

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**İMMÜNO-ENZİMATİK YÖNTEMLE KAHVE
ÖRNEKLERİNDE AKRİLAMİD BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Göksel DÜRMÜŞ**

**Danışman
Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN**

Yüksek Lisans Tezi

**KASIM 2017
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI

İMMÜNO-ENZİMATİK YÖNTEMLE KAHVE
ÖRNEKLERİNDE AKRİLAMİD BELİRLENMESİ

Hazırlayan
Göksel DÜRMÜŞ

Danışman
Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN

Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TYL-2014-4963 kodlu proje ile desteklenmiştir.

KASIM 2017

KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Göksel DÜRMÜŞ

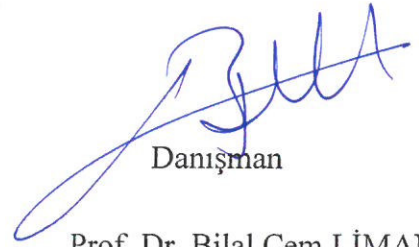
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“İmmüno–enzimatik yöntemle kahve örneklerinde akrilamid belirlenmesi” adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.



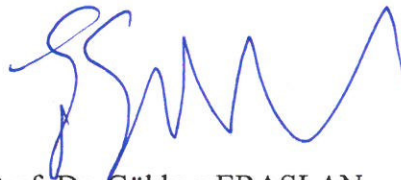
Hazırlayan

Göksel DÜRMÜŞ



Danışman

Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN



Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof.Dr. Bilal Cem LİMAN danışmanlığında Göksel DÜRMÜŞ tarafından hazırlanan "İmmüno–enzimatik yöntemle kahve örneklerinde akrilamid belirlenmesi" adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü VETERİNER FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ Anabilim Dalı Yüksek Tezi olarak kabul edilmiştir.

01 / 11 / 2017

JÜRİ

Üye : Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN (Danışman)

Erciyes Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

Erciyes Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Ebru YILDIRIM

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 8.11.2017 tarih ve 812... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Alihan ÖZDARENDİLİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tezimin oluşum aşamalarında bilgisini, yardımını ve sabrını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN'a, Yüksek lisans eğitimim süresince tükenmeyen enerjileri ile eğitimime katkı sağlayan, sahip oldukları fikirleri ile beni aydınlatan Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalının Öğretim Üyelerine, deneylerim boyunca bana yardımcı olan Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Muhammet Yasin Tekeli'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her anında desteklerini ve sevgilerini hissettiğim başta annem ve babam olmak üzere değerli aileme ve eşime teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

İMMÜNO-ENZİMATİK YÖNTEMLE KAHVE ÖRNEKLERİNDE AKRİLAMİD BELİRLENMESİ

Göksel DÜRMÜŞ

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2017

Danışman: Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN

ÖZET

Bu tezin amacı immüno-enzimatik (EIA) yöntemi ile kavrulmuş kahvede olası akrilamid kalıntılarını belirlemektir. Akrilamid dünyada tahmini 200 milyon kg/yıl üretimi olan önemli bir endüstriyel kimyasal maddedir. İnşaat harç unsuru, kanalizasyon yapımında, cevher işleme, kâğıt yapımında, toprak iklimlendirme ajanı, su arıtma katkı maddesi ve benzeri amaçlarla kullanılmıştır. Ayrıca sigara dumanı bir bileşeni olan akrilamid laboratuvar hayvanlarında kanserojen olarak bilinen, erkek hayvanlarda fertilizasyonu bozar ve endüstriyele maruz kalan insanlarda ise sinir hasarına neden olur. Endüstriyel kullanımlara ek olarak, akrilamid pişirme sürecinin doğal bir yan ürünü olarak elde edilmiştir. Yöntem içinde sıcaklık 120 °C'yi aştığında, pişirme, kızartma, ızgara ve fırınlama sırasında aminoasit asparagin glukoz gibi indirgeyici şekerler ile birlikte tepkimeye maruz kalır (Maillard reaksiyonu) akrilamid üretimine neden olabilir (belirli gıdalar için). Yüksek sıcaklıklarda pişirilmiş veya kızartılmış yoğun karbonhidrat içeren gıdalar akrilamidi yüksek düzeyde içerir. Akrilamid kaynatılmış, haşlanmış gıdalar veya çiğ etlerde bulunmaz. Birçok hayvan çalışmaları akrilamidin nörotoksik ve kanserojen olduğunu göstermiştir. Analizlerde Türkiye’de değişik illerden toplanan 42 adet kahve numunesi kullanılmıştır. Çalışmada kahve örnekleri 2’şer gram tartılarak 5’te 1 (1/5) oranında 10 mL % 70’lik metanol eklenerek 5 dk hızlıca karıştırıldı. Cam pamuk ve onun üzerine de bir miktar sodyum sülfat eklenerek karışım bu düzeneğe süzülür. 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi üstteki kısımdan 100 µl alınarak EIA (immüno enzimatik) analizinde kullanıldı. Ekstre vidalı kapak ile etiketlenmiş bir cam şişeye eklenen numune de 250 µl her bir örnek için 50 µL türetme reaktifi eklendi. Vortekste kuvvetli bir şekilde 10-15 saniye çalkalandı, sonra 47-53 ° C de 60 dakika inkube edildi. Sonra 2 ml akrilamid deney tamponu eklendi ve 15 dakika soğumaya bırakıldı. Daha sonra analizler aynı gün 450 nm absorbanda EIA (immüno enzimatik) okuyucuda gerçekleştirildi.

Analiz edilen örneklerin yaklaşık % 40’ında akrilamid varlığına rastlandı. Bu örneklerde ortalama akrilamid yoğunluğu 121,529 ppb bulundu. Bulgulara göre en yüksek akrilamid düzeyi 196 ppb, en düşük düzeyi ise 45 ppb olup toplam örnek sayısının % 60’ında ise akrilamid tespit edilememiştir. Bulgularda ortaya konan akrilamid değeri Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)’nin gösterge değerlerinin oldukça altındadır.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, EIA, Kahve

DETERMINATION OF ACRYLAMIDE IN COFFE SAMPLES BY IMMUNOENZYMATIC METHOD

Göksel DÜRMÜŞ

Health Sciences Institute of Erciyes University

Department of Veterinary Pharmacology and Toxicology

Master Thesis, November 2017

Supervisor: Prof. Dr. Bilal Cem Liman

ABSTRACT

The aim of this thesis was to determine acrylamide in roasted coffee by using enzyme immunoassay method (EIA). Acrylamide is an essential industrial chemical with an estimated worldwide production of 200 million kg/year. It is used as grouting agent in construction, a paper making aid, a soil conditioning agent, in ore processing, in sewage treatment, and as an additive (coagulant) in water treatment. Also, a component of cigarette smoke, acrylamide is a known carcinogen in laboratory animals, impairing fertility in male animals and causing nerve damage in humans with industrial exposure. In addition to its industrial uses, acrylamide is also found as a natural byproduct of the cooking process. Methods in which temperature exceeds 120 °C, such as baking, frying, grilling, and toasting can cause the amino acid asparagine (found in certain foods) to react with reducing sugars such as glucose (via the Maillard reaction) to produce acrylamide. Highcarbohydrate foods that are baked or fried at high temperatures contain the highest levels of acrylamide. Acrylamide is not found in raw or boiled foods that are not high in carbohydrates or in meats.

Acrylamide analyses were conducted on 42 coffee samples collected from different provinces of Turkey. Coffee samples were weighed as 2.0 g and put into 50 mL sample extraction tubes. Methanol (70%) in a portion of 1 to 5 ratios was added to 2 grams of samples and mixed. Then, the mix was filtrated through glass cotton and sodium sulfate, centrifuged for 5 minutes and was diluted with 70% methanol in distilled water. Having taken 100 µl from its surface, this mix was used in EIA (enzyme immunoassay) analyses. 250 µl of sample extract is added to a labeled vial with screw cap. For each sample, 50 µl of derivatization reagent was added. Vortex was done vigorously at 10-15 seconds and incubated at 47-53 °C for 60 minutes. The sample was allowed to cool for 15 minutes. Acrylamide assay buffer was derivatized and added 2 ml to cooled sample. Derivatization and analysis was performed within the same day. The mix was analyzed at 450 nm absorbance by using EIA reader.

The analyses revealed that about 40% of the analyzed samples contained acrylamide and the average acrylamide concentrations in these samples were found as 121.529 ppb. According to these findings, the highest acrylamide level was found as 196 ppb and the lowest acrylamide level was 45 ppb. However, acrylamide was not found in 60% of the samples. Acrylamide values in this study were extremely lower when compared with the volues of the European Commission (EC), the European Food Safety Authority (EFSA).

Keywords: Acrylamide, EIA, Coffee

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGE VE TABLOLAR LİSTESİ	ix
KISALTMALAR	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	11
2.1. Kahve	5
2.1.1. Kahvenin İnsan Sağlığı Bakımından Önemi	5
2.1.2. Kahve ve Akrilamid İlişkisi	6
2.2. Akrilamid	7
2.2.1. Gıdalarda Akrilamid Oluşumu	10
2.2.1.1. Maillard Reaksiyonu ve Akrilamid Oluşumu	13
2.2.1.2. Akrolein Bileşiği Üzerinden Akrilamid Oluşumu	15
2.2.1.3. “3-APA” Bileşiği Üzerinden Akrilamid Oluşumu	16
2.2.2. Akrilamidin Gıdalarda Bulunuşu	16
2.2.3. Akrilamidin Diyet Maruziyetinin Değerlendirilmesi	17
2.2.3. Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkisi	18
2.2.3.1. Doku Dağılımı	19
2.2.3.2. Kanserojenite	19
2.2.3.3. Nörotoksisite	20
2.2.4. Gıda Kaynaklı Akrilamidden Korunma Yolları	21

2.2.5. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler	22
2.2.5.1. Sıcaklık ve Isıtma Süresinin Etkisi	22
2.2.5.2. İndirgen Şekerler	23
2.2.5.3. Amino Asitler	23
2.2.5.4. Yağlar	24
2.2.5.5. Karbonhidratça ve Proteince Zengin Matrisler	25
2.2.5.6. Gıdanın pH Seviyesi ve Nem Düzeyi	25
2.2.6. Akrilamidin Vücuttan Atılımı	26
2.2.7. Akrilamidin Günlük Alım Seviyesi ve Yasal Uygulamalar	26
3.1. Kullanılan Cihaz, Gereç ve Kimyasallar	29
3.1.1. Cihaz ve Gereçler	29
3.1.2. Kimyasallar	30
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Kahve Numunelerinin Toplanması ve Deneye Hazırlanması	31
3.2.2. EIA Analiz Yöntemi	32
3.3. Değerlendirme	33
3.4. İstatistik analiz	33
4. BULGULAR	34
4.1. Akrilamid EIA Analiz Bulguları	34
4.2. Linearity (Doğrusallık)	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	42

ÇİZELGE VE TABLOLAR LİSTESİ

Çizelge 1: Farklı çözenler içinde akrilamidin çözünürlüğü.	8
Çizelge 2: EFSA 2009 tarafından bildirilen gıdalardaki akrilamid miktarları.	17
Çizelge 3: Farklı amino asit grupları ile eşit oranda glukoz ile reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid değerleri.	24
Çizelge 4: AB tarafından akrilamid için izin verilen maksimum sınırlar.	27
Çizelge 5: Gıdalarda akrilamid için gösterge değerleri.	27
Resim 1: Akrilamidin iki ve üç boyutlu molekül yapısı.	8
Resim 2: Glisidamidin iki ve üç boyutlu molekül yapısı	9
Resim 3: Akrilamid'den oluşan glisidamid ve DNA eklentisi.	10
Resim 4: Cam tüplerde 20 dk ısıya maruz bırakılan 0,1 mmol asparajin, glukoz eklentisinde akrilamid oluşumunun sıcaklığa bağlı olarak değişimi.	12
Resim 5: Akrilamid için alternatif oluşum mekanizmaları.	13
Resim 6: Maillard tepkimeleri oluşum şeması.	15
Resim 7: Akrilamid Standart eğrisi	34
Tablo 3.1: Elisa kiti standart değerler	33
Tablo 4.1: Kahve örneklerindeki EIA yöntemine göre akrilamid (AKR ppb (ng / ml)) düzeyleri	35
Tablo 4.2: Akrilamid pozitif kahve örneklerinin aritmetik ortalama ve standart hata.	36
Tablo 4.3: Akrilamid pozitif Kahve örneklerinin tespit edilen değerlere göre dağılım aralıkları	36

KISALTMALAR

EFSA : Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

FAO : Gıda ve Tarım Organizasyonu

dk : Dakika

gr : gram

kg : Kilogram

LD : Letal doz (Öldürücü doz)

mak : Maksimum

mg : Miligram

min : Minimum

mL : Mililitre

mm : Milimetre

ng : Nanogram

C : Santigrad derece

Ort : Ortalama

ppb : Milyarda bir kısım, $\mu\text{g}/\text{kg}$

TS : Türk standardı

UV : Ultra viole

% : Yüzde

μg : Mikrogram

μL : Mikrolitre

v : Hacim

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akrilamid birçok üründe farklı şekilde yer alan, monomerik ve polimerik olmak üzere iki formu bulunan, kimyasal bir bileşiktir. Laboratuvar hayvanlarında yapılan çalışmalara göre, monomer yapıdaki akrilamidin sinir sistemine toksik etkili olmasının yanı sıra, hayvanlar ve insanlar için karsinogen özelliğe sahip bir maddedir (1).

Akrilamid 'Uluslararası Kanseri Araştırmaları Kurumu (International Agency for Research into Cancer) tarafından insanlar için potansiyel karsinogen madde olarak sınıflandırılmaktadır. Akrilamid, değişik gıdalarda doğal bileşen olarak bulunan karbonhidrat ve proteinlerin yüksek ısısal işlem koşullarına maruziyet sonucunda oluşan bir maddedir (2). Karbonhidrat ve proteince zengin ısısal işleme tabi tutulmuş gıdalar arasında fırıncılık ürünleri, kızartma ve kavurma işlemlerine maruz kalan değişik ürünler yer almakta ve araştırmalara konu olmaktadır. Dünya'da günlük tüketim miktarlarının yüksekliği dikkate alınarak, yapılan çalışmalar sonucunda özellikle kahve, patates ürünleri ve ekmeğin gıda kaynaklı akrilamid alımında ilk sıralarda yer aldığı görülmüştür. Bu nedenle gıda üretimi için yaşamsal öneme sahip akrilamidin uygulamaya yönelik, daha ayrıntılı ve anlaşılır özel standartlar ve belgelendirme ile uygulamaya yönelik yasal ve bilimsel ayarlamalara gidilerek gıda güvenliğinin sağlanması, halk sağlığının korunması ve uluslararası ticaret üzerindeki etkileri çeşitli kuruluşlarca düzenlenmiştir (3-5).

Gıda Güvenliği ile ilgili yasal ve bilimsel mevzuat, başta Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA), Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) olmak üzere uluslararası ve ulusal otoritelerin öncelikli konusudur. Bu kapsamda gıda katkı maddeleri ve gıdalara bulaşan kimyasal kirlilikler de (kontaminantlar) uluslararası yasal ve bilimsel mevzuata tabidir. Çeşitli kimyasal ve toksik bileşikler gıda ve yemlerin

üretim, işleme, taşıma, pazarlama ve hazırlama aşamalarında gıda ve yemlerde oluşabilir veya bulaşabilirler (4).

Son yıllarda, gıda güvenliğini tehdit eden kimyasal ve toksik maddeler gündemi oluşturmaktadır (3). Bunlar bitki, prezervatif kalıntıları, doğal toksik bileşenler (mikotoksinler, bitkisel zehirler vb.) ve gıdanın işlenmesi ve hazırlanması sırasında oluşan toksik maddeler (heterosiklik aromatik aminler, akrilamid, furanlar vb.), gıda allerjenleri, ağır metaller (kurşun, arsenik, cıva, kadmiyum vb.), endüstriyel kimyasallar (benzen, dioksinler, perklorat vb.), ambalaj materyallerinden kaynaklanan maddeler ve ayrıca hile amaçlı (melamin vb.) katılan maddelerdir. Bunun yanı sıra artan küresel nüfusa bağlı olarak gıda sanayinde yapısal değişime yol açan küreselleşme olgusu, uluslararası ticaret ile ilgili olarak otoritelerin hazırladığı standartların önemini söz konusu toksik kimyasallar açısından giderek arttırmıştır (4).

Gıdaların işlenmeleri veya dayanıklı hale getirilmeleri sırasında sıcaklık değerleri 50-70°C gibi ılımlı seviyelerinden 180-300°C gibi çok yüksek seviyelerde değişen ısısal işlemler (fırınlama, kızartma, kavurma, pişirme, sterilizasyon) devamlı uygulanmaktadır. Ancak uygulanan böylesi yüksek sıcaklıklar gıdada bazı mikroorganizmalar ya da enzimlerin inaktivasyonu ve ısıya duyarlı gıda bileşenlerin parçalanmasının yanı sıra toksik yapıların oluşmasına da yol açabilmektedir. Bu ısısal işlemler sonucunda oluşan karsinojenik / mutajenik bileşiklerin arasında; heterosiklik aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-alkil-N-nitrozamin bileşikleri ve 2002'de İsveç Ulusal Gıda Örgütünün yaptığı çalışmayla toksik olduğu bildirilen akrilamidde bulunmaktadır (2, 4, 6).

FAO ve WHO, gıdalarda akrilamid üzerine uluslararası bir ağ kurmuşlardır. Bu ağın amacı, akrilamid ile ilgili tüm tarafların verileri ve devam etmekte olan araştırmaları hakkındaki bilgileri paylaşmalarını sağlamaktır. Ag, ABD Gıda ve İlaç İdaresi ve Maryland Üniversitesi tarafından ortaklaşa yürütülen ortaklaşa bir multidisipliner araştırma ve eğitim programı olan Food Safety and Applied Nutrition Ortak Enstitüsü (JIFSAN) tarafından işletilmektedir. JIFSAN, DSÖ Risk Analizi ve Gıda Kirliliği İzleme İşbirliği Merkezi ve FAO Gıda Kalite, Güvenlik ve Beslenme Mükemmellik Merkezleri Ağı üyesidir. Bu ağın kurulması, Haziran 2002 FAO / WHO Gıda'da

Akrilamidin Sağlık Riskleri Üzerine Danışma Toplantısı'ndan çıkan tavsiyelerden biriydi (2, 7).

Gündelik hayatımızda kullandığımız birçok besin ögesinin içinde farklı şekilde yer alan akrilamid, değişik monomerik ve polimerik yapılarda bulunan, organik, toksik nitelikli bir bileşiktir. Akrilamidin monomer formunun insan ve hayvan sinir sistemi için toksik etkisi olduğu, hayvanlar üzerinde yapılan laboratuvar çalışmaları sonucunda, kobay olarak kullanılan hayvan türlerinde kanserojen etkisi olmasına ilişkin yeterli kanıt olması nedeniyle insanlar için de kanserojen bir madde olmasından şüphelenilmektedir. (2).

Akrilamid çoğunlukla poliakrilamid ve türevlerinin üretilmesinde kullanılmaktadır. Üretilen bu ürünler genellikle atık su arıtma tesisleri, kâğıt, maden ve petrol işlemede, İnşaat harç unsuru, kanalizasyon yapımında kullanılmaktadır. 2002 yılında İsveç Ulusal Gıda Dairesi (NFA) ve Stokholm Üniversitesi'nden bilim adamları tarafından gıda ve sulardaki önemi hakkında açıklamalar yapılmıştır. Yapılan açıklamaların ardından yapılan birçok çalışmada, kızartılmış, fırınlanmış ve kavrulmuş gıda maddelerinin genelinde değişen miktarlarda akrilamid tespit edilmiştir. Akrilamidin kemirgenler için kanıtlanmış kanserojen ve insanlar için belirlenmiş nörotoksin etkisinin de yapılan çalışmalarla ortaya konulması üzere Uluslararası Kanseri Araştırmaları Kurumu (IARC) tarafından akrilamid insanlar için olası karsinojen' olarak (Grup 2A) sınıflandırmaya alınmıştır (7-9).

Akrilamid potansiyel sağlık tehlikeleri ile bilinen ve son zamanlarda, yüksek derişimlerde ısıtılmış nişasta içeren gıdalarda bulunmuştur; bu durum bir kanser riskinin yüksek miktarda akrilamid içeren gıdaların alımıyla ilişkili olabileceği varsayımına yol açmaktadır. Bu nedenle çalışmamız potansiyel olarak doğal içeriklerinden dolayı oluşabilecek gıdalardan olan kahvede akrilamidin analizine odaklanmaktadır. Akrilamid, 50 yılı aşkın bir süredir üretilen ve sanayinin birçok alanında kullanılan endüstriyel bir monomerdur. Bu madde aynı zamanda pişirme işlemi sırasında, esas olarak Maillard reaksiyonunun yanı sıra 3-aminopropiyonamid (3-APA) bileşiği, akrolein bileşiği, azotlu bileşikler ve okside olmuş lipidler üzerinde olduğu bildirilmektedir. Analitik toksikoloji açısından akrilamid analizlerinin GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS, Elektrokinetik kapiler kromatografi yöntemi, biyosensör kit

yöntemi, NIR yöntemi, ELISA yöntemi gibi analitik enstrüman ve yöntemler kullanılmaktadır (8).

Sosyal yaşantımızda tükettiğimiz birçok gıda maddesinde üreyebilen toksik etkisi kanıtlanmış, akrilamid ve bundan oluşabilecek metabolitler üzerine önemle durulan araştırma konusudur. Konuyla ilgili ülkemizdeki gıdalarda akrilamid kontaminasyon sorununu değerlendirmek amacıyla bilhassa tahıl, kızartma ve fırıncılık ürünlerinde kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. Bu tez çalışmasında tesadüf örnekleme yöntemi ile toplanan Türkiye'nin farklı bölgelerinde tüketime sunulmuş, kavrulmuş kahve çekirdekleri ve öğütülmüş kahve örneklerinde immün–enzimatik (EIA) metot kullanılarak, akrilamidin olası kalıntı boyutlarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kahve

Onuncu yüzyılda Habeşistan'da keşfedilen kahve, I. Selim'in Mısır seferi sonrası İstanbul'a getirilmiş ve kısa zamanda beğenilerek saray mutfağında yerini almıştır. O zamanlarda kahve çekirdekleri çiğ olarak kavrulup, öğütüldükten sonra cezvelerde pişiriliyordu. Kendine özgü tadı, köpük, koku, pişirme ve sunum şekliyle kendine özgü bir kimliğe sahip olan kahve, zamanla, Türk kahvesi olarak adlandırılmıştır. Türk kahvesinin Türk toplumunda oldukça önemli bir yeri vardır. Türkiye'de kahve yetişmemesine karşın, Türk kahvesi Türk kültürünü derinden etkilemiştir. Türk kahvesi edebi eserler ve gündelik yaşantıya dek tüm geleneklere girmiş ve iz bırakmıştır (10). Kahve, Rubiaceae ailesinin Coffea cinsinden tropik bir çalı türünün meyvesinin çekirdeğidir. Ağacın normal boyu 8 -10 metre kadar büyüye bilse de üretim teknikleri nedeni ile genellikle 2-3 metreye kadar büyümesine izin verilmektedir. Yaprakları sürekli yeşildir. Yetiştirilmesi için tropikal bölge, volkanik zemin, orta derece nem gibi birtakım özellikler gerekmektedir. Bundan dolayıdır ki, kahve bitkisi uygun ortam koşullarının varolduğu Afrika, Asya ve Amerika kıtalarının orta bölümlerinde yetişmektedir. 15 milimetre büyüklüğünde olan kahvenin meyvesi yuvarlak ve başlangıçta yeşil renklidir. Olgunlaştıkça rengi kırmızıya dönüşür ve kahve yapımında kullanılan halini alır. Kahve bu meyvenin kalın kabuğunun altında bulunan tohumlarıdır. Bu tohumlar değişik yöntemlerle ayılarak kurutulur ve kavrulup öğütülerek kullanılır (11).

2.1.1. Kahvenin İnsan Sağlığı Bakımından Önemi

Kahvenin bileşiminde insan sağlığına etkisi olan çeşitli bileşenler bulunmaktadır. İşlem görmemiş taze kahve taneleri; kafein (% 0,8-2,5 oranında), tanen, uçucu yağ, sabit yağ ve alkaloidler içermektedir. Kahvenin kafein içeriğine bağlı uyarıcı etkisi uzun

yıllardır bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda orta düzeyde (günde 2 bardak) kahve tüketiminin ileride Alzheimer, Parkinson, Tip2 diyabet, kalp hastalığı riskini azalttığı, kafeinli kahve tüketiminin safra kesesi rahatsızlığı oluşma olasılığını azalttığı, zihinsel performansı arttırdığı, ağrı kesici etkisi olduğu, laksatif ve diüretik etkisi bulunduğu belirtilmektedir. Ayrıca kahvenin bileşiminde bulunan başta klorojenik asitler ve bozunma ürünleri olmak üzere, kafein, kahveol ve kafestolün antioksidan, antikanserojen ve antimutajenik etkileri bulunduğu belirtilmektedir (11, 12). Günümüzde kahveden hazırlanan çeşitli ürünler; uyku giderici, baş ağrılarını azaltıcı, kardiyovasküler sistem kuvvetlendirici, hazmettirici ve alkaloid intoksikasyonlarında yerel absorban olarak kullanılmaktadır. Kahvenin organoleptik özellikleri, içerdiği polifenoller sayesinde doğal bir antioksidan kaynağı olması, kafeinden dolayı fiziksel ve zihinsel performansı arttırması, dengeli tüketimi halinde kalp ve kemik sağlığı açısından olumsuz bir etki yaratmaması, kahveyi sudan sonra dünyada tüketilen en popüler içeceklerden birisi haline getirmiştir. Kahve ayrıca su, ilaç sanayisinde ve atık suları tesislerinde kullanılmaktadır (11).

2.1.2. Kahve ve Akrilamid İlişkisi

Kabuklarından ayrılmış kahve çekirdeklerinin belirli işlemlerden geçirilmesi sonrasında asıl aromasına kavuşmaktadır. Tüketim esnasında lezzetini oluşturmak için yapılan işlemlerden biride kavrulmasıdır. Yapılan bu kavurma işlemi esnasında gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda uçucu ve uçucu olmayan bileşenler oluşmaktadır (13).

Kahvenin çok yüksek sıcaklıklarda kavrulması sırasında kahvenin renginde prolizden çok karamel-furfural ve maillard reaksiyonlarının etkin olduğu bilinmektedir. Kahvenin kavrulması sırasında içeriğindeki alkaloidlerde kuru madde bazında çok az bir artış olduğu, lipidlerin kimyasal yapılarında değişimler, azotlu bileşenlerden proteinlerin denatüre olması ve enzimlerin tamamen inaktive olmaları gibi reaksiyonlar gözlemlenmektedir. Ayrıca yüksek sıcaklıkta kavrulma sırasında mutajenik maddelerinde oluşabileceği bilinmektedir (11-13). Kahve 220-250°C'de kavrulduğundan oluşan reaksiyon zincirleri esnasında akrilamidin yüksek oranda oluştuğu belirtilmektedir (13). Kahvenin işlenmesi sırasında maruz kaldığı ısı süre ve hız gibi kavurma özellikleri; lezzet, aroma, renk gibi duyuşal özelliklerini etkilemektedir. Yeşil kahvede asparagin konsantrasyonu 30-90 mg/100 g olarak tespit

edilmiştir. Ayrıca oda sıcaklığında depolanan öğütülmüş kahvede % 40-60 oranında akrilamid kayıpları tespit edilmiştir. Diğer taraftan, kavurma sırasında akrilamidin degrade olduğu saptanmıştır. Kahvede akrilamid kavurma işleminin başlangıcında oluşmakta ve 7 mg/kg'ın üzerine çıkabildiği belirtilmektedir (6, 14-16). Kahve çekirdeğinin indirgen şeker içeriği ile akrilamid oluşumu arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir. Diğer taraftan, kahve çekirdeğinin asparajin içeriğinin 100 gramında 20-100 mg gibi çok dar bir aralıkta değiştiği belirlenmiştir. Kahvenin asıl aromasının oluşmasında belirleyici faktör kavurma koşulları (sıcaklık ve süre) olduğu için, akrilamid oluşumunun azaltılmasına yönelik olarak kavurma parametreleri üzerinde değişiklik yapılması ancak çok dar bir aralıkta mümkündür. Diğer ürün gruplarının aksine, kahvenin yüksek sıcaklıkta kavurma işlemi akrilamid seviyesini azalttığı görülmüştür. Ayrıca asparajinaz enzimi de kahvede akrilamid oluşumunu önemli oranlarda düşürmektedir. Ancak, bu işlemin son ürünün duyu özellikleri üzerine etkisi henüz belirlenmemiştir. Tipik kahve pişirme makineleri, kahve çekirdeğinde bulunan akrilamidi tümüyle kahve demine geçirmektedir. Ancak, farklı ekstraksiyon koşulları nedeniyle Espresso kahvede geçiş daha az olmaktadır (15).

2.2. Akrilamid

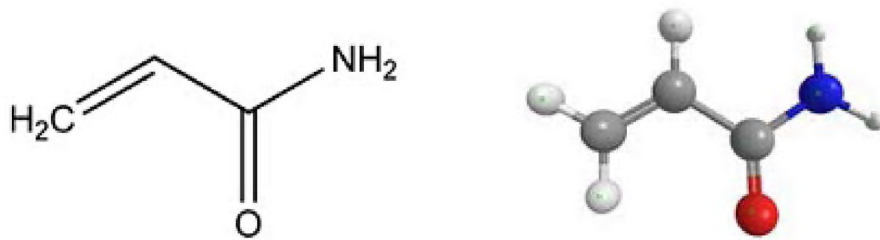
1893 yılında Charles Moureu tarafından benzen içerisinde doymuş hale gelmiş akrilin klorür çözeltisine bir miktar amonyak eklemesiyle yeni bir monomer olan akrilamid sentezlenmiştir. 1930'a kadar kullanım alanı pek bilinmeyen akrilamid tekstil ve yapay kauçuk üretiminde akrilik liflerin kullanımının yaygınlaşmasıyla önemi kazanmıştır. 1950 yılı sonrası ticari akrilamid üretimi ile endüstriyel tüketim hızlı şekilde artması sonucu akrilamidin polimerleşmesi ve sentezi üzerine yeni yöntemler oluşturulmaya başlanmıştır (16).

Akrilamid (2-propenamid-CH₂CHCONH₂) yapısında vinil grubu bulunan, erime noktası 84,5°C ve kaynama noktası (25mmHg) 125°C (atmosferik basınçta 192,6°C), molekül ağırlığı 71,08 g/mol olan hafif asidik bir maddedir. Saf hali oda sıcaklığında kokusuz beyaz katı kristaller halinde bulunur. Su, etanol ve aseton gibi polar çözücülerde iyi çözünürken, heksan, heptan gibi polar olmayan çözücülerde az miktarda çözünmektedir. Sulu çözeltisi kararlıdır (16, 17).

Çizelge 1: Farklı çözümler içindeki akrilamid çözünürlüğü (8) .

Çözümler	Çözünürlük	Çözümler	Çözünürlük
n-heptan	0,0068	Asetonitril	39,6
Benzen	0,35	Piridin	61,9
Karbontetraklorid	0,38	Aseton	63,1
Dimetilformamid	119	Etanol	86,2
Kloroform	2,66	Dimetilformamid	119
Etil asetat	12,6	Dimetilsülfoksit	124
Dioksan	30	Metanol	155
Etilen glikol monobutil eter	31	Su	215,5

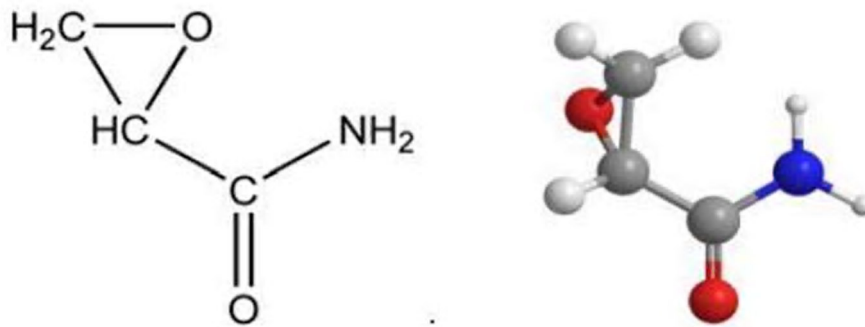
Monomerik ve polimerik olmak üzere iki formu bulunan akrilamid, günlük yaşamda kullanılan birçok üründe farklı şekilde yer alan organik bir bileşiktir. Yapılan çalışmalar sonucunda, insanlar üzerinde akrilamidin monomer formunun sinir sistemi üzerinde toksik etkilerinin olduğu bulunmuştur (18).

**Resim 1:** Akrilamidin iki ve üç boyutlu molekül yapısının (16) .

Akrilamidin monomer formu elektroforez yöntemi kullanılarak protein ayırma (tanımlama) tekniklerinde ve laboratuvar ortamında jel hazırlanması için kullanılmaktadır (19). Polimerik formunun, kirli su arıtma tesislerinde katkı maddesi (koagülant ve flokülant olarak), zenginleştirilmiş petrolün geri kazanımı, organik kimyasalların üretimi, plastik üretimi, toprak düzenleyici ajan olarak ve maden cevheri işlemede kullanıldığı bilinmektedir (6, 19, 20). Poliakrilamid formunun ise baraj, tünel

ve kanalizasyonların inşasında (derz dolgu malzemesi), kontak lens, macun, boya sanayisinde üretim materyali olarak kullanıldığı bildirilmiştir (6, 19).

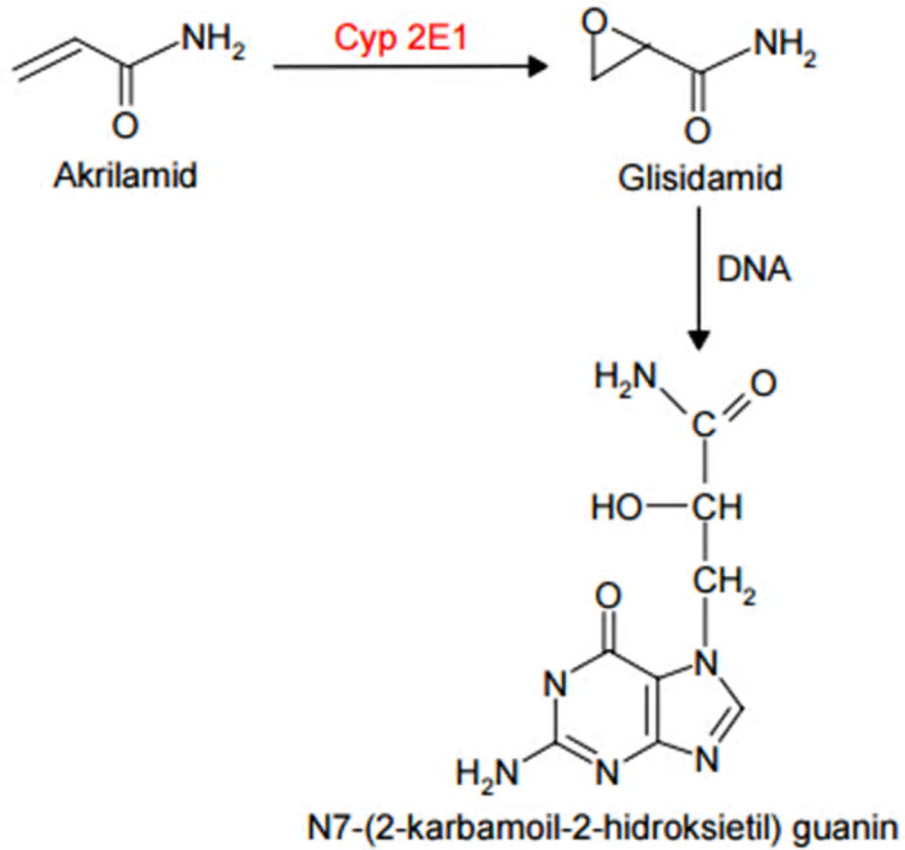
Glisidamid metaboliti yapısından dolayı biyokimyasal reaksiyonlara akrilamide göre daha kolay katılabilmektedir. DNA' ya daha kolay bağlanabilmesi, anne sütüne geçebilmesi ve hayvanlarda tümör oluşumunu neden olması, insanlarda da kanserojen ve mutajenik etkili olabileceği kanısını oluşturmaktadır (20, 21). Elektronca zayıf çifte bağ yapısı ile amid grubuna sahip bir monomer olan akrilamid kimyasallarla kolaylıkla reaksiyona girebilmektedir. Amonyak, metanol ve aminler gibi nükleofilik maddelerle çifte bağ yapısı sayesinde Michael tipi reaksiyonlara girebilirken iki farklı monomer yapısı ile serbest radikallerle ve Diels–Alder katılmalarında tepkimeye girebilmektedir. Amid grubu ise aldehitlerle dehidrasyon ve hidroliz kondensasyon tepkimelerine girebilmektedir. Akrilamidler UV ışını altında ve erime sıcaklığının üzerindeki noktalarda polimerleşebilmektedir. Bunun yanı sıra, sodyum bisülfid, sodyum persülfat gibi serbest radikal kaynakları kullanılarak başlatılmaktadır. Tepkimeler sırasında oluşan ortam şartlarına göre çapraz bağlı veya doğrusal polimerler elde edilebilmektedir. Erime noktasının üzerindeki sıcaklıklarda veya UV ışık altında da kolayca polimerleşebilmektedir (7). Bu reaksiyonların haricinde yine insan ve hayvan vücudunda nörotoksik etkileri olan 2,3-epoksipropanamide (glisidamid) dönüştüğü bildirilmektedir (6, 20). Proteinlerle amin grubu sayesinde tepkimeye girebilmektedir. Hemoglobinle veya sinir sisteminde bulunan proteinlerle bağlanması doku birikimine neden olabilmektedir. Hipotalamustan salgılanan dopamin reseptörlerine bağlandığı düşünülmektedir (21).



Resim 2: Glisidamidin iki ve üç boyutlu molekül yapısının (19).

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 (21).

Akrilamid ve glisidamid düzeylerini incelemek için yapılan toksikokinetik çalışmalarda 1,7 saat bulunan akrilamidin yarılanma ömrünün, glisidamide göre çok daha kısa olduğu belirtilmiştir (18, 20, 21).



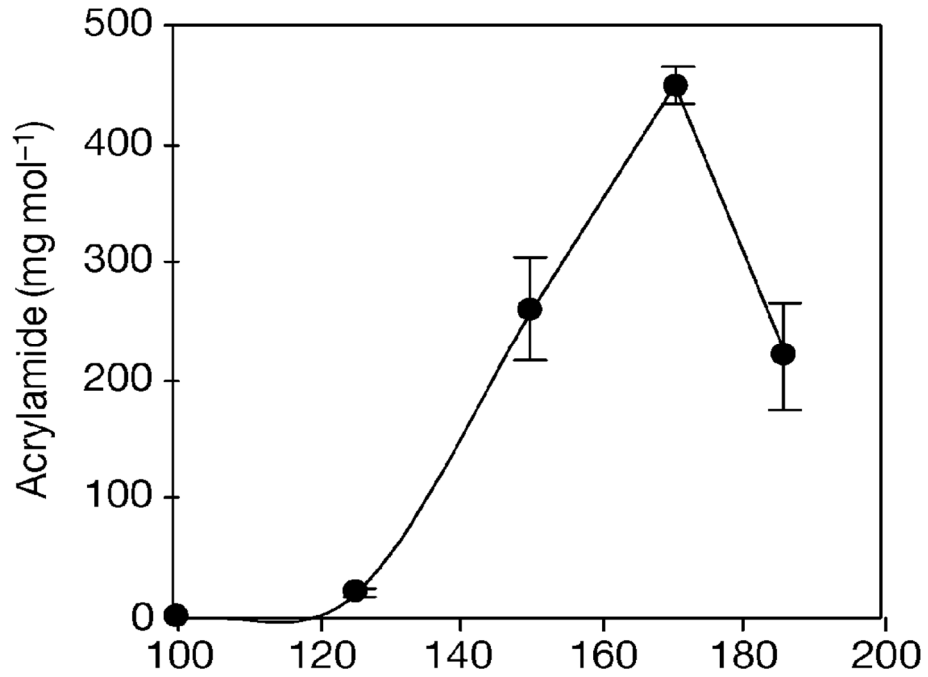
Resim 3: Akrilamid’den oluşan glisidamid ve DNA eklentisi (14) .

2.2.1. Gıdalarda Akrilamid Oluşumu

Gıdaların hazırlanması, işlenmesi ve muhafazası amaçlı uygulanan işlemler aşamasında sıcaklık 220-250° C’ye kadar yükselebilmektedir. Söz konusu işlemin etkisi gıdanın yapısındaki bazı mikroorganizmalar ya da enzimlerin inaktivasyonu ve ısıya duyarlı bazı bileşenlerin kısmen parçalanması ile sınırlı kalmaz. Protein denatürasyonu, lipid oksidasyonu, karamelizasyon ve vitamin kaybı ısıtma sırasında meydana gelen belli başlı değişimlerdir (21).

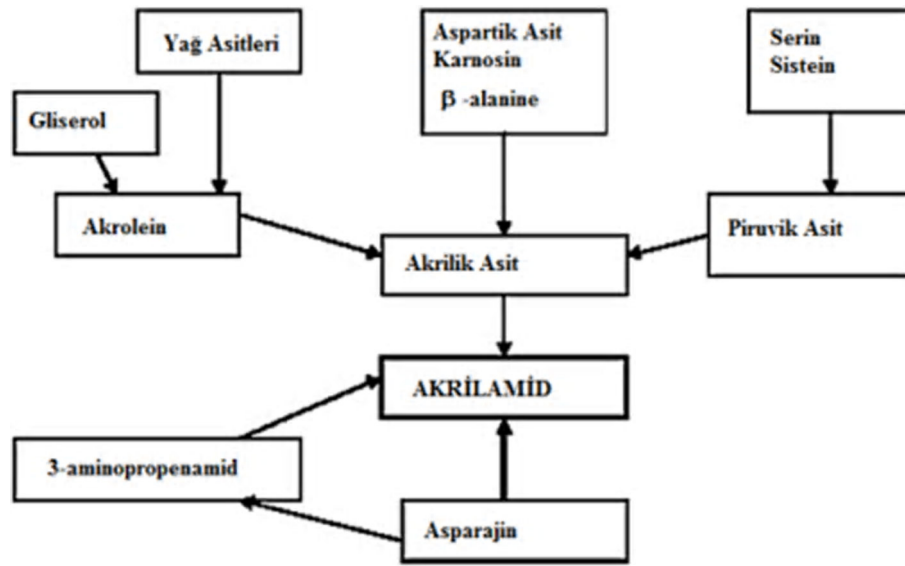
Isıl işlem görmüş gıdalarda akrilamid tesbit edildiğinin bildirilmesinden hemen sonra Avrupa Komisyonu (EC) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) akrilamid konusunda veri tabanı oluşturma kararı almışlardır. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü (WHO) İsviçre'de 2002 yılının haziran ayında, “Gıdalarda Bulunan Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkiler” konulu ortak toplantıda, gıdalardaki akrilamid varlığı hakkında uluslararası bir veri tabanı kurulması gerektiğini bildirerek, tüm ilgili tarafları konuya ilişkin verilerini ve devam eden çalışmalarını paylaşmaya davet etmişlerdir. Bu çaba sonucunda Gıda Güvenliği ve Uygulamalı Beslenme Ortak Enstitüsü (JIFSAN), akrilamid ile ilgili “<http://www.acrylamide-food.org>” adında resmi bir site açmıştır. Araştırmacılar buldukları analitik verileri bu web sitesi aracılığıyla WHO'ya ulaştırabilmektedirler (21-23).

Akrilamidin gıdalarda nasıl oluştuğuna dair kesin bir kanaat olmasa da yüksek sıcaklık uygulanan bazı gıda ürünlerinde oluştuğu ve hangi sıcaklıklarda oluştuğu tam bilinmese de yüksek sıcaklıkta bekleme süresi ile de miktarının arttığı görülmüştür (21). Çiğ ve ısısal işlem uygulanmamış gıdalarda akrilamid oluşmamıştır. Ayrıca, kaynatılmış veya suda haşlanmış gıdalar ölçülebilir düzeyde akrilamid içermemektedir (24). Buna karşın, akrilamid miktarları yüksek sıcaklıklarda kızartılan ve kavrulan çeşitli gıdalarda iz miktarlardan 4000 µg/kg düzeylerine kadar geniş bir dağılım göstermektedir. 100-120°C’ın üzerinde gerçekleştirilen ısıtma işleminden sonra en yüksek akrilamid miktarı karbonhidratça zengin gıdalarda (100-4000 µg/kg) ve en düşük akrilamid miktarı proteince zengin gıdalarda (<100 µg/kg) bulunmuştur (22, 23). Akrilamidin nişasta oranı yüksek gıdalarda oluştuğu düşünülürken gıdaların birçoğunun henüz analiz edilmediği göz önüne alındığında konunun önemi ve ciddiyeti kendini göstermektedir. Bu nedenle gıdalar hem akrilamid içeriği yönünden araştırılması hem de gıdalarda akrilamid oluşumunu azaltacak önlem ve tedbirlerin alınması ve bu konuda yasal düzenlemelerin gündeme getirilmesi ile tüketici sağlığının korunması açısından son derece önemli bir konudur (18, 25).



Resim 4: Cam tüplerde 20 dk ısıya maruz bırakılan 0,1 mmol asparajin, glukoz eklentisinde akrilamid oluşumunun sıcaklığa bağlı olarak değişimi (26).

Gıdalarda akrilamidin oluşmasıyla ilgili birçok teori öne sürülmüştür. Bunun nedeni, akrilamidin gıdalarda birden fazla mekanizma sonucunda oluşmasıdır (26). Bu mekanizmalardan gıda maddelerinde bulunan asparajin, glukoz ve früktoz indirgen şekerlerinin temel katılımcı olduğu maillard reaksiyonları en çok kabul gören teoridir. Diğer teoriler ise akrolein üzerinden ve azot içeren bileşiklerin yeniden yapılanması ile akrolein olmadan direk oluşmasıdır (18, 25-28). Akrolein ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$) akrilamid oluşumunda öncü madde olarak kabul edilmektedir (28).



Resim 5: Akrilamid için alternatif oluşum mekanizmaları (28).

2.2.1.1. Maillard Reaksiyonu ve Akrilamid Oluşumu

İlk kez 1912 yılında Louis-Camille Maillard tarafından ortaya konan (Maillard, 1912) ve bu nedenle kendi adıyla anılan Maillard reaksiyonu, şekerlerin ve aminoasitlerin, renk pigmentleri oluşturmak üzere etkileşmelerini açıklayan bir reaksiyondur. Isıya maruz bırakılmış gıdaların kızarmasına veya kahverengi renk almasına neden olan, bir başka deyişle yediğimiz yiyeceklerin güzel görünmesini sağlayan “kızarma” reaksiyonu Maillard reaksiyonudur (7). Reaksiyon hızı, tepkimeye giren amino bileşiği ile şekerin özelliklerine ve oluşan ürüne bağlıdır. Bu nedenle değişik gıdalar bileşimlerine göre farklı esmerleşme tepkimeleri gösterirler (7-9, 18). Maillard reaksiyonu sonucu gıdalarda akrilamid, oluşumu aminoasitler ve indirgen şekerler arasında gerçekleşen tepkimelerle meydana gelmektedir (29).

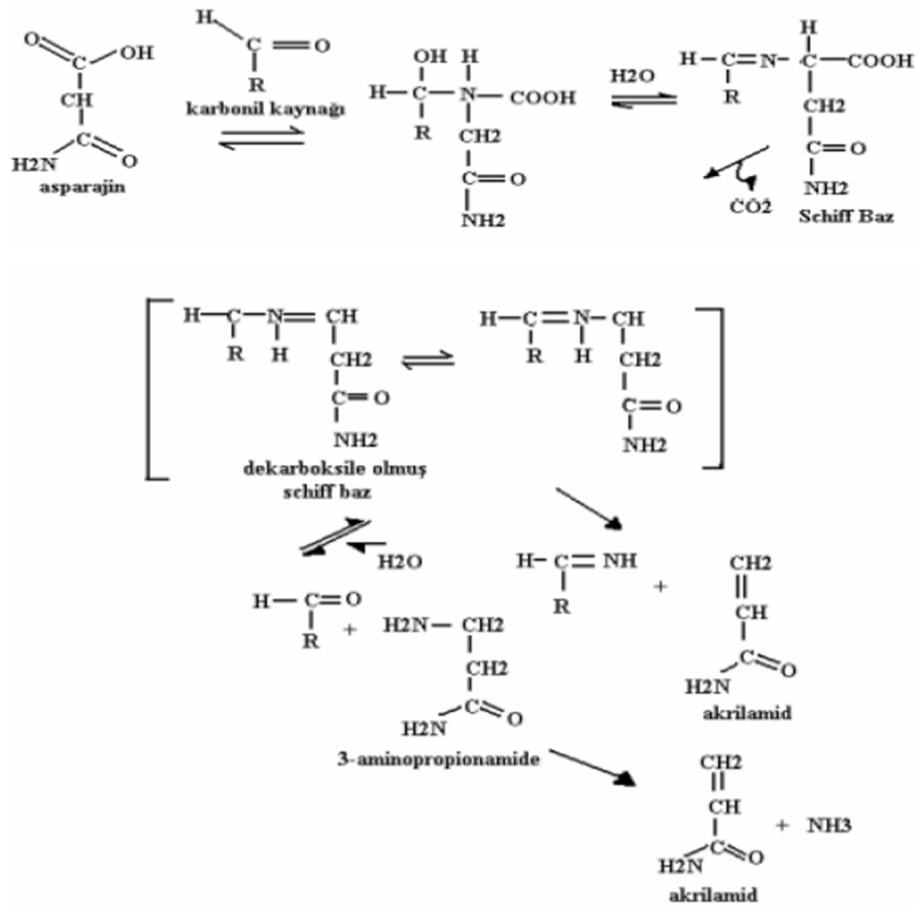
Maillard reaksiyonu üç ana basamaktan oluşur (8, 12). İlk basamak, asparajin ve indirgen (fruktoz ve glukoz) şekerlerden Schiff bazının oluşmasıdır (26). Anahtar basamak ise Schiff bazının ısının etkisi ile dekarboksilasyonudur (26, 29).

Maillard reaksiyonu bir aminoasit veya proteindeki amino grubu ile karbonil grubu içeren bir indirgen şekerin kondensasyon reaksiyonu ile başlar. Reaksiyonun ilk basamağında aminoasit ya da amin gibi nükleofilik bileşikler indirgen şekerlerin karbonil gruplarına kolayca eklenerek imin (Schiff bazı) oluştururlar ve bir molekül su açığa çıkar. Aldoz şekerin reaksiyonunda oluşan iminde α-pozisyonunda bulunan

hidroksil grubunun varlığı nedeniyle, 1,2-eneaminol üzerinden dönüşüme girer. Moleküldeki bu Amadori tipi dönüşüm ile Amadori ürünü olarak adlandırılan aminoketoz bileşiği oluşur. Fruktoz gibi bir ketoz şekerin varlığında ise benzer bir mekanizma ile Heynes bileşiği olarak adlandırılan aminoaldoz meydana gelir (26).

Maillard reaksiyonlarında akrilamid oluşumu bakımından aminoasitler arasında yapılan bir çalışmada aynı tip şekerle tepkimeye giren aminoasitler kıyaslandığında, sistein metionin ve glisin aminoasitleri kullanıldığında tespit edilebilir seviyede akrilamid oluşmazken, glutamin ve aspartik asitte (0,5 mg/mol-1 mg/mol) akrilamid oluştuğu, asparagin kullanıldığında (221 mg/mol) gibi yüksek miktarda akrilamid oluştuğu bulunmuştur (30). Böylece akrilamid oluşumundan sorumlu olan aminoasidin asparagin olduğu teorisi ileri sürülmüştür. Serbest asparagin içeren gıdalarda akrilamid oluşumunun da daha fazla olması beklenmektedir. Yani akrilamid oluşumuna neden olan asparajin aminoasidi, fruktoz ve glukoz gibi indirgen şekerlerdir (26, 31). Maillard reaksiyonu sırasında asparajinle Schiff bazı oluşmasıyla asparajin-glukoz modelinden izole olmuş glioksal, metilglioksal ve bütandion gibi yeni reaktif karboniller oluşur. Akrilamid oluşumuna glioksalın etkisi test edildiğinde, asparajin-glukoz/fruktoz reaksiyonlarına göre 300 kat fazla akrilamid oluşturduğu, glioksalın akrilamid oluşturmada reaktivitesinin yüksek olduğu görülmüştür (30-32).

Amadori ürünlerin varlığı aroma ve esmer renkli polimerlerin oluşumunda önemli öncüllerdir. Maillard reaksiyonunun son aşamalarında ortam koşullarına da bağlı olarak amadori ürününün yıkımı sonucunda ara ürünler (deoksiozonlar) ve uçucu (aroma) bileşikler oluşmaktadır. Melanoidinler olarak bilinen azotlu esmer renkli polimerlerin oluşumu nükleofilik ve elektrofilik ara ürünler arasında gerçekleşen kondensasyon reaksiyonu ile gerçekleşir. Melanoidinlerin, Furan ve pirol bileşiklerinin polikondensasyon reaksiyonları ile oluşan polimerler oldukları düşünülmektedir. Fırıncılık ve kavurma ürünlerinin esmerleşmesinden sorumludurlar (32-35).



Resim 6: Maillard tepkimeleri oluşum şeması (33).

2.2.1.2. Akrolein Bileşiği Üzerinden Akrilamid Oluşumu

Kimyasal yapısı akrilamide çok benzeyen akrolein (CH₂=CH-CHO), lipidlerin transformasyonu, aminoasitlerin, proteinlerin ve karbonhidratların degradasyonu ya da aminoasitler, proteinler ve karbonhidratlarla arasındaki Maillard reaksiyonu sonucu da akrilamid oluşabilmektedir. Akrolein akrilik aside ya da akrilik radikallere yükseltgenmekte, akrilik asit de gıdalardaki azotlu maddelerin sıcaklık etkisiyle bozunması sonucu oluşan amonyak ile reaksiyona girerek akrilamidi oluşturmaktadır. Akrilamid oluşumunda diğer bir yol ise akrolein oluşmadan, azot içeren bileşiklerin (proteinler, amino asitler) yeniden yapılanma, hidroliz, dekarboksilasyon gibi birçok seri transformasyon sonucunda akrilamidin oluşmasıdır (35, 36).

2.2.1.3. “3-APA” Bileşiğı Üzerinden Akrilamid Oluşumu

3-APA (3-aminopropionamide) bileşiğı ısıtma ile kimyasal bir reaksiyona girerek amino grubunun çıkması sonucu akrilamid oluşumuna neden olmaktadır, Bu reaksiyonun Maillard üzerinden yürümediğı ve indirgen şekerlere gereksinim duyulmadığı belirtilmektedir (36).

Akrilamid oluşumu için diğere varsayımlar kısaca açıklanacak olursa:

- Aspartik asit, karnosin ve β -alanının termal bozunma ile ortamdaki amonyak ile reaksiyona girerek akrilik aside dönüştüğü ve akrilik asidin de akrilamide dönüştüğü varsayılmaktadır.
- Pirüvik asit, serin ve sisteminin dehidrasyon ve desulfatasyonu ile oluşarak indirgenme ile akrilik aside dönüştüğü ve akrilik asidin de akrilamide dönüştüğü varsayılmaktadır.
- Bunların dışında akrilamid oluşumu için birçok model sistem çalışılmış ve farklı hipotezler öne sürülmüştür (24, 37).

2.2.2. Akrilamidin Gıdalarda Bulunuşu

Genellikle 90-220 °C’de uygulanan çeşitli ısısal işlemler (kızartma, fırınlama, ızgarada pişirme, sterilizasyon vb.), gıdalarda fiziksel ve kimyasal birçok değişime neden olabilmektedir. Yüksek sıcaklık uygulamaları, gıda maddesinin besleyici özelliğini olumsuz etkileyebilecek toksik bileşiklerin oluşumuna yol açabilmektedir (38, 39).

Nisan 2009’da Avrupa Komisyonunun özel isteğıyle, Avrupa Gıda Güvenliğı Ajansı (EFSA) 2008 ve 2009 yılında 22 ülkede yapılan analizlerin sonuçlarına göre çeşitli gıdalardaki akrilamid değerlerini rapor etmiştir. Bu değerlerden bazıları Çizelge 2’de görüldüğü gibidir. Bu gıdaların dışında fındık, badem, zeytin ve kurutulmuş meyvelerde de az da olsa akrilamid tespit edilmiştir (2, 23, 39).

Çizelge 2: EFSA 2009 tarafından bildirilen gıdalardaki akrilamid miktarları (39).

Ürünler	Örnek Sayısı	Ortalama Derişim (µg/kg)	En Yüksek Derişim (µg/kg)
Ekmekler	272	136	2430
Bisküvi	227	317	4200
Kahvaltılık tahıl	128	156	1600
Tahıl bazlı bebek maması	76	74	353
Patates kızartması	529	350	2668
Kahve	208	253	1158

2.2.3. Akrilamidin Diyet Maruziyetinin Değerlendirilmesi

Maruziyet değerlendirmesi veya risk değerlendirmesi organizmayı etkileyen kimyasal madde dozunun kalitatif ve kantitatif olarak büyüklüğü ile maruziyet sıklık ve süresinin belirlenmesidir. Akrilamid maruziyet değerlendirme çalışmalarında hedef, toplumdaki risk gruplarını da dikkate alarak, söz konusu kimyasala bağlı “kabul edilebilir risk” sınırları içinde tutulmasıdır. Risk yönetimi sürecinde ilk aşamayı insanda kabul edilebilir günlük alım değerleri (miktarı) dikkate alınarak çeşitli gıda maddelerindeki varlığı ve limit değerlerini belirleyen mevzuatın düzenlenmesi oluşturur. FAO/WHO Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzmanlar Komitesi (JECFA) genel popülasyon için ortalama günlük akrilamid maruziyetini 0.3-0.8 µg akrilamid/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlemiştir. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) Avrupa’daki ortalama akrilamid maruziyetini, yetişkinler ve çocuklar için sırasıyla 0,31-1,1; 0,7-2,05 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlenmiştir. Buna benzer birçok araştırmada, çocuklarda ve gençlerde akrilamid maruziyetinin yetişkinlere göre daha fazla olduğu göze çarpmaktadır. Bu akrilamid içeren gıdaların çocuklar tarafından daha fazla tüketmeleri ile açıklanabilmektedir (24, 35, 37-39).

İsveç’te yapılan araştırmalarda, akrilamid alımının bir günde gıda tüketim sıklığına bağlı olarak 100 µg’a kadar çıkabileceği bildirilmektedir (39). Akrilamid alımının

değerlendirilmesinde, sadece besinler değil kozmetik sanayinde, besin ambalajlarında ve suyun işlenmesinde kullanılan poliakrilamidler de hesaba katılmalıdır (33) . Nitekim insanların gıdalar dışında da akrilamide maruz kalabileceği bilinmektedir. Örneğin, poliakrilamidin kullanıldığı içme sularında, ambalaj materyalinde ve kozmetik ürünlerinde düşük miktarlarda bulunduğu belirtilmektedir. Bir sigaranın 1-2 µg akrilamid oluşturduğu dikkate alındığında, sigaranın daha fazla önem taşıdığı bildirilmektedir (39).

2.2.3. Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkisi

Akrilamid plastik sanayide kullanıldığı için toksikolojik açıdan incelenmiş 1994 yılında Uluslar Arası Kanser Araştırma Enstitüsü akrilamidi deney hayvanları üzerinde kanıtlanmış karsinojen etkisinden dolayı Grub 2A ‘olası karsinojen’ olarak değerlendirmeye alırken American Conference of Governmental Industrial Hygienists (Amerikan Endüstriyel ve Toplum Hijyen Konferansı) (ACGIH) tarafından A3 yani insanlar için bilinmemekle beraber hayvanlarda kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (38). Avrupa Birliğinde ise, karsinojen, mutajen ve üreme üzerinde toksik etkili olmak üzere 3 kategoriye ayrılmıştır. Akrilamidin insan ve hayvanlar da oral yolla tek doz alımı sonrası erkek deney hayvanlarının üreme organları ve sinir sistemi üzerindeki toksik etkisinin ortaya çıktığı belirtilmektedir. Akrilamidin yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda; somatik ve cinsiyet hücreleri için genotoksik, genlerde ve kromozomlarda kalıtsal hasara neden olduğu için mutajenik olduğu kabul edilmektedir (33). Akrilamidin insanlarda nörotoksik etkilerinden dolayı merkezi sinir sisteminde denge kaybı, halisünasyon, bunalım veya hafıza kaybı yanı sıra deride kızarıklık ve döküntüler görülür. Periferik sinirlere belirti olarak ekstermitelerde uyuşukluk, foto fobi, titreme ve uyku bozukluklarıdır (39). Kemirgenlerde yapılan bir dizi araştırmalar sonucunda akrilamide maruziyet genotosisiteye, kronik maruziyetler ise adrenal bezleri ve testis tümörleri oluşumuna neden olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışmalar akrilamidin karsinojen özellikte olduğu sonucunu doğrumuştur. Hangi dozun güvenlik seviyesi olduğu tespit edilemediği için düşük dozların bile risk taşıdığı tahmin edilmektedir. Farelerde günlük 20 mg/kg vücut ağırlığı akrilamidin tekrarlanan dozlarda verilmesi sonucu periferik noropati, iskelet kaslarında atrofi, eritrosit miktarlarının azalması gözlenmiştir. Maymunlarda periferik noropatinin klinik bulguları 12 haftalık 10mg/kg vücut ağırlığı gün dozunda ortaya çıkmıştır (40, 41).

Kâğıt fabrikalarında ve suda çözünen polimerlerin üretildiği işyerlerinde çalışanların inhalasyon ve temas yoluyla için akrilamide maruz kaldığı belirtilmektedir (41). Polar ve düşük molekül ağırlığından dolayı organizmada hızlı dağılım ve atılımı gerçekleşen akrilamidin metaboliti olan glisidamidin alınan doza bağımlı olarak doku ve hücrelerde DNA, RNA ve proteinlere bağlanabildiği ve bu sayede bileşik oluşturma istekleri ve potansiyellerinin yüksek olması nedeniyle bir takım sağlık problemlerine yol açtıkları bildirilmektedir (39).

2.2.3.1. Doku Dağılımı

Akrilamid küçük moleküllü yapısından dolayı organizmaya alımı sonrası hızla emilmektedir. Akrilamidin dokulara dağılımı alınış yoluna bağlı olarak değişiklik göstermesine rağmen cinsiyet farklılığı dağılımı etkilememektedir (42). Gıda maddeleri ile birlikte gastro intestinal sistemden (GİS) alındığında öncelikli olarak kas dokuya yayılmaktadır. İnhalasyon yoluyla alındığında ise akrilamid ağırlıklı olarak önce kanda sonra akciğerlere, kemik iliğine, deriye ve tetislere dağılmaktadır. İntravenöz uygulama sonrası en çok eritrositlerde varlığı gösterilmiştir (7, 40). Dermal temasta en fazla dağılımın deride olduğu belirtilmiştir. Akrilamidin dermal absorpsiyonuna yönelik olarak gönüllüler üzerine yapılan bir çalışmada cilt üzerine uygulanan % 50 akrilamid çözeltisi takiben 24 saat içinde absorpsiyonun % 26 oranında görüldüğü belirtilmiştir (7).

Erkek albino sıçanlara intravenöz (damar içi) yoluyla 100 mg/kg dozda radyoaktif işaretli akrilamid uygulayarak yaptıkları çalışmada; kan, plazma ve dokularda (beyin, omurilik, siyatik sinirleri, karaciğer ve böbrek) biriken radyoaktiviteyi ölçmüşlerdir. Analiz sonuçlarına göre en yüksek değerdeki radyoaktiviteyi kanda tespit etmişlerdir. En yoğun radyoaktivitenin kan dokusunda birikmesini, akrilamidin hemoglobinle kompleks yapmasına dayandırmışlardır. Çünkü kanda her 1 mol hemoglobine 4 mol akrilamid molekülü bağlanarak taşına bilmesiyle açıklamışlardır (41).

2.2.3.2. Kanserojenite

Akrilamidin hücre kültürlerinde in vitro ve hayvan modelleri üzerinde in vivo testlerde genotoksik etkilerin bulunması ve akrilamide maruz kalan farelerde çoklu tümörlerin saptanması insanlar içinde kanserojen madde sınıfında değerlendirilmesine sebep

olmuştur (41). Akrilamidin yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda; somatik ve cinsiyet hücreleri için genotoksik, genlerde ve kromozomlarda kalıtsal hasara neden olduğu için mutajenik olduğu kabul edilirken, insanlar için karsinojenik olduğuna dair veri bulunmamaktadır (32). Bazı Avrupa ülkelerinde kanser oranları üzerine yapılan çalışmalarda, akrilamid içeren gıda ve içeceklerin tüketimi ile böbrek, kalın bağırsak, idrar kesesi, ağız boşluğu, yutak, gırtlak, yemek borusu, göğüs ve yumurtalığı kapsayan çeşitli yerlerdeki kanser oranları arasında direkt bir ilişki olmadığını bildirilmiştir (38).

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 (38, 41).

2.2.3.3. Nörotoksisite

Akrilamid insan ve laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan deneylere göre nörotoksik etkilidir (34). Yapılan bu çalışmalar, akrilamidin farklı doz protokollerinin özellikle oral ve damar içi uygulamalarında meydana gelen doku hasarlarının mekanizmalarının ortaya çıkartılmasına yönelik olmuştur. Bazı çalışmalarda sinirsel dokulardaki anatomikya da biyokimyasal değişiklikler incelenirken, bazı çalışmalarda sadece nörotoksitesi incelenmiştir. Birkaç çalışmada ise akrilamid toksisitesinin zamanla değişimi, biyokimyasal ve morfolojik parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Akrilamide maruz kalan insanlarda iskelet kası zayıflığı ve güçsüzlüğü, ellerde ve ayaklarda uyuşmalar, ataksi, serebellar purkinje hücre hasarı ve uzak aksonların dejenerasyonu görülmüştür (43).

Akrilamidin nörotoksik etkilerini inceleyen çalışmalar sıçan, fare, maymun, köpek ve kediler üzerinde yoğun olarak sürdürülmektedir (44, 45).

Yapılan çalışmalarda intraperitoneal olarak akrilamid uygulanan sıçanların siyatik sinir dokularında, hücre iskeleti proteinlerinin düzeylerinde bir azalma olduğu bulunmuş ve bu bulgu olası akrilamid-kaynaklı periferik nöropatilerinin bir nedeni olarak değerlendirilmiştir (40). Günlük diyetle 90 gün boyunca akrilamid uygulanması

sonucunda periferik sinir lezyonlarının oluştuğu ve periferik sinirlerde sadece elektron mikroskobu ile belirlenen bir hasarın oluştuğu bildirilmiştir (43, 45). Yapılan çalışmalarla varılan kanaat Akrilamid ve glisinamidin nörotoksin olarak değerlendirilmesinin sebebi, dopamin reseptörlerine ve spermatid protaminlere bağlanarak nöral sistemde iletişim sağlayan kinesin ve dyneine motor proteinlerinin aktivitelerini engellemesidir (46).

Akrilamid toksisitesinin klinik özellikleri maruziyetin miktarına bağlıdır. Akut yüksek doz veya uzamış düşük doz maruziyet sonucu değerliş şiddette periferik nöropatlere neden olabilir (45). Nöropati, sensoriyal ve motor liflerin her ikisini de tutan bir aksonopatidir. Nörolojik muayenede distal sensorimotor defisit ve öncelikle aşıl refleksinin etkilendiği diğer nropatilerden farklı olarak tüm derin tendon reflekslerinde erken kayıp rastlanır. Yürüyüş ve ekstremitate ataksisi, duyuusal kayba bağlı olduğundan oldukça ağırdır (46-48).

2.2.4. Gıda Kaynaklı Akrilamidden Korunma Yolları

Yüksek ısısal işlem (120°C'nin üzerinde) görmüş gıda maddelerinde yoğun miktarlarda akrilamid oluştuğu belirlenmiştir. Ancak düşük sıcaklıklarda (120°C'nin altındaki) sıcaklıklarda haşlanarak hazırlanmış gıdalarda ise akrilamid oluşmadığı grlmştir (49). Akrilamid oluşumu sıcaklık ve sreye bağlı olması nedeniyle ürün işlem yönteminde yapılacak farklılıklar (süresinin kısaltılması ya da sıcaklığın düşürülmesi) ile ürünün akrilamid içeriği azaltılabilir. Ancak gıdanın mikrobiyal güvenliği açısından ısısal işlem uygulamalarının önemi dikkate alınarak uygun ısıların seçilmesi önem arz etmektedir (33).

Kızartma işleminden akrilamid oluşumunu azaltmak için suda bekletme, haşlama, asitli suda bekletme n işlemleri uygulanmaktadır. Haşlanan patates dilimlerinde asparajın ve indirgen şeker içeriğinde önemli miktarda azaldığı grlmştir. Normal şartlar altında suda bekletilen ürünlerde indirgen seker içeriğinin bol miktarda azaldığı, asparajın miktarındaki azalmanın fazla olmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle akrilamidden korunmak amaçlı kızartma öncesi haşlamak daha etkili yöntemdir. Asitli suda bekletilerek ortam pH'nın düşmesiyle Maillard tepkimelerinin gerçekleşmesi için uygun ortamın bozulduğu ve akrilamid oluşumunun % 70 düzeyinde azaldığı rapor edilmiştir (50, 51).

Akrilamid ile yada onun öncü maddeleri ile reaksiyona girebilen antioksidanların kullanımının, ısıtma işlemi uygulanmış gıdalarda akrilamid oluşumunu çoğunlukla azalttığı tespit edilmiştir. Ancak, bazı çalışmalarda akrilamid oluşumunu arttırdığı da tespit edilmiştir. Örneğin antioksidanların pişirme işlemi öncesinde gıdaya ilave edilmesinin (BHT, susam ve E vitamini gibi) daha yüksek akrilamid oluşumuna neden olduğu, diğer taraftan, flavanoid içeren antioksidanların ise akrilamid düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır (51).

2.2.5. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Yapılan çalışmalarda gıdalarda akrilamid oluşumunu etkileyen faktörler, ısıtma işlemi sıcaklığı ve süresi, gıdadaki indirgen şekerler, amino asitler, yağlar, karbonhidratça ve proteince zengin matriksler, pH, nem ve agronomik ve genetik faktörler olarak bildirilmiştir (50).

2.2.5.1. Sıcaklık ve Isıtma Süresinin Etkisi

Gıdaların uygulanan sıcaklığın artmasıyla üründe oluşan akrilamid miktarı da artış göstermektedir. Akrilamid oluşumunda sürenin önemi de büyüktür. Kızartma işleminin başlangıcında akrilamid oluşumu görülmezken, kızartma işleminin sonuna doğru sıcaklık ve nem koşullarının elverişli hale gelmesi ile akrilamid oluşumunda hızlı bir artış görüldüğü belirlenmiştir (50) . Düşük sıcaklıkta uzun pişirme süresi uygulanarak akrilamid miktarının yıkıma bağlı azaltılabileceği bilinmektedir. Yapılan bir 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 (51).

Maillard reaksiyonunun gerçekleşmesi için de Sıcaklık ve ısıtma süresinin en önemli kriter olduğu ve sıcaklıkla reaksiyon hızının arttığı, Louis-Camille Maillard tarafından tespit edildiği bildirilmiştir. Genellikle verilen sıcaklıkta, kahverengi pigmentlerin oluşumunun artışı reaksiyon süresinin karesi ile doğru orantılı olduğu görülmüş ve her 10°C'lik sıcaklık artışının Maillard reaksiyon hızını 4 kat artırdığı aktarılmaktadır (50, 51) .

2.2.5.2. İndirgen Şekerler

Besin gruplarındaki kompleks karbonhidratların uygun ısı (100 °C'nin üzeri) ve hafif asidik ortamda parçalanarak monosakkaritleri oluşturduğu bilinmektedir. Oluşan bu basit yapılı şeker grubu olan monosakkaritler, asparagin ile reaksiyona girerek akrilamidi oluşturmaktadır. Reaksiyona katılan şekerlerin zincir uzunluğu kısaltıldıkça, oluşan akrilamid miktarı artmaktadır. Şekerlerin zincir uzunluğunun kısalması ile molekülün halkalı hemiasetal yapı kazanması zorlaşmaktadır. Bu nedenle, karbonil kolaylıkla, asparaginin α -amini ile reaksiyona girmektedir. Akrilamid oluşumun düzeyinin glikoz ve früktoz gibi monosakkarit gubuları ile orantılı olduğu rapor edilmiştir (18, 25, 29, 30). Yapılan bir çalışmada glikoz, sukroz, früktoz gibi farklı gurup şekerler ile asparajin reaksiyonlarını incelemiş eşit oranda şeker ile aynı oranda asparajinin akrilamid oluşturma düzeylerine bakılarak reaktiflikleri belirlenmiştir. Bulunan sonuçlara göre; akrilamid oluşum seviyesi en düşük sukroz kullanıldığında en fazla fruktoz kullanıldığında görülmüştür. Elde edilen sonuçlar indirgen şekerlerden fruktozun akrilamid oluşturma reaktifliğinin en fazla sukrozun ise en az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (18, 25).

Maillard tepkimesinin başlaması için ortamda mutlaka indirgen özellikte şekerler bulunması gerekmektedir. Şekerlerin serbest aldehit ya da keton grupları içermesi azotla kolayca reaksiyona girmesini sağlamaktadır. İndirgen şekerleri glikoz, fruktoz gibi heksozlar veya maltoz, laktoz gibi disakkaritler oluşturmaktadır. Sakkaroz gibi indirgen olmayan disakkaritler ve bağlı sekerler (glikolipitler, glikoproteinler ve flavonoidler) ancak hidrolize olduklarında reaksiyona katılabilmektedirler. Sakkaroz gibi indirgen olmayan şekerler de, gıdaların ısı ile etkileşime girmesiyle hidroliz olduğu zaman, indirgen şekerler ortaya çıkmakta ve asparaginin α -NH₂ grubu ile reaksiyona girerek akrilamidi oluşturmaktadır (52).

2.2.5.3. Amino Asitler

Yapılan çalışmalarda düşük asparagin ve indirgen şeker içeren una, aynı indirgen şeker ilavesinin akrilamid oluşumunu etkilemediği, ama asparagin ilavesinin akrilamid oluşumunu arttırdığı görülmüştür. Bu sebeple Asparagin aminoasidinin akrilamid oluşumunda indirgen şekerlere göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Asparjin dışındaki amino asitlerin akrilamid oluşumu üzerine yapılan bir çalışmada 140°C ve 200°C'daki

asparagin-glikoz tepkimesine sistemin ya da lizin ilavesinin akrilamid oluşumunu azalttığı, glutamin ilavesinin ise akrilamid oluşumunu arttırdığı, alaninin etkisinin ise nötr olduğu tespit edilmiştir (53-55).

Yapılan bir araştırmada patateslerin kızartma öncesinde, glisin ile muamele edilmesi sonrasında % 35-50 oranında akrilamid oluşumunun azaldığı saptanmıştır (53).

Glikozla reaksiyona giren farklı amino asitlerin oluşturduğu akrilamid seviyeleri Çizelge 3' de gösterilmiştir.

Çizelge 3: Farklı amino asit grupları ile eşit oranda glukoz ile reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid değerleri (24, 29).

Aminoasit Grubu	Akrilamid/aminoasit (mg/mol)
Glisin	<0,5
Metionin	<0,5
Sistein	<0,5
Aspartik asit	0,5-1,0
Glutamin	0,5-1,0
Asparajin	221

2.2.5.4. Yağlar

Yağlar dumanlanma noktasının üzerindeki sıcaklıklara ısıtıldığında, gliserolün parçalanması ile akrolein oluşmaktadır (56) . Lipidlerin transformasyonu oluşan Akrolein ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$) ve doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu üzerinden akrilamid oluştuğu düşünülmektedir. Akrolein oluşumu yağların doymamışlık oranına bağlantılı artmaktadır. Yağların cinside akrilamid oluşum hızını etkileyebilir (41).

2.2.5.5. Karbonhidratça ve Proteince Zengin Matriksler

Akrilamid oluşumunu arttırma, azaltmada gıda matrikslerinin de etkilerinin olduğu ifade edilmektedir. Ancak, hangi faktörlerin nasıl etkiledikleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Öncül maddeler olmadığı zaman, matriksin etkisi akrilamid oluşumunda yeterli olmamaktadır. Mısır ve buğday unu patatesteki konsantrasyona kadar asparagin ile zenginleştirildiğinde, patatestekinin ancak beşte biri kadar akrilamid oluşabildiği aynı zamanda akrilamidin mısır ve buğday ununda patatese göre daha yavaş parçalandığı belirtilmiştir (18, 25, 26).

Türkiye’de yapılan bir çalışmada proteince zengin et bazlı ürünlerde ızgara şeklinde pişirilme sonrasında oluşan akrilamid miktarları araştırılmıştır. Araştırma göstermiştir ki; ızgara şeklinde pişirilmiş tavuklardaki akrilamid miktarı 23-28 ppb aralığındayken, ızgarada pişirilmiş kırmızı etlerde bu bulgular 49-250 ppb aralığında değişmektedir (35).

2.2.5.6. Gıdanın pH Seviyesi ve Nem Düzeyi

Ortam pH’ı hem şekerlerin hem de amino grubunun reaktifliği için önemlidir. Düşük pH’larda akrilamid oluşumunun azalacağı yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir (53) pH değeri maillard reaksiyonunu hızına direk arttırıcı etki yapar. Reaksiyon hızının en yüksek olduğu pH değeri 10 olup, bu değerin üzerinde Amadori düzenlemesinin yavaşladığı görülmektedir (52). Ortamın pH değerinin düşürülmesi Maillard reaksiyonunda akrilamid oluşumu için temel basamak olan Schiff bazının ve de Amadori ürünlerinin oluşumunun engellemesi hem şeker grubunun, hem de amino grubunun reaktivitesini etkilemektedir Yapılan çalışmalarda, mısır cipslerinin kızartma işlemi öncesinde % 0,1-0,2 ya da % 1-2’lik sitrik asitli çözeltiye daldırılmasının, akrilamid oluşumunu azalttığı görülmüştür (53). Nem içeriğinin düşmesiyle ters orantılı olarak akrilamid oluşum miktarı artmaktadır. Akrilamid oluşması için maillard reaksiyonlarında en uygun nem düzeyi % 12-18 olarak bildirilmiştir (43).

2.2.6. Akrilamidin Vücuttan Atılımı

Akrilamid ve akrilamid türevlerinin organizmadan atılımı temel olarak, üriner sistem (idrar), gastro intestinal sistem (safra, gaita) ve solunum sistemi (ekspirasyon) yolu ile gerçekleşmektedir (54, 55).

Akrilamidin organizmada en yoğun ve kolay eliminasyon yolunun idrar olduğu ortaya konmuştur. Kemirgenlere (rat-fare) intravenöz yolla uygulanan akrilamidin % 62'si 24 saat içinde idrarla atıldığı tespit edilmiş, bu oranın % 7'sini glisidamid ve glisidamid metaboliteri oluşturmuştur. Aynı çalışmada, akrilamidin deriden uygulamasını takip eden ilk 24 saatte alınan idrar örneklerinde ise atılım oranının % 1,5 olduğu belirtilmiştir. Glisidamid olarak dışarı atılan metabolitlerin yüzdesi ise % 17 seviyesinde bulunmuştur (34).

Akrilamidin yemekle vücuda alınıp idrarla dışarı atılmasına yönelik olarak deneklerin idrarlarında yapılan değerlendirmede; 0,94 mg akrilamid içeren gıdanın vücuda alınından 72 saat sonra % 60'ı idrarda bulunmuştur (55).

2.2.7. Akrilamidin Günlük Alım Seviyesi ve Yasal Uygulamalar

Avrupa Birliği ve ABD gibi ülkeler kısa dönem ve uzun dönem akrilamid alım miktarlarını incelemiş günlük alım miktarının olması gereken istatistiksel verilerini açıklamışlardır. Günlük ortalama alım seviyesini olarak 0,3-2 µg/kg olarak bildirilmişlerdir. Akrilamidin uzun dönem vücutta birikmesi ve etkilerinin görülmesi vücut yapısı, ırk, yaş, biyolojik etkilere ya da gıda tüketim alışkanlıklarına göre değiştiği bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün gıdalar ve içme suyu, hava, paketlenme materyali, kozmetik ürünler (Çizelge 4) için günlük alınması akrilamid miktarlarını sınırlandırmıştır. (8, 47, 48).

Sağlık üzerinde Tehdit oluşturan yüksek düzeyde akrilamid içeren gıdalar için Dünya Sağlık Örgütü' satışa sunarken ambalajların üzerine uyarı yazısı konulması "insan sağlığına zararlı akrilamid maddesi içerir" ya da satılmasının yasaklanması gerektiği yayınlanmıştır. (48) .

Çizelge 4: AB tarafından akrilamid için izin verilen maksimum sınırlar (8) .

Bulunduğu yerler	Akrilamid
Kozmetik ürünler	0,1-0,5 mg/kg
Su	0,1 µg/l
Gıdalar	0,5-0,8 µg/kg/gün
	(35µg/gün)
Hava	30 µg/m ³
Paketleme materyalleri	10 µg/kg

Isıl işlem görmüş karbonhidrat bazlı gıdalarda akrilamid düzeyleri için Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)’nin 2007-2008 yılları arasında gerçekleştirdiği ‘Gıdalarda Akrilamid İzleme Programı’ verilerinden yola çıkarak çok tüketilen bazı gıdalar için ‘Gösterge Değerler’ adı altında bir liste yayımlamıştır. “Gösterge Değerler” akrilamid için maksimum limit değerleri olmayıp, yetkili merci için bu değerler aşıldığı zaman sorunun nerde olduğuna dair yardımcı olacak bir rehber niteliğindedir. Bir üründe bu değerler aşıldığı zaman o bölgedeki yetkili makam o verileri ilgili operatörden alıp Avrupa Komisyonu yetkililerine rapor etmekle yükümlüdür. Bu veriler gıdalarda akrilamidin azaltılmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesine ve ilerde maksimum limitlerin düzenlenmesine katkı sağlayacaktır (48)

Çizelge 5: Gıdalarda akrilamid için gösterge değerleri (44) .

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

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihaz, Gereç ve Kimyasallar

3.1.1. Cihaz ve Gereçler

- EIA Spektrofotometre (BIO-TEK)
- EIA yıkayıcı (BIO-TEK)
- Santrifüj (Nüve NF 800R)
- Vortex (Heidolph Reaxtop)
- Hassas terazi (Sartorius TE102S)
- Manyetik karıştırıcı (Elektromag-M21)
- Çalkalayıcı (Elektromag-M21)
- Deiyonize su cihazı (Millipore)
- Buzdolabı (Profilo)
- Cam tüp
- Otomatik pipet
- Yardımcı Malzemeler
- 100 µL ve 200 µL pipetler

- Mutlak metanol
- Yıkama şişesi
- Filtre kağıdı
- Emici kâğıt havlular
- Zaman ölçer kronometre

3.1.2. Kimyasallar

- Akrilamid EIA kiti (Abraxis)
- Mikroplate 96 kuyucuklu (Antikor Kaplı)
- Akrilamid A standart solüsyonları (0,0; 2,5; 5; 10; 25; 50 ve 200 ng/ml)
- Akrilamid HRP konjugat
- Akrilamid HRP konjugat dilüent
- Akrilamid antikor
- Akrilamid substrat (color, renklendirici)
- Akrilamid kontrol
- Akrilamid sonlandırıcı (stop) solüsyonu (1M Sülfirik asit)
- Buffer dilusyon (Yıkama Tamponu)
- Akrilamid derivatizasyon kiti
- Metanol (Merck)
- PBS buffer (Abraxis)
- Tampon (Abraxis)

3.2. Yöntem

3.2.1. Kahve Numunelerinin Toplanması ve Deneye Hazırlanması

Çalışma materyali olarak Türkiye'nin 14 farklı ilinden (İzmir, İstanbul, Edirne, Isparta, Kayseri, Gaziantep, Urfa, Mardin, Samsun, Elazığ, Diyarbakır, Sivas, Antalya, Muğla) her birinden farklı ticari mekanlarda tüketime sunulan iki adet açık ve bir adet çeşitli markaların ambalajlı ürünlerinden tesadüf örnekleme yöntemine göre toplanılmış toplam 42 adet Türk kahvesi örneği kullanılmıştır. Örnekler çalışmanın yapılacağı laboratuvarlarda analizleri yapılncaya kadar oda ısısında saklanmıştır.

Toplanan örnekler 2 şer g tartılarak 5'te 1 (1/5) oranında solvent eklendi (10 mL solvent, % 70'lik metanol, 2 gram numune içindir). Yapılan karışım 5 dk boyunca hızlıca vortekste karıştırıldı.

Her numune için ayrı deney tüpleri uygun zemine yerleştirildi. Vorteksten çıkan karışım süzüldü. Bu işlem için huni deney tüpüne yerleştirildi. Huninin içine daire şeklinde katlanmış kurulama kâğıdı huninin iç çeperini tamamen kaplayacak şekilde yerleştirildi. Kâğıdın üzerine bir miktar cam pamuk ve onun üzerine de bir miktar sodyum sülfat eklenir ve karışım bu düzenekten süzüldü. Deney tüpüne alınan süzüntülerin her biri hassas kantarda tartılarak ağırlıkları birbirine yakın olan numuneler santrifüj aletinde birbiri karşısına gelecek şekilde yerleştirilerek 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan kısımların her biri ayrı bir tüpe aktarıldı ve seyreltme işlemine geçildi. Seyreltme işleminde deney tüpünün üst kısmından 100 µL alındı ve üzerine 900 µL metanol ilave edildi.

Türevlendirme işlemi

- Örnek ekstraktından 250 µL vidalı kapaklı bir cam şişeye alındı.
- Her bir örnek için 50 µL türetme reaktifi eklendi.
- Kuvvetli bir şekilde 10-15 saniye vortekslendi.
- 60 dakika süre ile 47-53 °C'de inkübe edildi. Numuneler 15 dakika soğumaya bırakıldı.

- Soğutulmuş türetilmiş örnekler 2,0 mL akrilamid testi buffer eklendi.
- Örneklerin türevlendirme ve analizleri aynı gün gerçekleştirildi.

3.2.2. EIA Analiz Yöntemi

Çalışmamızda akrilamid analizleri için ticari Abraxis marka (Lot No. 14H4639, 2015) elisa kiti prosedürleri kullanılmıştır.

Bütün ayraçlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Standart çözelti, kontrol ve türetilmiş örnekler antikor kaplı plakadaki her bir kuyucuğa 50 µL konuldu.

Akrilamid HRP enzim konjüгатı çözeltisi 50 µL konuldu.

Akrilamid antikor çözeltisi 50 uL eklendi. Parafin film veya bant ile kaplanarak yaklaşık 60 saniye boyunca masa üstü dairesel hareketlerle hareket ettirerek içerikleri karıştırıldı.

Plaka 4° C da 60 dakika inkübe edildi.

İnkubasyondan sonra, örtü kaldırmak ve bir lavabo içine bu kuyuların içeriğini sallayarak boşaltıldı ve yıkama tampon çözeltisi ile üç kez EIA yıkayıcıda her bir yıkama tamponu 250 ul hacim olacak şekilde yıkandı. Kuyularda kalan tampon sıvısı kâğıt havlu yığını üzerinde plaka kurularak uzaklaştırıldı.

Her beyaz kutucuğa 150 µL renklendirici reagent eklenir ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. Oda sıcaklığında 20-30 dakika inkübe edildi.

Her beyaz kutucuğa 100 µL stop solüsyon eklendi ve akrilamid içeriğine karşılık gelen optik yoğunluğun standart eğrisi oluşturuldu. Numune örnekleri standart eğrinin okunması ile ölçüldü. Bir numune en yüksek standarttan yüksek ise % 70 metanol ile sulandırılıp tekrar test edildi. Sonucu belirtirken eklenmiş çözelti faktörü göz önünde bulunduruldu.

Tablo 3.1: Elisa kiti standart değerler

Standart (ng/ml)
0,0
2,5
5
10
25
50
200

3.3. Değerlendirme

ELISA değerlendirilmesi (4-Parametresi (tercih) veya Logit/Giriş) ticari ELISA değerlendirme programları (GEN 5) kullanılarak yapıldı. Değerlendirme standartların her biri için ortalama absorbands değeri hesaplanarak yapıldı.

3.4. İstatistik analiz

Veriler aritmetik ortalama ve standart hata şeklinde verildi; hesaplamalar SPSS 20 Windows paket programında geręekleřtirildi.

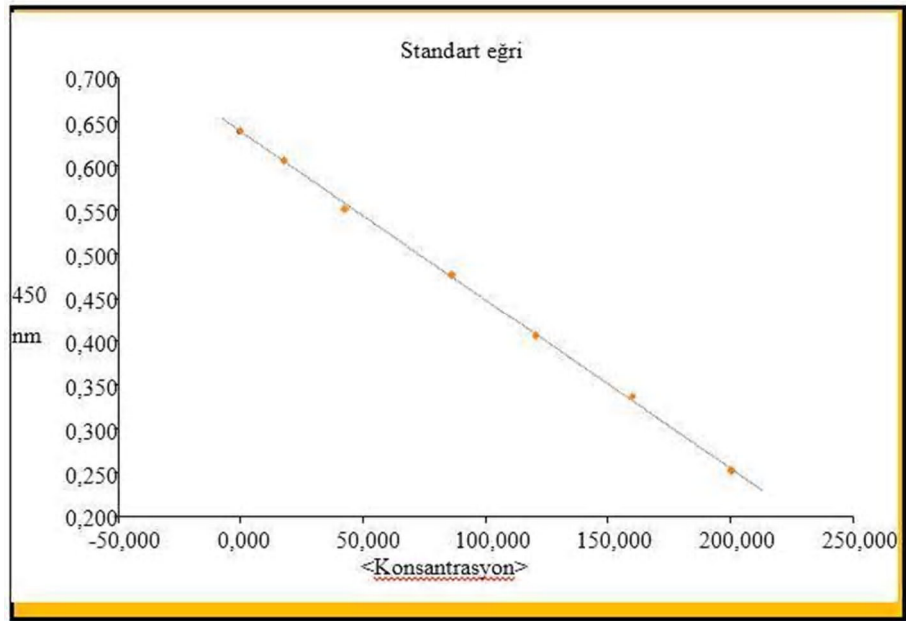
4. BULGULAR

4.1. Akrilamid EIA Analiz Bulguları

Bu çalışmada bu Türkiye'nin değişik illerinden toplanan kahve örneklerinde immunuenzimatik yöntemlerle akrilamid ile olası kirlenmenin boyutları belirlenerek ortaya konulmuştur.

4.2. Linearity (Doğrusallık)

Linearity (doğrusallık) değeri için 7 noktalı (0; 2,5 ppb, 5 ppb, 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb ve 200 ppb) ve EIA doğrusallık kalib rasyon grafiği çizilmiş ve korelasyon katsayısı (R²) 0.999 olarak bulunmuştur. Ticari Abraxis marka elisa kitinden alınan Akrilamid standart eğrisi Resim7'de gibi elde edilmiştir.



Resim 7: Akrilamid Standart eğrisi

Gıdalarda akrilamid düzeyleri ile ilgili henüz ne Avrupa Birliği ne de ülkemizde belirlenmiş resmi limit değerleri bulunmamaktadır. Fakat Avrupa Komisyonu (EC),

Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)'nin 2007-2008 yılları arasında gerçekleştirdiği 'Gıdalarda Akrilamid İzleme Programı' verilerinden yola çıkarak çok tüketilen bazı gıdalar için 'Gösterge Değerler' adı altında bir liste yayımlamıştır. 'Gösterge Değerler' akrilamid için maksimum limit değerleri olmayıp, yetkili merciye bu değerler aşıldığı zaman sorunun nerde olduğuna dair yardımcı olacak bir rehber niteliğindedir. Biz de elde ettiğimiz Tablo 4.1'de görülen sonuçları 'Gösterge Değerler' listesine göre yorumlanmıştır.

Tablo 4.1: Kahve örneklerindeki EIA yöntemine göre akrilamid (AKR ppb; (ng/ml)) düzeyleri

n	AKR (ppb)	n	AKR (ppb)	N	AKR (ppb)
1	TED	15	TED	29	TED
2	TED	16	TED	30	125
3	TED	17	TED	31	142
4	TED	18	175	32	TED
5	TED	19	93	33	85
6	148	20	89	34	TED
7	155	21	96	35	TED
8	TED	22	45	36	TED
9	162	23	TED	37	196
10	85	24	65	38	TED
11	TED	25	TED	39	TED
12	55	26	185	40	TED
13	165	27	TED	41	TED
14	TED	28	TED	42	TED

n : Kahve örnekleri

TED : Tespit Edilemedi

Analiz edilen örneklerin yaklaşık % 40'ında akrilamid varlığına rastlanmıştır. Bu örneklerde ortalama akrilamid derişimi 121,529 ppb'dir. Bulgulara göre en yüksek akrilamid derişimi 196 ppb, en düşük derişim ise 45 ppb olup, toplam örnek sayısının (n) % 60'ında ise akrilamid tespit edilememiştir. Bulgularda ortaya konan akrilamid değeri Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)' nin gösterge değeri altında olmaktadır.

Bulunan sonuçlar Çizelge 5'de 'Gösterge Değerler' listesindeki Kavrulmuş kahve' başlığı altındaki değere göre (450 ppb) değerlendirilmiş ve bulunan tüm sonuçların bu değerin altında kaldığı görülmüştür.

Tablo 4.2: Akrilamid pozitif kahve örneklerinin aritmetik ortalama ve standart hata.

n	Aralık	Minimum değer (ppb)	Maximum değer (ppb)	Ortalama	Standart hata
17	151,00	45,00	196,00	121,529	11,644

Tablo 4.3: Akrilamid pozitif kahve örneklerinin tespit edilen değerlere göre dağılım aralıkları.

n	0-50 (ppb)	50-100 (ppb)	100-150 (ppb)	150-200 (ppb)
17	1	7	3	6

Tablo 4.3'de akrilamid tespit edilen kahve örneklerinin bulunan değerlere göre dağılım aralıkları verilmiş olup 100 ppb'nin üstünde üç, 150 ppb'nin üstünde ise altı örneğe rastlanmıştır. Tablo 4.2'de ise kahve örneklerinde akrilamid düzeylerine göre aritmetik ortalama ve standart hata değerleri verilmiştir.

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Akrilamidin nişasta oranı yüksek gıdalarda oluşması ve gıdaların birçoğunun henüz akrilamid yönünden analiz edilmediği göz önüne alındığında konunun önemi ve ciddiyeti kendini göstermektedir. Bu nedenle gıdalar hem akrilamid içeriği yönünden araştırılması hem de gıdalarda akrilamid oluşumunu azaltacak önlem ve tedbirlerin alınması ve bu konuda yasal düzenlemelerin gündeme getirilmesi ile tüketici sağlığının korunması açısından son derece önemli bir konudur (28).

Yapılan birçok araştırmada ticari ve laboratuvarı hazırlanan çeşitli gıda maddelerinde akrilamid konsantrasyonları karşılaştırılmış ve karbonhidratlarca zengin besinlerde akrilamid miktarlarının proteince zengin gıdalara göre çok daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (42, 56-71).

Bu tez çalışması için ticari EIA kitli analiz metodu incelenip modifiye edilerek uygulanmıştır. Metodun teşhis limiti 25 ng/ml olarak belirtilmiştir. Metodun geri kazanım değeri ticari kit için % 101,79 olarak belirtilmiştir. Ayrıca geri kazanım değeri standart ekleme metodu ile de % 97,90 olarak belirtilmiştir. Çalışmada satışa sunulan ve akrilamid oluşma potansiyeli yüksek olan, türk kahvesi, tesadüf örnekleme yöntemi ile temin edilerek analiz edilmiştir. Bu analiz sonuçları Avrupa ve Türkiye’de henüz gıdalarda akrilamid için limit değerler belirlenmediği için Avrupa Komisyonu (EC), Avrupa Gıda Güvenliği Dairesi (EFSA)ın 2011 yılında yayımladığı ‘Gösterge Değerler’ listesine göre değerlendirilmiştir.

Yapılan bu çalışmada piyasadan toplanan farklı çeşitteki kahve ürünlerinin akrilamid sonuçlarının, ‘Gösterge Değerler’ listesindeki değerlerin üzerine çıkmadığı, bu değerlerin altında kaldığı, en yüksek akrilamid miktarı 196 ppb, en düşük akrilamid miktarı ise 45 ppb olarak tespit edildi.

Amerika’da Gıda ve İlaç Dairesi tarafından 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’nın akrilamid değeri 131 µg/kg iken 55 grlık porsiyonda 7,3 µg akrilamid bulunmuştur. Kahve için 1 kg’nın akrilamid değeri 8,5 µg/kg iken 240 gr’lık kahve tüketiminin 3,2 µg akrilamidin vücuda alınmasına neden olduğu bildirilmiştir (66) .

Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu’nun (TÜBİTAK) yaptığı gıda taramalarında, ülkemizde günlük tükettiğimiz birçok üründe akrilamid varlığı saptamışlardır. Bunlar fırıncılık ve kavrulmuş gıda ürünlerdir. Yapılan çalışmalarda en çok patates kızartmasında bulunurken; pirinç pilavı, döner, pekmez ve helva gibi gıdalarda daha düşük seviyede olduğu saptanmıştır (57, 58).

Yapılan çalışmalarda; kızarmış patates ve ekmek, cips, kahvaltılık tahıllar, nişasta değeri yüksek unlu mamuller (bisküvi, kraker), kavrulmuş kuruyemişler ve kahvede akrilamidin oldukça yoğun ve sıklıkla olduğu tespit edilmiştir (17, 21, 24, 37, 49, 56, 60, 72, 75).

Yapılan araştırmalar, patates ürünleri ve kahvenin akrilamid alımının en önemli kaynakları olduğunu göstermiştir. Akrilamidin diyetle alımı her birey için en az 0,31 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak hesaplanmıştır. Patates cipsi, patates kızartması gibi gıdaların günlük akrilamid alımına % 36, kahvenin ise % 39 oranında bir katkısı olduğu görülmüştür (49, 72-74).

Ölmez ve ark. (15) GC–MS tekniği ile yaptığı çalışmada gıdalardaki akrilamid miktarlarını 200-336 µg/kg olarak tespit etmişlerdir.

Şenyuva ve Gökmen (57) yaptıkları çalışmada kahvede akrilamid miktarlarını 12-29 µg/kg olarak bulmuşlardır.

Kaplan ve ark. (59) ise ızgara gıdalarda 2 örnekte 20 ve 30 µg/kg olarak tespit etmişlerdir.

Yıldız (49), 7 farklı kahve markasında yapılan tez çalışmasında LCMS/MS tekniği ile akrilamid kalıntıları 119-218 µg/kg olarak tespit etmiştir.

Alpözen (60) İzmir gevreği örneklerinde LC-MS/MS tekniği ile yapılan akrilamid analizlerinde yöntemin saptama sınırı (LOD) 1,48 µg/kg, ölçme sınırı (LOQ) 4,93 µg/kg olarak belirlenmiştir. Değişik üretim yerlerinden alınan İzmir gevreği örneklerinde belirlenen ortalama akrilamid düzeyini 68,63 µg/kg bulmuştur.

Öncü ve Can (61) tarafından gıdalarda bulunan akrilamid miktarının pişirme şartlarına bağlı olarak değiştiği ve özellikle kahve ve patates cipsleri başta olmak üzere birçok örnekte nispeten yüksek bulunduğu ifade edilmiştir. Kahvedeki akrilamid miktarları en düşük ve en yüksek 2,74-14,11 ng/mL arasında seyretmiştir.

Soares ve ark. (74) kahve ve kahve ürünlerinde akrilamidi belirlemek için gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemin çok çeşitli kahve ürünlerine uygulanabilir olduğunu belirtmişler ve farklı kahve ürünlerinden oluşan 26 örneği analiz etmişlerdir. Buldukları akrilamid seviyeleri, “espresso kahve” için 11,4-36,2 µg/kg ve hububat ile kahve karışımları için 200,8-229,4 µg/kg aralığında çıkmıştır. Hububat varlığının akrilamid düzeylerini önemli ölçüde arttırdığını belirtmişlerdir.

Murkovic (75) Avusturya’da yaptığı akrilamid çalışmasında en yüksek akrilamid seviyesini patates cipslerinde 1500 ng/g’ın (ortalama 499 ng/g) üstünde bulmuştur. Diğer gıda gruplarında ise daha düşük miktarlarda tespit etmiştir. Bu çerezlerde ortalama 99 ng/g, gevrek ekmekte ortalama 69 ng/g, kahvaltılık tahıllarda ortalama 0 ng/g, patlamış mısır ve pirinç ürünlerinde ortalama 97 ng/g ve kahvede ortalama 169 ng/g olmuştur.

Brezilyada (76) karbonhidrattan zengin gıdalardan seçilmiş 19 ürün kategorisini temsil eden 111 numunenin akrilamid içeriği sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi yöntemi kullanılarak analiz edildi. Laboratuvar doğrulama prosedürü sırasında, 10 µg/kg tespit sınırı, 20 µg/kg nicelik sınırı ve % 100-% 115 aralığında ortalama geri kazanım elde edilmiştir. Numunelerdeki akrilamidin konsantrasyonu 20 ila 2528 µg/kg arasında değişmiş ve aynı gıda ürünü sınıfı içindeki gıda maddeleri arasında bile önemli farklılıklar gözlenmiştir. En yüksek seviyeler, patates ürünlerinde ve kahvede, en düşük konsantrasyonlar mısır bazlı ürünler, ekmek ve birada bulunmuştur.

Pacettia ve ark. (77) endüstriyel ve geleneksel Kolombiya gıdalarındaki akrilamid seviyelerini gaz kromatografisi kütle spektrometrisi (GC/MS) ile analiz etmişlerdir. Bunlar bebek toz formülleri, kahve ve çikolata tozları, mısır aperiifleri, fırın ürünleri ve yumru, et ve sebze bazlı gıdalardır. Farklı gıdalar arasında ve özellikle kahve tozu, kahvaltılık hububat bisküvisi ve patates kızartması örnekleri için, aynı gıdaların farklı markalarında akrilamid düzeylerinde geniş bir değişkenlik bulmuşlardır. Test edilen endüstriyel gıdalarda ortalama akrilamid değerleri kavrulmuş kahve tozu, gofret, bisküvi ve patates cipsinde sırasıyla 3797 µg/kg, 1449 µg/kg, 1104 µg/kg ve 916 µg/kg olmuştur. Öte yandan geleneksel gıdalar arasında kızartılmış platano (2813 µg/kg) ve yuca (3755 µg/kg)'da diğer ürünlerle karşılaştırıldığında daha yüksek akrilamid miktarları tespit edilmiştir.

Khan ve ark. (78) Suudi Arabistan'da ısıtılma tabi tutulmuş gıdaların akrilamid içeriği üzerine (Arap kahvesi qahwa, kahve ve çay) farklı marka ve menşeli toplam 56 gıda örneği incelemişler; qahwa, kahve ve çayda 10-682 µg/kg aralığında akrilamid düzeyi tespit etmişlerdir. Kahve (152-682 µg/kg) ile karşılaştırıldığında, Arap kahvesi qahwa (73-108 µg/kg) ve çay (10-97 µg/kg) düşük miktarda akrilamid içerdiğini bildirmişlerdir. Düzeylerin kavurma sıcaklığı ve zamanı, pH'sı, gıda ürünlerindeki asparaginler ile indirgen şekerler ve su aktivitesiyle ilişkili olabileceği vurgulanmıştır.

Mojska ve Gielecinska (22) tarafından kavrulmuş hazır kahvelere ait ticari örneklerde ve kahve ikame (tahıl) maddelerinde LC-MS/MS yöntemi ile akrilamid seviyesini belirlemek amacıyla, kavrulmuş 28 kahve, 11 hazır kahve ve 3 tahıl kahvesi olmak üzere toplam 42 kahve örneği analiz etmişlerdir. Akrilamidin kahveden analitik olarak tespitinde sıvı kromatografi ve bunu takiben kütle spektrometresi (LC-MS/MS) kullanmışlardır. En yüksek akrilamid konsantrasyonlarını kahve ikame maddeleri (818 µg/kg) bunu takiben hazır kahvede (358 µg/kg) ve daha sonra kavrulmuş kahvede (179 µg /kg) bulmuşlardır. Tek bir fincan kahve (160 ml), kavrulmuş kahvede ortalama 0,45 µg akrilamid varken kahve ikame maddelerinde ise bu düzeyin 3,21 µg'a kadar çıktığını bulmuşlardır. Akrilamid düzeyinde kahve türleri arasında anlamlı bir farklılık bulmamışlardır. Çeşitli kahve üretim yöntemlerinde akrilamidte (yani, dondurularak kurutulmuş kahve ile topaklaştırılmış kahve arasında) herhangi bir farklılık görmemişlerdir. Hazır kahve için kavurma işleminin doğal kahvedeki akrilamid seviyeleri üzerinde belirgin etkisinin olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak piyasadan toplanan 42 farklı kahve örneğinde akrilamid sonuçlarının “Gösterge Değerler” listesindeki değerlerin altında kaldığı, en yüksek akrilamid miktarının 196 ppb; en düşük akrilamid düzeyinin ise 45 ppb olduğu immuno-enzimatik yöntemle tespit edilmiştir. Bulunan sonuçlar Çizelge 6’da “Gösterge Değerler” listesindeki kavrulmuş kahve başlığı altındaki değere göre (450 ppb) değerlendirilmiş ve bulunan tüm sonuçların bu değerin altında kaldığı görülmüştür. Gıdalardaki akrilamidin rutin olarak değerlendirilmesi için güvenilirliği yüksek ve düşük maliyetli etkin metodlar geliştirilmelidir. İlgili laboratuvarlarda akrilamid seviyesi ve gıdanın işlenme ve geliştirilme süresi arasındaki ilişki sistematik olarak incelenmelidir. Çeşitli gıda gruplarında yapılan çalışmalar, akrilamid oluşumu için gerekli olan zaman, sıcaklık, pH, su aktivitesi gibi unsurları belirlemeye ve gıdalardaki akrilamid seviyesini en aza indirmeye yönelik olmalıdır. Akrilamid gibi kanserojen etkili bileşikler ve diğer kanserojen maddeler hakkında yeterli veri olanağı sağlamalı, ulusal, uluslararası boyutlarda basın yayın kuruluşları vasıtasıyla toplum bilgilendirilmelidir.

6. KAYNAKLAR

1. Arusoğlu G. Akrilamid oluşumu ve insan sağlığına etkileri. Akademik Gıda 2015; 13: 61-71
2. Karagöz A. Akrilamid ve gıdalarda bulunuşu. TAF Preventive Medicine Bulletin 2009; 8: 187-192.
3. Saner S. Gıda Güvenliği Yönetim Sistemlerinin Türkiye’de Gıda Güvenliği Üzerine Etkisi. 7. Gıda Mühendisliği Kongresi. Ankara 2011, ISBN 978-605-01-0212-3. s 4.
4. Köksel H, Uygun U. Gıda Güvenliğini Tehdit Eden Kimyasallar. Gıda Güvenliği Dergisi 2010.<http://www.ggd.org.tr/icerik.php?İd=342> Erişim tarihi:08/09/2015.
5. Boyacı Gündüz CP, Bilgin AK, Cengiz MF. Acrylamide contents of some commercial crackers, biscuits and baby biscuits. Akademik Gıda 2007; 15: 1-7
6. Gökmen V. İşlem Bulaşanları.7. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2011, Ankara, ISBN 978-605-01-0212-3. s 5
7. [Http://www.who.int/foodsafety/areas_work/chemical-risks/acrylamide/en/](http://www.who.int/foodsafety/areas_work/chemical-risks/acrylamide/en/) Erişim tarihi: 08/09/2015.
8. Eriksson S. Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Stockholm University, Doctoral Thesis, Stockholm 2005.
9. Grivas S, Lingnert H, et al. Report from swedish scientific expert committee: Acrylamide in food-mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. Scandinavian Journal 2002; 46: 159-172.
10. Yılmaz E., Oroman Y., Özdemir G., Yılmaz İ. Arap S., Türk Kahvesi Tüketim Eğilimleri ve Tüketici Özelliklerinin Belirlenmesi. XII. Tarım Ekonomisi Kongresi Mayıs 2016.
11. Buffo RA, Cardelli-Freira C. Coffee flavour: An Overview. Flavour Fragr. Journal 2004; 19: 99-104.
12. Çağlarırnak N, Ünal K. Yeşil Kahve Telvesinin (Coffe Arabica) Kavrulması Sırasında Temel Kimyasal Bileşenlerinde Oluşan Değişimler. Gazi Osman Paşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 1997; Sayı: 1: 36-49.

13. Bagdonaite K, Murkovic M. Factors affecting the formation of acrylamide in coffee. *Czech Journal of Food Sciences* 2004; 22: 22-24.
14. Zhang Y, Zhang Y. Effect of natural antioxidants on kinetic behavior of acrylamide formation and elimination in low-moisture asparagine–glucose model system. *Journal of Food Engineering* 2008; 85: 105-115.
15. Ölmez H, Tuncay F, Özcan N, Demirel S. A Survey of acrylamide levels in foods from the turkish market. *Journal of Food Compositionan Analysis* 2008; 21: 564-568.
16. Acrylamide Mechanism of Action. University of Minnesota. Exposure To Environmental hazards. Fall Semester 2003. <http://enhs.umn.edu/current/5103/acryl/mechanism.html> Erişim Tarihi: (06/01/2015)
17. Taşan M. Tahıl kaynaklı ürünlerde akrilamid varlığı. Türkiye 10. Gıda Kongresi. Erzurum 2008.
18. Dybing E, Sanner T. Risk assessment of acrylamide in food. *Toxicol Sciences* 2003; 75: 7-15.
19. Tornqvist M, Fred C, Haglung J, Elleberg H, Paulsson B, Rydberg P. Protein adducts: Quantitative and qualitative aspects of their formation, analysis and applications. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002; 778: 279-308.
20. Gölükcü M, Tokgöz H. Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizması ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Derim Dergisi* 2004; 22: 41-48.
21. Tamer CE, Karaman B. Gıdalarda Akrilamid Oluşumu ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. 8. Gıda kongresi 2006; 31.
22. Mojska H, Gielecinska I. Studies of acrylamide level in coffee and coffee substitutes: influence of raw material and manufacturing conditions. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2013; 64: 173-181.
23. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002; 50: 4998-5006.
24. Richmond P, Borrow R. Acrylamide in Food. *The Lancet* 2003; 361: 361-362.
25. Xu Y, Cui B, Ran R, Liu Y, Chen H, Kai G, Shi J. Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: current status and future prospects. *Food Chem Toxicol* 2014; 69: 1-12.

26. Claeys W, De Vleeschouwer K, Hendrickx M. Quantifying formation of carcinogens during food processing: acrylamide. *Trends Food Sci Tech* 2005; 16: 181-193.
27. Becalski A, Lau B, Lewis D, Seaman S. Acrylamide in foods: Occurrence, sources and modeling. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 802-808
28. Lingnert H, Grivas S, Jaegerstad M, Skog K, Törnqvist M, Aman P. Acrylamide in food: Mechanisms of formation and influencing factors during heating foods. *Scandinavian Journal of Nutrition* 2002; 46: 159-172
29. Boyacı C. P., Cengiz M. F. Akrilamidin Diyet Maruziyetinin Degerlendirilmesi. 4. Gıda Güvenliği Kongresi 2013. http://www.gidaguenligikongresi.org/2013/?P=2012poster_bildirileri, Erişim Tarihi: 01/09/2015.
30. Özkaynak E. Çeşitli pişirme tekniklerinin sigara böreğinde akrilamid oluşumu üzerine etkiler. Yüksek Lisans Tezi, Fen bilimleri Enstitüsü Ege Üniversitesi, İzmir, 2004; 18-45.
31. Girma KB, Lorenz V, Blaurock S, Edelmann FT. Coordination chemistry of acrylamide. *Coordination Chemistry Reviews* 2005; 249: 1283-1293.
32. Amrein TM, Andres L, Manzardo GGG, Amado R. Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54: 10253-10261.
33. Koutsidis G, Fuente A, Dimitriou C, Kakoulli A, Wedzicha BL, Mottram DS. Acrylamide and pyrazine formation in model systems containing asparagine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56: 6105-6112.
34. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. *Food Chemistry*. (4 ed.), Springer 2009.
35. Alpözen E, Güven G. Gıdalarımızdaki Kanserojen: Akrilamid. *Analiz '35 Dergisi* 2010; 5:10-13.
36. Claus A, Carle R, Schiebe A. Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science* 2008; 47: 118-133.
37. Bagdonaite K, Viklund G, Skog K, Murkovic M. Analysis of Aminopropioamide: A potential Precursor of Acrylamide. *J Biochem Biophys Methods* 2006; 69: 215-221.
38. Galesa K, Bren U, Kranjc A, Mavri J. Carcinogenicity of acrylamide: A Computational. Study. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 8720-8727.

39. Kütting B, Schettgen T, Schwegler U, Fromme H, Uter W, Angerer J, Drexler H. Acrylamide as Environmental Noxious Agent. *Int J of Hyg and Env Heal* 2009; 212: 470-480.
40. Yousef MI, El-Demerdash FM. Acrylamide-induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats *Toxicology* 2006; 219: 133-141.
41. Exon JH. A review of the toxicology of acrylamide. *J Toxicol Environ Health* 2006; 9: 397-412.
42. Ayalp N. Geleneksel Türk Kahvesi İç mekanlarının çağdaş yorumu. Hacettepe Üniversitesi, Sanatta Yeterlik Tezi, Ankara, 2008.
43. Lopachin RM. The changing view of acrylamide neurotoxicit. *Neurotoxicology J* 2004; 25: 617-630.
44. Alpözen E, Güven G. Katkı maddelerinin akrilamid oluşumuna etkisi. *Analiz'35 Dergisi* 2012; 15: 36-37.
45. Kısabay A, Korkmaz T, Çakıroğlu E, Selçuki D. Kısa süreli akrilamid maruziyet sonucu gelişmiş toksik polinöropati olgusu. *Causapedia* 2014; 2147-2181.
46. Lopachin RM. Acrylamide neurotoxicity: Neurological, morphological and molecular endpoints in animal models. *Adv Exp Med Biol* 2005; 561: 21-37.
47. Sharp D. Acrylamide in food. *Lancet* 2003; 361: 361-362.
48. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Health Implications of Acrylamide in Food, Report of a Joint FAO/WHO Consultation. World Health Organization, Geneva, 2002.
49. Yıldız A. Katı faz ekstraksiyon metodu ile LC/MSMS cihazı kullanılarak işlenmiş gıdalarda akrilamid tayini ve çeşitli ön işlemlerin patates kızartmasındaki akrilamid oluşumu üzerindeki etkisi. Dicle Üniversitesi, Doktora Tezi, Diyarbakır, 2014.
50. Pedreschi F, Kaack K, Grandby K. Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. *Lebensm-Wiss. U-Technol* 2004; 37: 679-685.
51. European Commission - scientific committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food. Brussels, Belgium 2002.
52. Taeymans D, Wood J, Ashby P, Blank I, Studer A, Starller RH, Gonde P, Van Eijck P, Laljie S, Lingnert H, Lindblom M, Matissek R, Muler D, Tlimadge D, O'Brien J, Thompson S, Silvani D, Whitnorne T. A review of acrylamide: an industry perspective on

- research, analysis, formation and control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2004; 44: 323-334.
53. Alpözen E, Güven G. Gıdalara Uygulanan Ön işlemlerin Akrilamid Oluşumuna Etkisi. *Analiz 35 Dergisi*, 2010; 18: 28-30.
 54. Galdo CV, Massart C, Jin L, Vanvooren V, Fauquet C, Andry G., et al. Acrylamide, an in vivo thyroid carcinogenic agent, induces DNA damage in rat thyroid cell lines and primary cultures. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2006; 6: 257-258.
 55. Maniere I, Godard T, Doerge DR, Ghurchwell MI, Guffroy M, Laurentie M, Poul J. DNA damage and DNA adduct formation in rat tissues following oral administration of acrylamide. *Mutat Res* 2005; 580: 119-129.
 56. Prestona A, Fodeyb T, Elliott C. Development of a high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for the routine detection of the carcinogen acrylamide in food, via rapid derivatisation pre-analysis. *Analytica Chimica Acta* 2008; 608: 178-185.
 57. Şenyuva HZ, Gökmen V. Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: Investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting. *Food Addit Contam* 2005; 22: 214-220.
 58. ge.mam.tubitak.gov.tr/tr/labrotuvar/analiz-14 Erişim: 10.08.2016
 59. Kaplan O, Kayab G, Ozcan C, Incec M, Yaman M. Acrylamide concentrations in grilled foodstuffs of Turkish kitchen by high Pperformance liquid chromatography-mass spectrometry. *Microchemical Journal* 2009; 93: 173-179.
 60. Alpözen E. İzmir Gevreğinde Akrilamid Düzeylerinin Belirlenmesi ve Pişirme Koşullarının Akrilamid Oluşumu Üzerine Etkileri. Ege Üniversitesi, Doktora Tezi, İzmir 2012.
 61. Öncü Can N. Akrilamidin gıda maddelerinde oluşumuna etki eden faktörlerin incelenmesi ve miktarının tayini. Anadolu Üniversitesi, Doktora Tezi, Eskişehir, 2007.
 62. Dalan G. Turkish coffee: The sustaining power of interpersonal communication. Yeditepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2007.
 63. Kıvançlı J. Türk kahvesinin karakteristik lezzetinin GC/GM ve lezzet profili analizi tekniği ile belirlenmesi. Ege Üniversitesi, Doktora Tezi, İzmir, 2011.
 64. Yılmaz S. Hatay bölgesinde tüketilen kahve örneklerinin mineral içeriklerinin araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Hatay 2014

65. Yüceşen D. Kahve telvesinin çeşitli alanlarda kullanım olanaklarının belirlenmesi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2012.
66. Küçük Z. Farklı tahıllardan malt unlarının akrilamid düzeylerinin belirlenmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, 2009
67. Koç Z. Poliakrilamid/Na-montmorillonit ve poli (2-Hidroksi Etil Metakrilat)/Na-montmorillonit nanokompozitlerin sentezi ve karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
68. Ulusoy S. Stevia ile tatlandırılmış bisküvilerin kalite özellikleri ve akrilamid içeriğinin belirlenmesi. Mersin Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, 2011.
69. Altınöz E. Ratlarda, akrilamid kaynaklı oksidatif stres ve genotoksisite üzerine N-asetilsisteinin etkilerinin araştırılması. İnönü Üniversitesi, Doktora Tezi, Malatya, 2009.
70. Kahraman Başkan S. Akrilamid ve biyojenik aminler için gıda örneklerine yönelik kapiler elektroforetik analiz yöntemlerinin geliştirilmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Doktora Tezi İstanbul, 2012.
71. Karakul D. Patates ön ıslatma işleminin kızartılmış üründe akrilamid oluşumuna etkisi üzerinde araştırmalar. Hacettepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2006.
72. Tuta S. Dondurulmuş patates dilimlerine uygulanan mikrodalga ile ön-çözdürme işleminin parmak patatesin akrilamid içeriği ve kalite özelliklerinin incelenmesi. Mersin Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, 2009.
73. Amrein T. Systematic studies on process optimization to minimize acrylamide contends in food. Doctoral Thesis, Swiss Federal Institue of Technology, Zurich 2005.
74. Soares C, Cunha S, Fernandes J. Determination of acrylamide in coffee and coffee products by GC-MS using an amproved SPE clean-up. Food Addit Contam 2006; 23: 1276-1282.
75. Murkovic M. Acrylamide in Austrian foods. J Biochem Biophys Methods 2004; 61: 161-167.
76. Ariseto AP, Toledo MC, Govaert Y, Loco JV, Fraselle S, Weverbergh E, Degroodt JM, Determination of acrylamide levels in selected foods in Brazil. Food Addit Contam 2007; 24: 236-241.
77. Pacettia E, Gilb NG, Fregaa L, Álvarezc P, Dueñasc A, Garzón G, Luccid P. Acrylamide levels in selected colombian foods. Food Additives & Contaminants 2015; 8: 99-105.

78. Khan, M. R. Et al. Occurrence of acrylamide carcinogen in Arabic Coffee Qahwa, Coffeeand Tea Trom Saudi Arabian Market 2017. Sci. Rep. 7, 41995; doi: 10.1038/srep 41995.

- [preferences](#)
- [önceki ödev](#)

• [sonraki ödev](#)
[Doküman Görüntüleyici](#)

Turnitin Orijinallik Raporu

- İşleme konu: 15-Haz-2017 15:24 EEST
- NUMARA: 825189858
- Kelime Sayısı: 8490
- Gönderildi: 1

İMMÜNO-ENZİMATİK YÖNTEMLE KAHVE ÖRNEKLERİNDE ...Göksel Dürmüş tarafından

Benzerlik Endeksi

%18

Kaynağa göre Benzerlik

Internet Sources:
%15

Yayınlar:
%4

Öğrenci Ödevleri:
%5

[alıntıları çıkar](#) [bibliyografayı çıkar](#) [küçük eşleşmeleri çıkar](#) [İndirileni yazdır](#)
mod:

- 1 %3 eşleşme (21-Oca-2016 tarihli internet)
<http://openaccess.inonu.edu.tr:8080>
- 2 %2 eşleşme (30-May-2016 tarihli internet)
<http://docplayer.biz.tr>
- 3 %2 eşleşme (10-Haz-2015 tarihli öğrenci ödevleri)
[Submitted to TechKnowledge Turkey](#)
- 4 %1 eşleşme (01-Ara-2014 tarihli internet)
<http://www.gidaguvenligikongresi.org>
- 5 %1 eşleşme (14-Ara-2015 tarihli internet)
<http://acikerisim.dicle.edu.tr>
- 6 %1 eşleşme (26-Tem-2016 tarihli internet)
<http://docplayer.biz.tr>
- 7 %1 eşleşme (22-Haz-2015 tarihli internet)
<http://www.gidadernegi.org>
- 8 %1 eşleşme (25-Eki-2015 tarihli internet)
<http://gidalab.tarim.gov.tr>
- 9 %1 eşleşme (22-Haz-2015 tarihli internet)
<http://acikarsiv.ankara.edu.tr>
- 10 %1 eşleşme (06-Oca-2016 tarihli öğrenci ödevleri)
[Submitted to European University of Lefke](#)
- 11 %1 eşleşme (29-Tem-2012 tarihli internet)
<http://mersin.mitosweb.com>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Göksel DÜRMÜŞ

Uyruğu : T.C.

Doğum Tarihi, Yeri : 02 Mart 1987, Gaziantep

Medeni Durumu : Evli

Tel : 0537 204 9053

Mail : gökseldurmus27@gmail.com

Yazışma Adresi : Cumhuriyet Mh. 60 No' lu Sk. 50/b Şahinbey/GAZİANTEP

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet
Yüksek Lisans	Erciyes Üniv. Sağlık B. E.	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Hasan Kalyoncu Üniv. Sağlık B. E	Devam Ediyor
Lisans	Aksaray Sağlık Yüksekokulu	2009
Lise	19 Mayıs Lisesi/Gaziantep	2004

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2010-2015	ERÜ Tıp Fakültesi Hastanesi	Hemşire
2015-	Hasan Kalyoncu Üniversitesi MYO Öğretim Görevlisi	

YABANCI DİL

İngilizce