sonucu elde edilen pik alan değerlerinden konsantrasyona geçebilmek için bilinen konsantrasyonlarda setler hazırlanmış ve her bir konsantrasyon 2 paralelli olarak 2 kez enjekte edilmiştir. Hazırlanan setin konsantrasyonları derişikten seyreltiğe doğru Çizelge 4’te verilmiştir.

Çizelge 4. HPLC analizi için standart konsantrasyon derişimleri

| Derişim    | Konsantrasyon (M)      | Pik alanı (Lu x s) |
|------------|------------------------|--------------------|
| 1. derişim | $7,034 \times 10^{-4}$ | 7,607              |
| 2. derişim | $5,627 \times 10^{-4}$ | 6,133              |
| 3. derişim | $4,220 \times 10^{-4}$ | 4,411              |
| 4. derişim | $2,814 \times 10^{-4}$ | 3,049              |
| 5. derişim | $1,407 \times 10^{-4}$ | 1,525              |
| 6. derişim | $7,034 \times 10^{-5}$ | 0,750              |
| 7. derişim | $3,517 \times 10^{-5}$ | 0,370              |

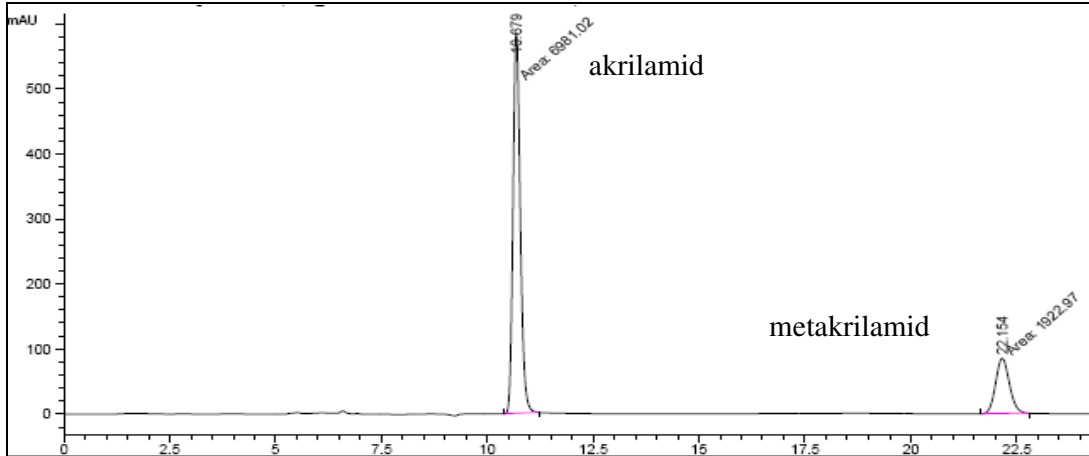
Çizelge 4’ten elde edilen veriler kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 6’da verilmiştir.



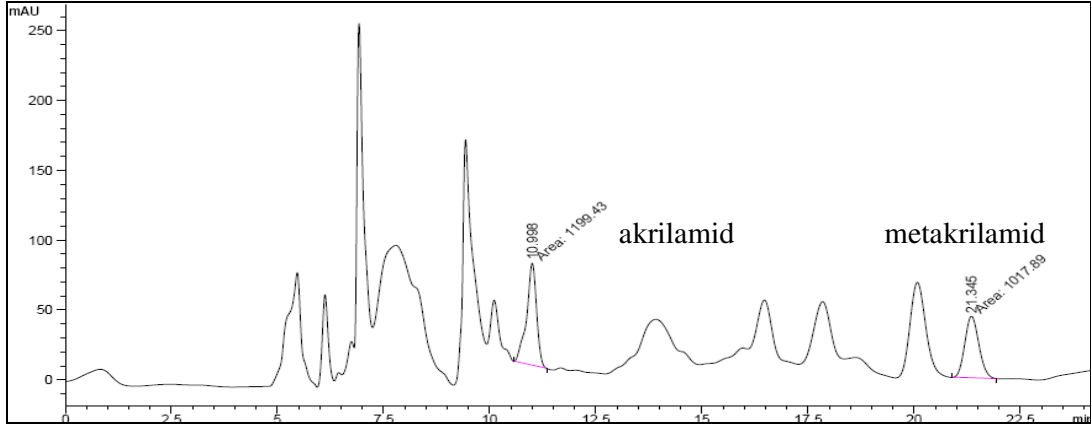
Şekil 6. Akrilamid standartına ait kalibrasyon grafiği.

Şekil 6'daki kalibrasyon grafiğinden akrilamid standartı için,  $y = 10815x - 1,0116$  denkleminin ( $R^2 = 0,9995$ ) elde edildiği görülmüştür. Bulunan yüksek  $R^2$  değeri analizin doğruluğunu kuvvetlendirmiştir.

Standart için kalibrasyon grafiği elde edildikten sonra örnek ve akrilamid standartı HPLC cihazına enjekte edilerek Şekil 7 ve Şekil 8'deki kromatogramlar elde edilmiştir.



Şekil 7. Akrilamid standartı ile metakrilamidden elde edilen kromatogram.



Şekil 8. Çavdar maltı örneğinden elde edilen kromatogram.

#### 4.1.2. HPLC İle Elde Edilen Akrilamid Miktarına Ait Bulgular

HPLC ile belirlenen akrilamid değerlerine ilişkin istatistiksel analizler sonucunda, akrilamid miktarına etki eden faktörlerden tahıl çeşidi ve kavurma süresinin birlikte etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna varılmıştır ( $P < 0,05$ ). HPLC ile elde edilen akrilamid değerleri Çizelge 5’te gösterilmiştir.

Çizelge 5. HPLC yöntemiyle farklı tahıl çeşidi ve kavurma süresine ait maltlardan elde edilen akrilamid miktarları (n=2)

|              | Akrilamid Miktarı (µg/g) |                          |                         |                         |                        |                        |                       |
|--------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
|              | Kavurma Süresi           |                          |                         |                         |                        |                        |                       |
| Tahıl Çeşidi | 10 dakika                | 15 dakika                | 20 dakika               | 25 dakika               | 30 dakika              | 35 dakika              | 40 dakika             |
| Buğday       | 1628,75<br>±0,11<br>Ba   | 2003,62<br>±0,24<br>Aa   | 1449,23<br>±0,12<br>Ba  | 793,15<br>±0,01<br>Cb   | 874,84<br>±0,06<br>Ca  | 807,76<br>±0,02<br>Ca  | 653,78<br>±0,01<br>Cb |
| Arpa         | 1121,96<br>±0,00<br>ABb  | 1041,14<br>±0,03<br>ABCb | 1270,42<br>±0,00<br>Aab | 986,54<br>±0,06<br>BCab | 900,11<br>±0,04<br>BCa | 831,53<br>±0,01<br>CDa | 657,80<br>±0,01<br>Db |
| Çavdar       | 1095,72<br>±0,04<br>Ab   | 1143,49<br>±0,06<br>Ab   | 1173,64<br>±0,00<br>Ab  | 1095,39<br>±0,07<br>Ab  | 1013,57<br>±0,06<br>Aa | 986,32<br>±0,04<br>Aa  | 975,53<br>±0,11<br>Aa |

Not 1. Aynı tahıl çeşidinde farklı büyük harflerle gösterilen kavurma süreleri arasındaki farklar önemlidir (P<0,05).

Not 2. Aynı kavurma süresinde farklı küçük harflerle gösterilen tahıl çeşitleri arasındaki farklar önemlidir (P<0,05).

Çizelge 5'te kavurma süresine ait veriler incelendiğinde; buğday maltında en yüksek akrilamid miktarına 15 dakikalık kavurma süresinde (2003,62 µg/g) ulaşılmıştır. 20-40 dakikalık kavurma sürelerinde akrilamid miktarında istatistiksel olarak bir farklılık görülmemekle birlikte, matematiksel olarak en düşük akrilamid değeri 40 dakikalık kavurma süresinde (653,78 µg/g) tespit edilmiştir. Arpa maltı için en yüksek akrilamid miktarına 20 dakikalık kavurma süresinde (1270,42 µg/g), en düşük akrilamid miktarına ise 40 dakikalık kavurma süresinde (657,80 µg/g) ulaşılmıştır. Çavdar maltında kavurma süresinin etkisi incelendiğinde ise kavurma sürelerinin akrilamid miktarına istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmadığı görülmüştür (P<0,05). Matematiksel olarak en yüksek akrilamid değeri 20 dakikalık kavurma süresinde 1173,64 µg/g, en düşük akrilamid

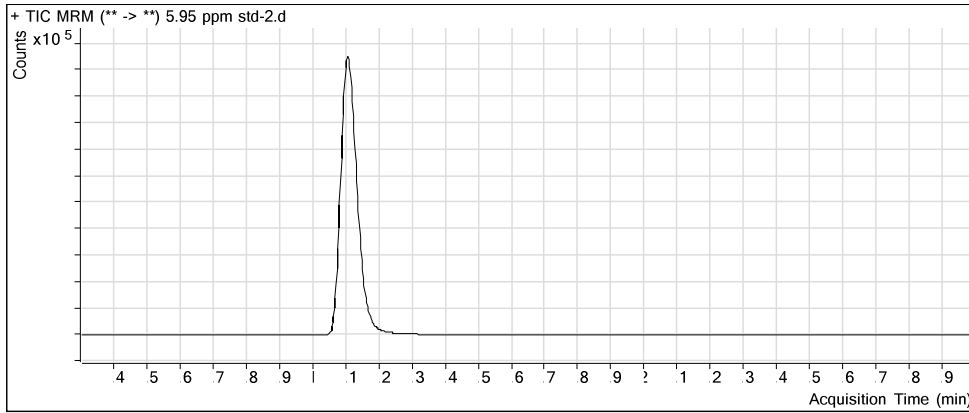
değeri ise 40 dakikalık kavurma süresinde 975,53 µg/g olarak tespit edilmiştir.

Genel olarak kavurma süresinin farklı malt unlarında akrilamid oluşumuna etkisi incelendiğinde, tahıl çeşitlerine göre değişmekle birlikte, kavurma süresinin artışıyla akrilamid miktarında da belli bir seviyeye kadar artış, daha sonra azalış olduğu görülmüştür. Bu durum kavurma süresinin uzamasıyla malt unlarında oluşan akrilamid miktarının azaltılabileceğini göstermiştir.

Tahıl çeşidinin akrilamid oluşumuna etkisi incelendiğinde, 25, 30 ve 35 dakikalık kavurma sürelerinde tahıl çeşitleri arasında akrilamid oluşumu açısından istatistiksel olarak bir fark olmadığı; 10, 15 ve 20 dakikalık kavurma sürelerinde ise istatistiksel olarak en yüksek akrilamid miktarının buğday maltında olduğu görülmüştür. 40 dakikalık kavurma işlemi sonunda ise çavdar maltının, arpa ve buğday maltlarına nispetle daha yüksek akrilamid oluşumu gösterdiği belirlenmiştir (P<0,05).

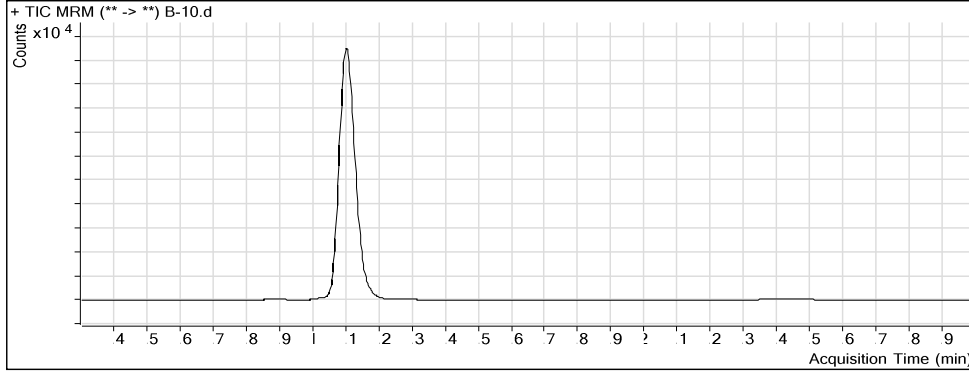
#### **4.2. LC/ESI/MS Analizine Ait Bulgular**

LC/ESI/MS yöntemi ile malt unlarında akrilamid miktarını belirlemek üzere akrilamid standartı ve malt unlarının cihaza enjeksiyonu yapılmış ve Şekil 9 ve şekil 10'daki kromatogramlar elde edilmiştir.



Şekil 9. Akrilamid standartına ait kromatogram.





Şekil 10. Buğday maltı örneğinden elde edilen kromatogram.

Şekil 9 ve Şekil 10'a benzer kromatogramlar her malt örneği için elde edilmiştir. Kromatogramlardan elde edilen akrilamid değerleri incelendiğinde, LC/ESI/MS metodu ile tespit edilen akrilamid miktarına, tahıl çeşidi ve kavurma süresi faktörlerinden sadece kavurma süresi etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ( $P < 0,05$ ).

Tahıl çeşidi istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte, LC/ESI/MS metodu ile farklı tahıl çeşidi ve kavurma sürelerinde elde edilen akrilamid değerleri Çizelge 6'da genel olarak verilmiştir.

Çizelge 6. LC/ESI/MS yöntemiyle farklı tahıl çeşidi ve kavurma süresine ait malthardan elde edilen akrilamid miktarları (n=1)

|        | Akrilamid Miktarı ( $\mu\text{g/g}$ ) |                |                |               |               |               |               |
|--------|---------------------------------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|        | Kavurma Süresi                        |                |                |               |               |               |               |
| Tahıl  | 10 dak                                | 15dak          | 20dak          | 25dak         | 30dak         | 35dak         | 40dak         |
| Buğday | 3634<br>(n.s.)                        | 1288<br>(n.s.) | 1263<br>(n.s.) | 664<br>(n.s.) | 598<br>(n.s.) | 449<br>(n.s.) | 419<br>(n.s.) |
| Arpa   | 2335<br>(n.s.)                        | 954<br>(n.s.)  | 906<br>(n.s.)  | 758<br>(n.s.) | 532<br>(n.s.) | 511<br>(n.s.) | 457<br>(n.s.) |
| Çavdar | 2333<br>(n.s.)                        | 960<br>(n.s.)  | 973<br>(n.s.)  | 736<br>(n.s.) | 646<br>(n.s.) | 495<br>(n.s.) | 498<br>(n.s.) |

Not 1: n.s.: Ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli değildir.

Çizelge 6'dan elde edilen veriler incelendiğinde, tahıl çeşitlerinde akrilamid oluşumu için istatistiksel açıdan önemsiz olan farklılık matematiksel olarak önemli bulunmuştur. Buğday maltından elde edilen akrilamid değerlerinin, arpa ve çavdar maltlarına göre matematiksel açıdan daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Buğday maltında görülen en yüksek akrilamid değeri, 10 dakikalık kavurma süresine ait örnekte 3634 µg/g, en düşük değer ise 40 dakikalık kavurma süresine ait örnekte 419 µg/g düzeyinde tespit edilmiştir. Arpa maltı için en yüksek ve en düşük akrilamid değerleri, arpa maltında 10 dakikalık kavurma süresinde 2335 µg/g, 40 dakikalık kavurma süresinde 457 µg/g olarak bulunmuştur. Çavdar maltı için de 10 dakikalık kavurma süresinde 2333 µg/g ve 40 dakikalık kavurma süresinde 498 µg/g akrilamid tespit edilmiştir.

Çizelge 6'da kavurma süresinin, tahıllarda LC/ESI/MS yöntemiyle elde edilen akrilamid miktarlarına etkisi incelendiğinde, her 3 tahıla uygulanan kavurma süresinin artmasıyla, oluşan akrilamid miktarlarının sürekli bir azalış gösterdiği tespit edilmiştir. Akrilamid miktarındaki bu azalışın, ilk 15 dakikalık sürede buğday maltında diğer maltha kıyasla daha hızlı bir şekilde olduğu görülmüştür.

### **4.3. HPLC ile LC/ESI/MS Metotlarının Karşılaştırılması**

Çalışmada kullanılan 3 tahıl çeşidinden elde edilen akrilamid değerleri için, HPLC ve LC/ESI/MS yöntemleri arasındaki ilişki incelendiğinde, buğday maltından her 2 yöntemle elde edilen akrilamid değerleri arasında % 96,4; arpa maltında % 89,3 ve çavdar maltında % 85,7'lik bir korelasyon tespit edilmiş olup, her 3 tahıl çeşidi için de yöntemler arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür (P<0,05).

Elde edilen sonuçlar, yöntemler arasında yüksek bir ilişki bulunması nedeniyle malt unlarında akrilamid miktarının belirlenmesinde her 2 yöntemde uygun olacağını göstermiştir. Bununla birlikte, uygulanan kavurma işlemi sonucu malt ununda akrilamid dışında diğer safsızlıkların olduğu belirlenmiştir. HPLC cihazı ile akrilamid analizi için çalışılan dalga boyunda (200 nm) bu safsızlıkların da tespit edilmesi, HPLC yönteminin örnekteki safsızlıkları ayırmada tek başına yeterli olmadığını göstermiştir. Bu nedenle HPLC'nin daha yüksek seçiciliğe sahip olan MS ile birlikte kullanımı analizinin hassasiyeti açısından önerilmektedir.

**4.4. Malt Unlarının Renk Karakteristiklerine Ait Bulgular**

Malt unlarında tahıl çeşidi ve kavurma süresine bağlı renk değişimleri CIE sistemine göre,  $L^*$  ( beyazlık, parlaklık/siyahlık),  $a^*$  ( kırmızılık/yeşillik),  $b^*$  (sarılık/mavilik) ile kroma değeri (renk yoğunluğu),  $\Delta E$  değeri (renk değişim miktarı), Hue açısı ve Redness (kırmızılık) ifadeleri açısından değerlendirilmiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda  $L^*$ ,  $b^*$ , kroma ve  $\Delta E$  değerleri üzerine kavurma süresi ve tahıl çeşidinin, tek başlarına etkili olduğu görülmüştür ( $P>0,05$ ).

Ele alınan faktörlerden tahıl çeşitlerinin  $L^*$ ,  $b^*$ , kroma ve  $\Delta E$  değerlerine etkisine ilişkin sonuçlar Çizelge 7’de gösterilmiştir.

Çizelge 7. Farklı tahıl çeşitlerinden elde edilen malt unlarının  $L^*$ ,  $b^*$ , kroma ve  $\Delta E$  değerleri

|            | Arpa              | Çavdar            | Buğday            |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| $L^*$      | 36,63 ± 0,92 (A)  | 34,80 ± 0,81 (B)  | 35,55 ± 0,92 (B)  |
| $b^*$      | 201,11 ± 3,55 (A) | 194,14 ± 3,12 (B) | 197,02 ± 3,58 (B) |
| Kroma      | 201,19 ± 3,55 (A) | 194,22 ± 3,12 (B) | 197,10 ± 3,58 (B) |
| $\Delta E$ | 215,02 ± 3,66 (B) | 217,59 ± 3,21 (B) | 226,59 ± 3,68 (A) |

Not 1. Farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir.

Çizelge 7’den elde edilen değerler incelendiğinde, arpa maltına ait  $L^*$ ,  $b^*$ , kroma değerlerinin, çavdar ve buğday maltlarından elde edilen değerlere göre istatistiksel olarak yüksek sonuç verdiği görülmüştür ( $P > 0,05$ ). Bu durumun, arpa maltına ait maltoz miktarının, buğday ve çavdar maltlarına kıyasla yüksek olması ile alakalı olduğu düşünülmektedir.

İncelenen diğer bir özellik olan  $\Delta E$  değerinin buğday maltında, arpa ve çavdar maltlarına nispeten daha yüksek sonuç verdiği görülmüştür ( $P>0,05$ ). Bu durum kavurma işlemi sırasında buğday maltında meydana gelen renk değişiminin, arpa ve çavdar maltlarına nispeten yüksek olduğu şeklinde yorumlanabilir. Buğday ununda renk

değişiminin diğer tahıllara kıyasla fazla olma nedeninin, sahip olduğu yapısal farklılıkla alakalı olduğu düşünülmektedir.

İncelenen faktörlerden diğeri olan kavurma süresinin, malt unlarındaki renk değişimine etkisine ilişkin değerler Çizelge 8’de verilmiştir.

Çizelge 8. Farklı kavurma süresine sahip malt unlarının  $L^*$ ,  $b^*$ , kroma ve  $\Delta E$  değerleri

| Süre      | $L^*$                | $b^*$                 | Kroma                 | $\Delta E$            |
|-----------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 10 dakika | 43,14 ± 0,51<br>(A)  | 226,03 ± 1,96<br>(A)  | 226,12 ± 1,96<br>(A)  | 190,23 ± 1,69<br>(F)  |
| 15 dakika | 38,37 ± 0,59<br>(B)  | 207,89 ± 2,26<br>(B)  | 207,99 ± 2,26<br>(B)  | 208,95 ± 2,66<br>(E)  |
| 20 dakika | 36,44 ± 0,59<br>(C)  | 200,48 ± 2,28<br>(C)  | 200,57 ± 2,28<br>(C)  | 216,60 ± 2,76<br>(D)  |
| 25 dakika | 34,93 ± 0,54<br>(D)  | 194,70 ± 2,10<br>(D)  | 194,78 ± 2,10<br>(D)  | 222,55 ± 2,86<br>(C)  |
| 30 dakika | 33,23 ± 0,48<br>(E)  | 188,13 ± 1,87<br>(E)  | 188,21 ± 1,87<br>(E)  | 229,31 ± 2,36<br>(B)  |
| 35 dakika | 32,29 ± 0,37<br>(EF) | 184,46 ± 1,45<br>(EF) | 184,53 ± 1,45<br>(EF) | 233,08 ± 2,31<br>(AB) |
| 40 dakika | 31,21 ± 0,29<br>(F)  | 180,25 ± 1,14<br>(F)  | 180,31 ± 1,14<br>(F)  | 237,41 ± 2,07<br>(A)  |

Not 1. Her bir renk özelliği için farklı büyük harflerle gösterilen kavurma süresi ortalamaları arasındaki farklar önemlidir.

Çizelge 8’de incelenen özelliklerden malt unlarından elde edilen  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerleri, 10 dakikalık kavurma süresinde diğer kavurma sürelerine oranla istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. İncelenen renk değerlerinden en düşük miktar ise 40 dakikalık kavurma süresine ait malt örneklerinden elde edilmiştir.

$L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerlerinden elde edilen sonuçlar birlikte incelendiğinde, kavurma süresinin artmasıyla malt unlarında sırasıyla, parlaklık/siyahlık miktarının arttığı, sarılık ve renk yoğunluğunun azaldığı şeklinde yorum yapılabilir.

Diğer bir özellik olan  $\Delta E$  değeri için malt çeşitlerine ait kavurma süreleri karşılaştırıldığında, en fazla renk değişimi 40 dakikalık kavurma süresinde görülürken, en az renk değişimini 10 dakikalık kavurma süresine ait örnekler göstermiştir. Elde edilen değerler, örneklerdeki renk değişiminin kavurma süresinin artmasıyla doğru orantılı olarak arttığı şeklinde yorumlanabilir.

Bununla birlikte  $a^*$  değerine ilişkin istatistiksel analiz sonucunda süre ve tahıl faktörlerinden, sadece sürenin etkili olduğu görülmüştür ( $P>0,05$ ). Malt unlarından elde edilen  $a^*$  değerine ilişkin veriler Çizelge 9’da gösterilmiştir.

Çizelge 9. Farklı kavurma süresine sahip malt unlarına ait  $a^*$  değerleri

|                                       | Kavurma Süresi (dakika) |            |            |            |            |            |            |
|---------------------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Akrilamid miktarı ( $\mu\text{g/g}$ ) | 10 dak                  | 15 dak     | 20 dak     | 25 dak     | 30 dak     | 35 dak     | 40 dak     |
|                                       | 6,41                    | 6,27       | 6,02       | 5,70       | 5,22       | 4,91       | 4,48       |
|                                       | $\pm 0,18$              | $\pm 0,16$ | $\pm 0,15$ | $\pm 0,14$ | $\pm 0,16$ | $\pm 0,17$ | $\pm 0,16$ |
|                                       | (A)                     | (A)        | (AB)       | (B)        | (C)        | (CD)       | (D)        |

Çizelge 9 incelendiğinde, kırmızılık/yeşillik özelliklerini ifade eden  $a^*$  değeri için en yüksek değeri 10 ve 15 dakikalık kavurma sürelerine ait malt örnekleri göstermiştir.

En düşük  $a^*$  değeri ise 40 dakikalık kavurma süresine ait malt örneklerinde tespit edilmiştir. Bu durum maltlarda kavurma süresi ilerledikçe kırmızımsı rengin azaldığı şeklinde yorumlanabilir.

İncelenen özelliklerden Redness ve Hue açısı değerleri üzerine hem tahıl çeşidi hem de kavurma süresinin birlikte etkisinin önemli olduğu yapılan istatistiksel analizler sonucu belirlenmiştir ( $P>0,05$ ). Farklı tahıl çeşidi ve kavurma süresinde, malt unlarında oluşan Hue açısı ve Redness değerleri Çizelge 10’da gösterilmiştir.

Çizelge 10. Farklı tahıl çeşidi ve farklı kavurma süresine sahip malt unlarına ait Hue açısı ve Redness değerleri

|                                 |        | 10dak  | 15dak  | 20dak  | 25dak  | 30dak  | 35dak  | 40dak  |
|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| H<br>u<br>e                     | Buğday | 88,279 | 88,157 | 88,213 | 88,279 | 88,423 | 88,536 | 88,651 |
|                                 |        | ±0,080 | ±0,053 | ±0,074 | ±0,065 | ±0,075 | ±0,060 | ±0,060 |
|                                 |        | CDb    | Db     | Da     | CDa    | BCa    | ABa    | Aa     |
| A<br>ç                          | Arpa   | 88,529 | 88,416 | 88,378 | 88,358 | 88,378 | 88,418 | 88,486 |
|                                 |        | ±0,010 | ±0,035 | ±0,043 | ±0,062 | ±0,084 | ±0,116 | ±0,113 |
|                                 |        | Aa     | Aa     | Aa     | Aa     | Aa     | Aa     | Aa     |
| ı<br>s<br>ı                     | Çavdar | 88,313 | 88,243 | 88,251 | 88,326 | 88,436 | 88,478 | 88,595 |
|                                 |        | ±0,032 | ±0,020 | ±0,037 | ±0,035 | ±0,020 | ±0,000 | ±0,017 |
|                                 |        | BCb    | Cab    | Ca     | BCa    | ABCa   | ABa    | Aa     |
| R<br>e<br>d<br>n<br>e<br>s<br>s | Buğday | 0,030  | 0,032  | 0,031  | 0,029  | 0,027  | 0,025  | 0,023  |
|                                 |        | ±0,001 | ±0,000 | ±0,001 | ±0,001 | ±0,001 | ±0,001 | ±0,001 |
|                                 |        | Aa     | Aa     | Aa     | Ba     | Ba     | Ba     | Ba     |
| e                               | Arpa   | 0,025  | 0,027  | 0,028  | 0,028  | 0,028  | 0,027  | 0,026  |
|                                 |        | ±0,000 | ±0,000 | ±0,004 | ±0,000 | ±0,001 | ±0,001 | ±0,002 |
|                                 |        | Ab     | Ab     | Ab     | Aa     | Aa     | Aa     | Aa     |
| s                               | Çavdar | 0,029  | 0,030  | 0,030  | 0,029  | 0,027  | 0,026  | 0,024  |
|                                 |        | ±0,000 | ±0,000 | ±0,000 | ±0,000 | ±0,000 | ±0,000 | ±0,000 |
|                                 |        | Bb     | Aa     | Aa     | Ba     | Ba     | Ba     | Ba     |

Not 1. Aynı tahıl çeşidinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P>0,05$ ).

Not 2. Aynı kavurma süresinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P>0,05$ ).

Çizelge 10'da incelenen özelliklerden Hue açısı değeri üzerine her bir tahıl çeşidinde kavurma süresinin etkisi incelenmiştir. Arpa maltına ait Hue açısı değeri üzerine, bu malta uygulanan kavurma süresinin istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ( $P>0,05$ ).

Buğday ve çavdar maltlarına ait Hue açısı değerleri incelendiğinde, 40 dakikalık kavurma süresine ait Hue değerlerinin, diğer kavurma sürelerine nispeten önemli düzeyde yüksek olduğu, 15 ve 20 dakikalık kavurma sürelerinde ise en düşük Hue açısı değerlerine ulaşıldığı görülmüştür. Bu durum kavurma işleminin ilk 20 dakikalık kısmında, malt unlarında renk değişiminin az olduğu, kavrulma miktarının artışıyla renk değişim oranının da arttığı şeklinde ifade edilebilir.

Hue açısı değeri için tahıl çeşitleri arasındaki fark incelendiğinde ise, 10 ve 15 dakikalık kavurma sürelerinde, arpa maltına ait Hue açısı değerinin, buğday ve çavdar maltlarına göre istatistiksel olarak yüksek olduğu görülmüştür. 20-40 dakikalık zaman dilimindeki 5 kavurma süresinde ise, tahıl çeşitlerine ait Hue açısı değerlerinde istatistiksel olarak bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak tahıl çeşitlerindeki renk değişiminin, sadece 10 ve 15 dakikalık kavurma sürelerinde etkili olduğu, 20-40 dakikalık zaman diliminde ise tahıl çeşitlerinde oluşan renk değişiminin istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ( $P>0,05$ ).

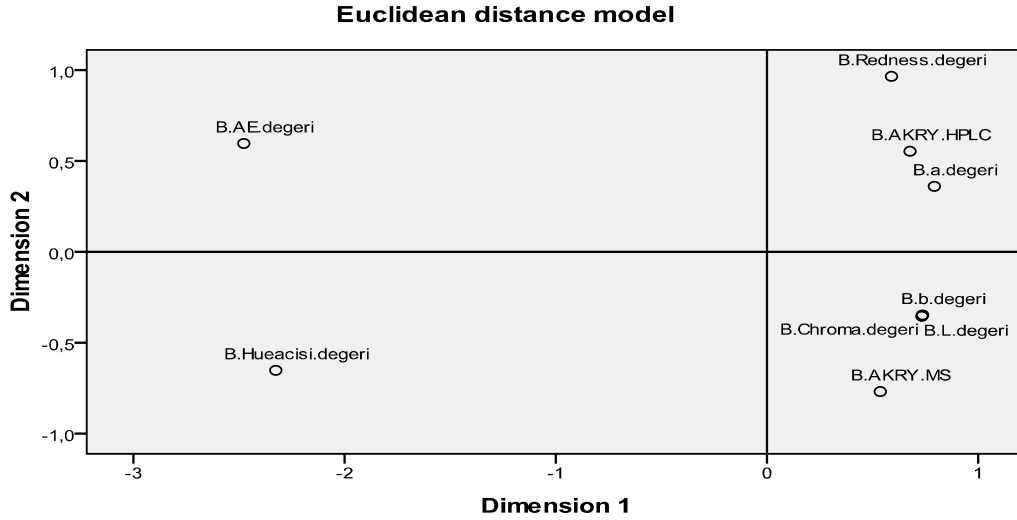
Diğer bir özellik olan Redness değeri için, farklı kavurma sürelerinin etkisi incelendiğinde, buğday maltında 10, 15 ve 20 dakikalık kavurma sürelerinde oluşan Redness değerinin, diğer kavurma sürelerine nispeten yüksek olduğu, 20-40 dakikalık kavurma diliminde oluşan redness değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmüştür ( $P>0,05$ ). Arpa maltına ait Redness değeri üzerine kavurma süresinin etkisi incelendiğinde, bulunan değerlerin istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmüştür ( $P>0,05$ ). Çavdar maltında ise 15 ve 20 dakikalık kavurma sürelerinde oluşan Redness değerlerinin diğer kavurma sürelerine nispete yüksek olduğu, diğer kavurma sürelerine ait redness değerlerinde istatistiksel olarak bir fark olmadığı tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ).

Aynı özellik için tahıl çeşitleri arasındaki fark incelendiğinde, buğday ve çavdar maltlarında 15 ve 20 dakikalık kavurma süresine ait Redness değerlerinin, arpa maltına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Buğday maltında en yüksek Redness değeri 10 dakikalık kavurma süresinde elde edilmiş, 20-40 dakikalık kavurma süresinde buğday, arpa ve çavdar maltlarına ait Redness değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ( $P>0,05$ ).

Hue ve Redness değerlerine ilişkin veriler birlikte değerlendirildiğinde, en yüksek Hue değeri buğday maltına ait 40 dakikalık kavurma süresine ait örneklerden, en yüksek redness değeri ise yine buğday maltına ait 15 dakikalık kavurma süresine sahip olan örneklerden elde edilmiştir. Bununla birlikte en düşük Hue değeri buğday maltının 15 dakikalık kavurma süresine ait örneklerden, en düşük Redness değeri ise buğday maltına ait 40 dakikalık kavurma süresine sahip örneklerden elde edilmiştir.

#### 4.4.1. LC/ESI/MS ile HPLC Yöntemleriyle Elde Edilen Akrilamid Sonuçları ile Renk Değerleri Arasındaki İlişki

Buğday maltında LC/ESI/MS ve HPLC yöntemleriyle elde edilen akrilamid değerleri ile renk değerleri arasındaki ilişki, MDS tekniği ile alscale yaklaşımı kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 11’de gösterilmiştir.



Şekil 11. Buğday maltında farklı yöntemlerle elde edilen akrilamid miktarı ile renk parametrelerinin karşılaştırılması.

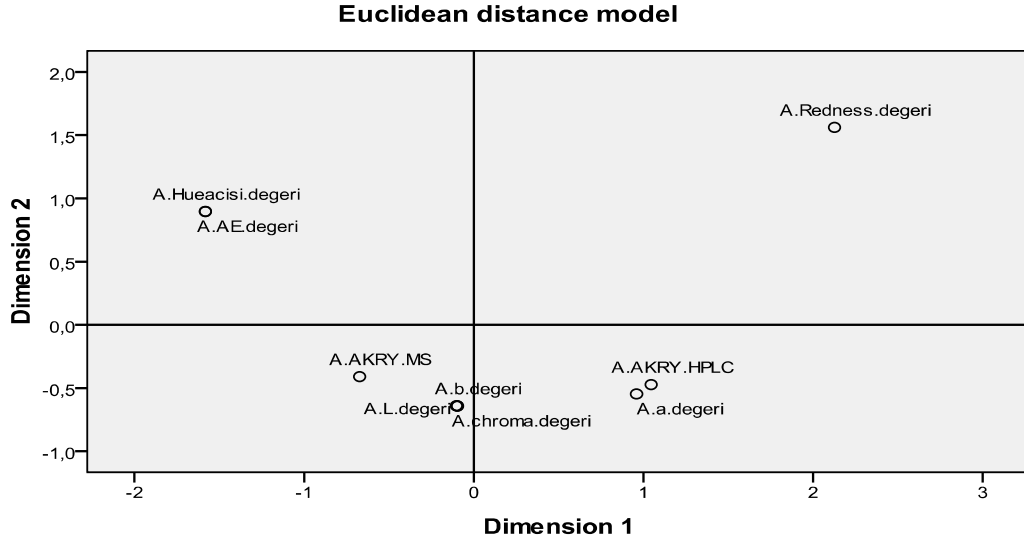
Şekil 11 incelendiğinde, buğday maltı için HPLC ile elde edilen akrilamid değerleri ile  $a^*$  ve Redness değerleri arasında yüksek bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu durum, HPLC ile elde edilen akrilamid miktarında kavurma süresine bağlı değişimin;  $a^*$  ve Redness değerlerinde de benzer şekilde olacağını göstermiştir.



Buğday maltında LC/ESI/MS ile elde edilen akrilamid miktarı ile  $b^*$ , kroma ve  $L^*$  değerleri arasında yüksek ilişki olduğu görülmüştür. Bu durum buğday maltında kavurma süresinin artışıyla akrilamid miktarında meydana gelen azalmaya karşılık,  $b^*$  ve kroma değerlerinde de bir azalış olacağı şeklinde yorumlanabilir. İncelenen özelliklerden Hue açısı ve  $\Delta E$  değerleri ile diğer incelenen özellikler arasında bir ilişki bulunmadığı görülmüştür.

Buğday maltında akrilamid ile renk değerleri arasındaki ilişkiye ait stres değerinin 0,06067, RSQ değerinin ise 0,99069 olarak bulunması analizden alınan sonuçların yüksek doğrulanabilirliğe sahip olduğunu göstermiştir.

Arpa maltında LC/ESI/MS ile HPLC yöntemleriyle elde edilen akrilamid değerleri ile renk değerleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 12’te gösterilmiştir.



Şekil 12. Arpa maltında farklı yöntemlerle elde edilen akrilamid miktarı ile renk parametrelerinin karşılaştırılması.

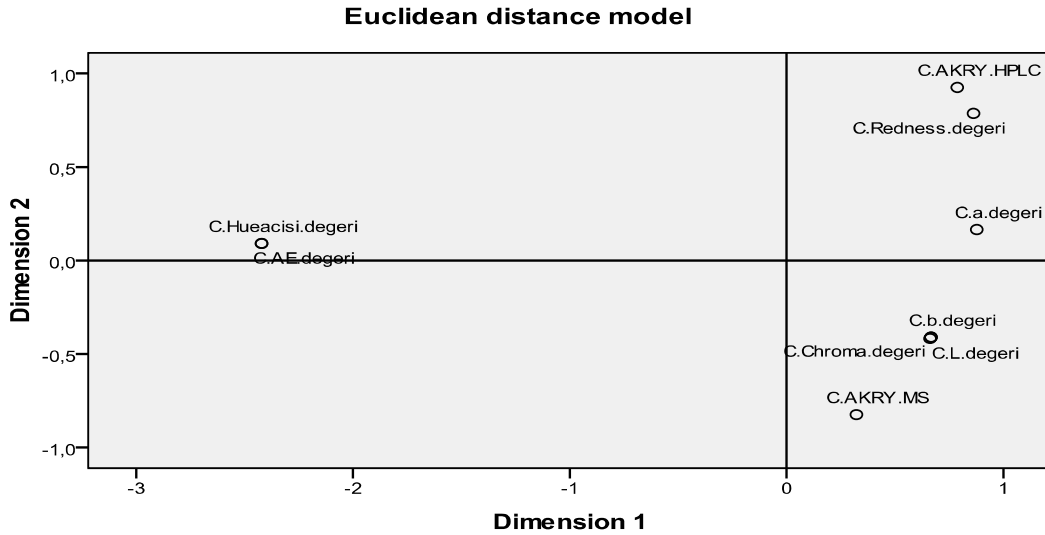
Şekil 12 incelendiğinde, arpa maltından HPLC yöntemiyle elde edilen akrilamid değerleri ile  $a^*$  değeri arasında yüksek bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu durum, kavurma süresinin artmasıyla akrilamid değerlerinde görülen değişim ile  $a^*$  değerine ait değişimin benzer şekilde olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Diğer bir yöntem olan LC/ESI/MS yöntemiyle elde edilen akrilamid değerleri ile  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerleri arasında yakın bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu durum arpa maltında kavurma süresinin artışıyla akrilamid miktarındaki değişime benzer değişimin,  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerlerinde de görüldüğü şeklinde yorumlanabilir.

Arpa maltına ait renk parametrelerinden, renk yoğunluğunu ifade eden Hue açısı ile renk değişimini ifade eden  $\Delta E$  değerleri arasındaki ilişkinin yüksek olduğu da şekilden elde edilen veriler arasındadır.

Arpa maltında, kavurmayla oluşan akrilamid miktarı ile renk değerleri arasındaki ilişkiye ait stres değerinin 0,06288, RSQ değerinin ise 0,98880 olarak bulunması analizden alınan sonuçların yüksek doğrulanabilirliğe sahip olduğunu göstermiştir.

Çavdar maltında LC/ESI/MS ile HPLC yöntemleriyle elde edilen akrilamid miktarı ile renk değerleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 13'te gösterilmiştir.



Şekil 13. Çavdar maltında farklı yöntemlerle elde edilen akrilamid miktarı ile renk parametrelerinin karşılaştırılması.

Şekil 13 incelendiğinde, HPLC yöntemi ile elde edilen akrilamid miktarı ile Redness ve  $a^*$  değerleri arasında yüksek bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu durum HPLC

yöntemiyle elde edilen akrilamid miktarlarında kavurma süresinin artışıyla görülen değişime benzer değişimin,  $a^*$  ve Redness değerlerinde meydana geleceği şeklinde yorumlanabilir.

Diğer bir yöntem olan LC/ESI/MS yöntemiyle elde edilen akrilamid değerleri ile  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerleri arasında yakın bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu durum arpa maltında kavurma süresinin artışıyla LC/ESI/MS yöntemiyle elde edilen akrilamid miktarında görülen değişime benzer değişimin, bu malta ait  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerlerinde de görüleceği şeklinde yorumlanabilir.

Çavdar maltına ait renk parametrelerinden, renk değişimini ifade eden Hue açısı ve  $\Delta E$  değerleri arasındaki ilişkinin yüksek oluşu, renk değerlerine ilişkin önceki bulgularla benzerlik göstermiştir.

Çavdar maltında akrilamid ile renk değerleri arasındaki ilişkiye ait stres değerinin 0,02961, RSQ değerinin ise 0,99789 olarak bulunması analizden alınan sonuçların yüksek doğrulanabilirliğe sahip olduğunu göstermiştir

Her 3 tahıldan elde edilen sonuçlar birlikte incelendiğinde, 3 malt çeşidi için de LC/ESI/MS yöntemleriyle elde edilen akrilamid miktarları ile  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerleri arasında yüksek bir ilişki olduğu görülmüştür. HPLC yöntemiyle elde edilen buğday ve çavdara ait akrilamid miktarları ile bu malthardan elde edilen Redness ve  $a^*$  değerleri arasında yüksek bir ilişki bulunurken, arpa maltına ait akrilamid miktarı ile  $a^*$  değeri arasında yüksek bir ilişki olduğu görülmüştür. 3 tahıl çeşidine ilişkin Hue açısı ve  $\Delta E$  değerleri incelendiğinde, arpa ve çavdar maltharı ile belirtilen parametreler arasında yüksek bir ilişki tespit edilirken, buğday maltında Hue açısı ve  $\Delta E$  değerleri arasındaki ilişkinin çok düşük olduğu görülmüştür.

**SONUÇLAR VE ÖNERİLER**

Bu çalışmada temel olarak farklı tahıl çeşitleri ve kavurma sürelerinin malt unlarında akrilamid oluşum miktarına etkisi incelenmiştir. Akrilamidin 1994 yılında insanlar için muhtemel kanserojen olarak görülmesinden sonra bu konu üzerine araştırmalar yoğunlaşmış ve özellikle sıcaklık muamelesi görmüş gıdaların uzun süreli tüketiminde insan ve hayvan sağlığı üzerine ciddi olumsuz etkiler yaratabileceği tespit edilmiştir.

Konuyla ilgili birçok çalışma yapılmasına karşın gıdalarla akrilamid alımına ait bir standart henüz bulunmamaktadır. Bununla birlikte akrilamidin ortalama günlük alım miktarları konusunda farklı kuruluşlar tarafından birçok değer yayınlanmıştır. WHO, akrilamidin günlük alım miktarını 0,3-0,8 µg/kg aralığında, FDA ise 0,4 µg/kg olarak belirlemiştir (Canady, 2002; WHO, 2002). Akrilamidin kabul edilebilir günlük alım dozu (ADI) ise FDA verilerine göre günde 0,2 µg/kg olarak saptanmıştır (Canady, 2002).

Malt örneklerinde akrilamid oluşumu HPLC ve LC/ESI/MS kromatografik yöntemleri ile analiz edilmiştir. HPLC ile analiz edilen örneklerin 1 tanesinde 2000 µg/kg civarında, 10 tanesinde 1000 µg/kg'ın üzerinde ve geriye kalan 10 örnekte 650-1000 µg/kg aralığında akrilamid tespit edilmiştir. LC/ESI/MS' den elde edilen sonuçlar incelendiğinde ise 21 örneğin 3 tanesinde 2000 µg/kg'ın üzerinde, 2 tanesinde 1000 µg/kg'ın üzerinde diğer 16 örnekte ise 450-950 µg/kg aralığında akrilamid miktarı tespit edilmiştir. Malt unundan elde edilen akrilamid sonuçları günlük alım miktarı açısından değerlendirildiğinde, ortalama 2000 µg/kg akrilamid oranına sahip malt ununun 300 gr'lık ekmeğe %3 (standartlarda ekmeğe katılan maksimum malt unu miktarı) oranında katılmasıyla elde edilen bir ekmeğin tüketilmesi sonucu, vücuda alınan akrilamid miktarın 18 µg/kg civarında olduğu görülmüştür. Günlük diyetle önemli bir yere sahip olan ekmeğin, günlük alım değerinin (70 kg'lık bir insan için 35 µg/kg) yarısını karşılaması yapılan çalışmanın önemini vurgulamaktadır.

HPLC yöntemiyle elde edilen akrilamid değerleri üzerine tahıl çeşidi ve kavurma süresinin birlikte etkisinin önemli olduğu yapılan istatistiksel analizler sonucunda belirlenmiştir (P>0,05). 3 tahıl çeşidinden elde edilen en yüksek akrilamid miktarları, buğday maltının 15 dakikalık kavurma süresine sahip örneği ile arpa maltının 20 dakikalık

kavurma süresine sahip örneğinden elde edilmiştir. Çavdar maltında kavurma süresinin istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür ( $P>0,05$ ).

Kavurma süresinin HPLC ile elde edilen akrilamid miktarına etkisi matematiksel olarak incelendiğinde, tahıl çeşitlerine göre değişmekle birlikte, kavurma süresinin artışıyla akrilamid miktarında da belli bir seviyeye kadar artış, daha sonra azalış olduğu tespit edilmiştir. Bu değişim arpa ve çavdar maltlarında 20 dakikalık, buğday maltında ise 15 dakikalık kavurma süresine kadar artış, daha sonra sürekli bir azalış halinde görülmüştür.

Her bir kavurma süresinde tahıl çeşitlerinin akrilamid oluşumuna etkisi incelendiği 10,15 ve 20 dakikalık kavurma sürelerinde buğday maltında, 40 dakikalık kavurma süresinde ise çavdar maltında daha yüksek akrilamid oluşumu gözlenmiş, diğer kavurma sürelerinde ise tahıllar arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır.

Tahıl çeşidi ve kavurma süresinin birlikte etkisi sonucu elde edilen en yüksek akrilamid değeri, 15 dakikalık kavurma süresine sahip olan buğday maltında 2003,62  $\mu\text{g}/\text{kg}$  olarak tespit edilmiştir. En düşük akrilamid değeri ise 40 dakikalık kavurma süresine sahip arpa ve buğday maltlarından, sırasıyla 653,78  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve 657,80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  olarak elde edilmiştir.

LC/ESI/MS yöntemiyle elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucu, akrilamid oluşumu üzerine yalnızca kavurma süresinin önemli olduğu anlaşılmıştır. Kavurma süresine bağlı en yüksek akrilamid miktarı, 10 dakikalık kavurma süresine sahip malt örneklerinden elde edilmiştir. Bununla birlikte 15 ve 20 dakikalık kavurma sürelerinde bulunan akrilamid miktarları, 35 ve 40 dakikalık kavurma sürelerine nispeten istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Kavurma süresi ile akrilamid miktarındaki değişim matematiksel olarak incelendiğinde, sürenin artmasıyla akrilamid miktarında sürekli bir azalış görülmüştür.

Bu azalış, kavurma süresinin ilk 15 dakikasında her 3 tahıl için de yüksek olup daha sonra yavaş bir şekilde devam etmiştir. Bu azalış buğday maltında, arpa ve çavdar maltlarına kıyasla daha fazla görülmüştür.

LC/ESI/MS ile tespit edilen en yüksek akrilamid miktarı buğday maltının 10 dakikalık kavurma süresine sahip örneğinde 3634 µg/kg olarak, en düşük akrilamid miktarı ise yine buğday maltının 40 dakikalık kavurma süresine sahip örneğinde 419 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

LC/ESI/MS metodunda, tahıl çeşidinin akrilamid miktarına etkisi istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $P>0,05$ ). Ancak farklı tahıllardan elde edilen sonuçlar matematiksel olarak incelendiğinde, buğday maltının arpa ve çavdar maltlarına nispeten daha yüksek akrilamid içerdiği tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak fark bulunmamasının nedeni, her 3 tahılda da akrilamid miktarının benzer şekilde azalış göstermesi ile alakalıdır. Oysa HPLC yöntemiyle elde edilen değerler istatistiksel açıdan incelendiğinde hem tahıl çeşidinin hem sürenin birlikte etkisinin önemli olduğu görülmüştür. Bu durum yöntemler arası farklılık ve analiz şartlarından kaynaklanmaktadır. Her 2 analiz yönteminden elde edilen akrilamid değerlerinde, kavurma süresinin artışına bağlı bir azalış görülmüştür. Bu durum Mottram (2002)'in, akrilamid miktarının sıcaklıkla değişimi ile ilgili yaptığı bir çalışmada, 120-170°C'lik dilimde sıcaklığın yükselmesi ile akrilamid miktarının artması, daha yüksek sıcaklıklarda ise akrilamid miktarının azalması şeklinde bulduğu sonuçlara atfedilmiştir. Her 2 yöntemden elde edilen sonuçlar doğrultusunda, akrilamid miktarının kavurma süresinin artışı ile azalmasının, yüksek sıcaklık derecelerinde akrilamidin yapısında meydana gelen parçalanmayla ilgili olduğu yorumu yapılabilir ( $P<0,05$ ).

Mikulíková ve Sobotová (2006), yaptıkları çalışmada malt unlarına 60-210 °C arasında sıcaklık uygulayarak elde ettikleri akrilamid miktarında 170 °C'ye kadar artış, daha yüksek sıcaklıklarda ise azalış tespit etmişler ve akrilamid miktarındaki bu değişim çalışmada bulunan sonuçlarla benzerlik göstermiştir. Yüksek sıcaklıkta akrilamid miktarında görülen bu azalma akrilamidin artan sıcaklık derecelerinde parçalanması ile ilgilidir.

Sonuç olarak her 2 metottan elde edilen akrilamid değerleri incelendiğinde en yüksek akrilamid değerine sahip maltın, buğday maltına ait örneklerden elde edildiği görülmüştür. Malt unu ile ilgili çok az sayıda literatür bulunmakla birlikte, çalışmadan elde edilen sonuçların yapılmış diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Piyasadan toplanan buğday, çavdar, kavrulmuş, özel, karamel ve solgun malt örnekleri ile yapılan bir çalışmada, en yüksek akrilamid değerine Caramünich karamel

maltında ulaşılmış ve akrilamid miktarını 3084 µg/kg düzeyinde bulunmuştur. (Mikulíková ve Sobotová, 2006). Kavrulmuş maltlardan da en yüksek akrilamid değerinin, kavrulmuş arpa maltından elde edildiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada ise arpa ve çavdardan çok yüksek olmamakla birlikte en yüksek akrilamid miktarına kavrulmuş buğday maltında rastlanmıştır. Bu durumun, farklı çalışmalarda uygulanan sıcaklığın ve kavurma şekillerinin farklı oluşu ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte yapılan literatür taramasında, malt unlarında süreyle akrilamid miktarının değişimi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Kavurma süresi ve sıcaklığı, akrilamid oluşum miktarında oldukça önemlidir. Yapılan bir çalışmada 260 °C’de uygulanan pişirme sıcaklığında, artan pişirme süresi ile birlikte akrilamid miktarında azalış görülmesi sağlık açısından uygun bulunurken, ekmek vb ürünlerde istenmeyen koyu rengin oluşumuna neden olması istenmeyen bir sonuç olarak ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte aynı sıcaklık derecesinde kahve için hem akrilamid açısından hem de tüketici sağlığı açısından uygun bir ürün elde edilmiştir (Ahrne ve ark., 2007). Çalışmada kahveden elde edilen sonuçlara itafeten, bu çalışmada 250 °C sıcaklığın uygun sürede uygulanmasıyla, malt ununa ait akrilamid miktarının tolere edilebilir miktarlara indirilebileceği yorumu yapılabilir.

Çalışmada malt unlarından akrilamid miktarının belirlenmesinde kullanılan 2 yöntemden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, 3 tahıl çeşidi içinde yöntemler arasında %80’nin üzerinde bir ilişki bulunmuş ve bu ilişkinin istatistiksel olarak önemli olduğu anlaşılmıştır (  $P<0,05$ ).

Sonuç olarak, malt unlarında oluşan akrilamid miktarının belirlenmesinde, aralarında istatistiksel olarak bir farklılık olmaması nedeniyle her iki yönteminde uygun olacağı görülmüştür. Ancak her 2 cihazın da bulunması durumunda daha yüksek seçiciliğe sahip olan MS’in analiz hassasiyeti açısından kullanımı önerilmektedir.

Çalışmada ayrıca tahıl maltlarında oluşan renk değerleri incelenmiş ve  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$  değeri ile kroma değerleri için tahıl ve süre tek başına etkili iken,  $a^*$  değeri için tek başına kavurma süresinin istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (  $P<0,05$ ). Bununla birlikte Hue açısı ve redness değerleri için tahıl çeşidi ve sürenin birlikte etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır (  $P<0,05$ ).

Renk değerleri tahıl süreleri açısından incelendiğinde;  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerleri için en yüksek değere arpa maltında ulaşılmıştır.  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerlerinin kavurma süresine göre değişimi incelendiğinde ise en yüksek renk değerleri 10 dakikalık kavurma süresine ait örneklerden, en düşük renk değeri ise 40 dakikalık kavurma süresine ait malt örneklerinden elde edilmiş, kavurma süresinin artışıyla renk değerlerinde azalış görülmüştür.

Tahıl çeşitlerinde oluşan  $\Delta E$  değeri incelendiğinde, en yüksek değer buğday maltında bulunurken, kavurma süresine göre  $\Delta E$  değişimi, en fazla 40 dakikalık, en az 10 dakikalık kavurma süresine ait malt örneklerinde görülmüş ve kavurma süresinin artışıyla renk değerleri de artış göstermiştir.

$a^*$  değeri için sadece kavurma süresi önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Tahıllara ait  $a^*$  değerinde kavurma süresine bağlı bir azalış görülürken, en yüksek değer 10-15 dakikalık kavurma süresine ait örneklerde, en düşük değer ise 40 dakikalık kavurma süresine ait örneklerde görülmüştür.

Hue açısı ve Redness değerleri için, kavurma süresi ve tahıl çeşitlerinin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Hue açısı değeri en yüksek buğday maltının 40 dakikalık, en düşük ise 15 dakikalık kavurma süresine ait örneğinde bulunmuş, Redness değeri için en yüksek değer buğday maltının 15 dakikalık, en düşük değer ise çavdar maltının 40 dakikalık kavurma süresine ait örneğinde tespit edilmiştir.

Malt unlarında oluşan renk değerleri ile HPLC ve LC/ESI/MS yöntemleri ile akrilamid oluşumu arasındaki ilişki istatistiksel açıdan incelendiğinde, her 3 tahıldan elde edilen sonuçların doğruluk derecesinin ve hassasiyetinin çok yüksek olduğu görülmüştür.

Tahıl çeşitlerinden elde edilen renk sonuçları incelendiğinde, 3 malt çeşidi için de LC/ESI/MS yöntemiyle elde edilen akrilamid miktarları ile  $L^*$ ,  $b^*$  ve kroma değerleri arasında yüksek bir ilişki olduğu görülmüştür. HPLC yöntemiyle elde edilen buğday ve çavdara ait akrilamid miktarları ile bu malthardan elde edilen Redness ve  $a^*$  değerleri arasında yüksek bir ilişki bulunurken, arpa maltına ait akrilamid miktarı ile  $a^*$  değeri arasında yüksek bir ilişki olduğu görülmüştür. 3 tahıl çeşidine ilişkin Hue açısı ve  $\Delta E$  değerleri incelendiğinde ise, arpa ve çavdar maltharı ile belirtilen parametreler arasında



yüksek bir ilişki tespit edilirken, buğday maltında bu ilişkinin çok düşük olduğu görülmüştür.

Konuyla ilgili olarak Gökmen ve ark., (2004), yaptıkları çalışmada buğday ununda 3 sıcaklık (150 °C, 180 °C ve 220 °C) ve 6 farklı (10, 20, 30, 40, 50, 60) sürede uygulanan kavurma işlemi sonrası akrilamid ve renk değerlerinin değişimini incelemiştir. Çalışmadaki 3 sıcaklık değerinden bu çalışmaya uygun olarak 220 °C sıcaklıkta görülen renk değişimleri incelenmiş ve buğday ununa ait  $L^*$  değerinde 0-60 dakikalık uygulama süresinde devamlı bir azalış görülmüştür. Diğer renk parametrelerinden  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinde ise sırasıyla 30 ve 20 dakikalık zaman dilimlerine kadar artış, daha sonra sürekli bir azalış tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Anonim, 1988. US Environmental Protection Agency (US EPA). Integrated Risk Information System (IRIS): Acrylamide (CASRN 79-06-1).  
26.09.1988, <http://www.epa.gov/iris/subst/0286.htm>
- Anonim, 1994. IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogen Risk to Humans: Some Industrial Chemicals. Summary of Data Reported and Evaluation. 60: 389.
- Anonim, 2002a. NFA, 30.04.2002, <http://www.slv.se>.
- Anonim, 2002b. NFA, 30.04.2002, <http://www.slv.se>.
- Anonim, 2002c. Food Safety Consultations, Health Implications of Acrylamide in Food. Geneva, Switzerland.  
27 Haziran 2002, [http://www.who.int/foodsafety/publications/.../acrylamide\\_summary.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/.../acrylamide_summary.pdf).
- Anonim, 2004. Releases New Data on Acrylamide Levels in Food and Final Action Plan. 03.10.2008, <http://www.ifst.org/site/cms/contentviewarticle.asp?article=545>.
- Anonim, 2005. Acrylamide in Food. 01.11.2008, <http://www.fao.org/es/esn/jecfa>.
- Ahrné L., Andersson C.G., Floberg P., Rosén J. ve Lingnert H., 2007. Effect of Crust Temperature and Water Content on Acrylamide Formation During Baking of White Bread: Steam and Falling Temperature Baking. *Food Science and Technology*, 40 (10): 1708-1715.
- Brathen E. ve Knutsen H.S., 2005. Effect of Temperature and Time on The Formation of Acrylamide in Starch-Based and Cereal Model Systems, Flat Breads and Bread. *Food Chemistry*, 92 (2): 693-700.
- Briggs E.D., Boulton C.A., Brookes P.A., Stevens R. ve Dennis E., 2004. Brewing Science and Practice: *Malts, Adjuncts and Supplementary Enzymes*. Wolfe Publ. Ltd. and CRC Pres Inc., Cambridge, England. 881p.
- Can, N.Ö., 2007. Akrilamidin Gıda Maddelerinde Oluşumuna Etki Eden Faktörlerin İncelenmesi ve Miktarının Tayini. Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Castle L., Clarke D.B., Lloyd A.S., Philo M.R., Speck D.R. ve Ahn J.S., 2002. Verification of the Findings of Acrylamide in Heated Foods. *Food Additives and Contaminants*, 19 (12): 1116-1124.
- Claus A., Carle R. ve Schieber A., 2008. Acrylamide in Cereal Products: A review. *Journal of Cereal Science*, 47 (2): 118-133.

- DiNovi M., Howard D. ve FDA/CFSSAN, 2004. The Updated Exposure Assessment for Acrylamide.  
13.04.2004, <http://www.jifsan.umd.edu/docs/acry2004/acry2004dinovihoward.pdf>.
- Dybing E. ve Sanner T., 2003. Risk Assessment of Acrylamide in Foods. *Toxicological Sciences*, 75: 7-15.
- EL-Saied M.H., Sharaf M., Abul-Fadl M. ve EL-Badry N., 2008. Reduction of Acrylamide Formation in Fried Potato Strips by Different Pre-frying Treatments. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 3 (1): 17-24.
- Friedman M., 2003. Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (16): 4504–4526.
- Gökmen V., Acar Ö.Ç., Lorenzo G.A. ve Morales J.F., 2008. Investigating the Correlation Between Acrylamide Content and Browning Ratio of Model Cookies. *Journal of Food Engineering*, 87 (3): 380-385.
- Gökmen V. ve Şenyuva H.Z., 2006. Study of Colour and Acrylamide Formation in Coffee, Wheat Flour and Potato Chips During Heating. *Food Chemistry*, 99 (2): 238- 243.
- Granbya K., Nielsenb N.J., Hedegaarda R.V., Christensena T., Kannc M. ve Skibstedb L.H., 2008. Acrylamide–Asparagine Relationship in Baked/Toasted Wheat and Rye Breads. *Journal Additives and Contaminants*, 25 (8): 921-929.
- Henry B. Chin, Ph.D. Effect of Food Composition, temperature: Examples from Asparagus to Sweetpotatoes: National Food Processors Association Dublin, CA.  
[http://oehha.ca.gov/prop65/public\\_meetings/pdf/chin\\_oehha.pdf](http://oehha.ca.gov/prop65/public_meetings/pdf/chin_oehha.pdf)
- Hoenicke K., Gatermann R., Harder W. ve 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 (2): 207-215.
- Jackson L., 2002. Formation of Acrylamide in Food: Food and Drug Administration, National Center for Food Safety and Technology, U.S.  
20.09.2002, [http://www.fda.gov/.../3915b1\\_03\\_FDA%20Draft%20Action%20Plan.htm](http://www.fda.gov/.../3915b1_03_FDA%20Draft%20Action%20Plan.htm)
- Karagöz A., 2009. Akrilamid ve Gıdalarda Bulunuşu: A Review. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi AD, Dışkapı, Ankara 8 (2): 187-192.

- Khalil H.A., Mansour H.E. ve Dawoud M.F., 2000. Influence of Malt on Rheological and Baking Properties of Wheat-cassava Composite Flours. *Lebensmittel- Wissenschaft und-Technologie*, 33 (3): 159-164.
- Lantz I., Ternite R., Wilkens J., Hoenicke K., Guenther H. ve Van Der Stegen G.H., 2006. Studies on Acrylamide Levels in Roasting, Storage and Brewing of Coffee. *Molecular Nutrition & Food research*, 50 (11): 1039-1046.
- Lilia Ahrne L., Andersson C.G., Floberg P., Rosen J. ve Lingnert H., 2007. Effect of Crust Temperature and Water Content on Acrylamide Formation During Baking of White Bread: Steam and Falling Temperature Baking. *LWT- Food Science and Technology*, 40 (10): 1708-1715.
- Lützw, 2003. Food and Nutrition Division Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAO/WHO Consultation on Health Implications of Acrylamide in Food.  
16.03.2003, <http://www.fao.org/ag/AGN/jecfa/acrylamide/luetzw/Luetzw.ppt>
- Mikulíková R. ve Sobotová K., 2007. Determination of Acrylamide in Malt with GC/MS. *Acta Chimica Slovenica*, 54 (1): 98-101.
- Nicolas S., Johan R., Roger A. ve Per A., 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.
- Ölmez H., Tuncay F., Özcan N. ve Demirel S., 2008. A Survey of Acrylamide Levels in Foods from the Turkish Market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21 (7): 564-568.
- Paleologos E.K. ve Kontominas M.G., 2005. Determination of Acrylamide and Methacrylamide by Normal Phase High Performance Liquid Chromatography and UV Detection. *Journal of Chromatography A*, 1077 (2): 128-135.
- Parzefall W., 2008. Minireview on the Toxicity of Dietary Acrylamide. *Food and Chemical, Toxicology*, 46 (4): 1360-1364.
- Petersen B, 2003. Acrylamide: Formation, Exposure, Possible Reduction Strategies.  
Şubat 2003, <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa/acrylamide/petersen/Petersen.ppt>
- Reynolds T., 2002. Acrylamide and Cancer: Tunnel Leak in Sweden Prompted Studies. *Journal of the National Cancer Institute*, 94 (12): 876-878.

- Seal C.J., Mul, A., Eisenbrand G., Haverkort A.J., Franke K., Lalljie S.P.D., Mykkanen, H., Reimerdes E., Scholz G., Somoza V., Tuijtelaars S., Boekel T., Klaveren J., Wilcockson S.J. ve Wilms L., 2008. Risk-Benefit Considerations of Mitigation Measures on Acrylamide Content of Foods: A Case Study on Potatoes, Cereals and Coffee. *British Journal of Nutrition*, 99 (2): 1-46.
- Stadler R.H., Blank I., Varga N., Robert F., Hau J., Guy P.A., Robert M.C. ve Riediker S., 2002. Acrylamide from Maillard Reaction Products. *Food Chemistry*, 419: 449-450.
- Svensson K., Abramsson L., Becker W., Glynn A., Hellenas K.E., Lind Y. ve Rosen J., 2003. Dietary Intake of Acrylamide in Sweden, *Food and Chemical Toxicology*, 41 (11): 1581-1586.
- Taeymans D., Wood J., Ashby P., Blank I., Studer A., Stadler R.H., Gonde P., Eijck V.P., Lalljie S., Lingnert H., Lindblom M., Matissek R., Müller D., Tallmadge D., O'Brien J., Thompson S., Silvani D. ve Whitmore T., 2004. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. In: *A Review of Acrylamide: An Industry Perspective on Research, Analysis, Formation and Control* ( 5.th end., Vol 44). 323-347.
- Tornqvist M., Fred C., Haglung J., Helleberg H., Paulsson B. ve Rydberg P., 2002. Protein Adducts: Quantitative and Qualitative Aspects of Their Formation, Analysis and Applications. *Journal of Chromatography B*, 85: 172-180.
- Wenzl T. ve Anklam E., 2003. Report on Activities Carried out by The European Commission's Joint Research Centre Review on Analytical Methods: *Food Additives and Contaminants*, 20: 885.  
29.04.2003, [http://www.jifsan.umd.edu/docs/acry2004/acry\\_2004\\_wenzl\\_anklam.pdf](http://www.jifsan.umd.edu/docs/acry2004/acry_2004_wenzl_anklam.pdf).
- Wilson K. M., Rimm E. B., Thompson K. M. ve Mucci L. A., 2006. Dietary Acrylamide and Cancer Risk in Humans: A Review. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 1 (1): 9-27.

## Çizelgeler Listesi

|   |    |
|---|----|
| <b>Çizelge 1.</b> Çeşitli gıda maddelerinden farklı metotlar uygulanarak elde edilen akrilamid miktarları.....                      | 14 |
| <b>Çizelge 2.</b> Farklı aminoasitler ile glukozun reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid değerleri (mg/mol).....                       | 17 |
| <b>Çizelge 3.</b> Tüketicinin uyguladığı kızartma şartlarında oluşan akrilamid miktarı (ppb)....                                    | 20 |
| <b>Çizelge 4.</b> HPLC analizi için standart konsantrasyon derişimleri.....   | 27 |
| <b>Çizelge 5.</b> HPLC yöntemiyle farklı tahıl çeşidi ve kavurma süresine ait malthardan elde edilen akrilamid miktarları.....      | 30 |
| <b>Çizelge 6.</b> LC/ESI/MS yöntemiyle farklı tahıl çeşidi ve kavurma süresine ait malthardan elde edilen akrilamid miktarları..... | 32 |
| <b>Çizelge 7.</b> Farklı tahıl çeşitlerinden elde edilen malt unlarının $L^*$ , $b^*$ , kroma ve $\Delta E$ değerleri.....          | 34 |
| <b>Çizelge 8.</b> Farklı kavurma süresine sahip malt unlarının $L^*$ , $b^*$ , kroma ve $\Delta E$ değerleri.....                   | 35 |
| <b>Çizelge 9.</b> Farklı kavurma süresine sahip malt unlarına ait $a^*$ değerleri.....  | 36 |
| <b>Çizelge 10.</b> Farklı tahıl çeşidi ve farklı kavurma süresine sahip malt unlarına ait Hue açısı ve redness değerleri.....       | 37 |

## Şekiller Listesi

|   |    |
|---|----|
| Şekil 1. Akrilamidin Molekül Yapısı.....  | 3  |
| Şekil 2. Maillard Reaksiyonu Üzerinden Akrilamid Oluşumu.....   | 7  |
| Şekil 3. Akrilik asit, asparajin ve akrolein üzerindan akrilamid oluşumu.....   | 8  |
| Şekil 4. Farklı sıcaklık değerlerinde üründe oluşan akrilamid miktarı (mg/mol).....   | 18 |
| Şekil 5. Malt unlarına uygulanan farklı kavurma sıcaklıklarında oluşan akrilamid miktarları (µg/kg).....                    | 19 |
| Şekil 6. Akrilamid standartına ait kalibrasyon kurvesi.....   | 28 |
| Şekil 7. Akrilamid standartı ile metakrilamidden elde edilen kromotogram.....   | 28 |
| Şekil 8. Çavdar maltı örneğinden elde edilen kromotogram.....   | 29 |
| Şekil 9. Akrilamid standartına ait kromotogram.....   | 31 |
| Şekil 10. Buğday maltı örneğinden elde edilen kromotogram .....   | 32 |
| Şekil 11. Buğday maltında farklı yöntemlerle elde edilen akrilamid miktarı ile renk parametrelerinin karşılaştırılması..... | 39 |
| Şekil 12. Arpa maltında farklı yöntemlerle elde edilen akrilamid miktarı ile renk parametrelerinin karşılaştırılması.....   | 40 |
| Şekil 13. Çavdar maltında farklı yöntemlerle elde edilen akrilamid miktarı ile renk parametrelerinin karşılaştırılması..... | 41 |

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı: Zeynep KÜÇÜK

Doğum Yeri: Çanakkale

Doğum Tarihi: 29. 07. 1984

### **EĞİTİM DURUMU**

Lisans Öğrenimi: Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Mühendislik- Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce ( Orta seviye)

### **BİLİMSEL FAALİYETLERİ**

- a) Yayınlar -SCI -Diğer
- b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal
- c) Katıldığı Projeler

### **İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Kasım, 2007 tarihinden buyana Gelibolu'da bulunan 4 ekmek fırınının sorumlu yöneticiliğini yapmaktayım.

### **İLETİŞİM**

E-posta Adresi: zezekck@hotmail.com