



Akrilamid; Toksikitesi, Azaltma Teknikleri ve Analiz Yöntemleri Acrylamide; Toxicity, Reduction Techniques and Analysis Methods

Banu AKGÜN¹, Muhammet ARICI²

¹ Gıda Yük. Müh., Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü-Bursa

² Prof. Dr., Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya ve Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü-İstanbul

Özet

İsveç'li bilim adamlarının 2002 yılında ısıtma işlemine maruz kalan patates kızartması, ekmek, bisküvi gibi nişastalı gıdalarda potansiyel bir karsinojen olan akrilamid bulgusuna rastladıklarını açıklaması, gıda endüstrisinde büyük bir endişeye sebep olmuştur. Akabinde, uzmanlar gıdalarda akrilamid oluşumunu azaltmaya yönelik araştırmalara yoğunlaşmaya başlamışlardır. Pişirilen gıdalardaki akrilamid oluşumunu azaltmak için çeşitli stratejiler olsa da uygulanan yöntemlerin çoğu Maillard reaksiyonlarının azaltılmasını veya engellenmesini hedeflemektedir. Bu tür çalışmalarda, gıdalardaki akrilamid seviyesi azaltılırken ürünün lezzet ve görünüm özelliklerini korumak ve yeni riskler oluşturmamak önemlidir. Bu derlemede, akrilamidin toksisitesi, akrilamid oluşumunu azaltma stratejileri ve akrilamid analiz yöntemleri hakkında bilgiler verilecek ve ardından gıdalarda akrilamid seviyesini azaltmak için yapılmış güncel çalışmaların sonuçlarına değinilecektir.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, Toksikite, Azaltma Stratejileri, Analiz Yöntemleri

Abstract

In 2002, Swedish scientists have announced that they find a potentially carcinogenic compound called acrylamide in heat-treated starchy foods such as french fries, bread, biscuits, which has caused great concern for the food industry. Subsequently, experts have begun to intensify research for reducing acrylamide formation in foods. Although there are various strategies to lower acrylamide formation in cooked foods, most of them aim to reduce or prevent Maillard reactions. In such studies, it is important to preserve the flavor and appearance of the food and not create new risks while reducing the level of acrylamide. In this review, information about acrylamide toxicity, mitigation strategies to lower acrylamide formation and acrylamide analysis methods will be given and then the results of current studies to reduce acrylamide level in foods will be mentioned.

Key Words: Acrylamide, Toxicity, Mitigation Strategies, Analysis Methods

1. Giriş

Yüzyıllardır gıdaların duyuşsal ve besleyici özelliklerini iyileştirmek veya korumak için tüketimden önce gıdalara ısıtma işlemi uygulanmaktadır. Yapılan çalışmalar ısıtma işlemlerinin olumlu etkilerinin yanı sıra akrilamid, 5-hidroksimetil furfural (HMF) ya da heterosiklik aminler gibi toksik bileşiklerin oluşumuna da neden olduğunu göstermiştir (Luning ve Sanny 2016). Bu bileşiklerden biri olan akrilamidin zararlı etkileri ilk olarak 1997 yılında Hallandsås tüneli yapımında kaza ile sulara akrilamid karışmasıyla ortaya çıkmıştır. Bölgedeki sudan içen ineklerin düzgün ayakta duramaması, normalin üzerindeki miktarlarda balık ölümlerinin gözlemlenmesi ve tünel işçilerinin el ve ayaklarındaki uyuşmalardan şikâyet etmeleri uzmanları akrilamid ile ilgili araştırmalar yapmaya yönlendirmiştir (Park ve Penning 2009, Törnqvist ve ark. 2000). İncelemeler sonucunda, içme suyuyla ya da mesleki olarak akrilamide maruz kalmayan insanların kanında bile yüksek seviyelerde akrilamid tespit edilmesi şüpheleri beslenme biçimlerine çevirmiştir (Bergmark 1997). 24 Nisan 2002'de, İsveç Ulusal Gıda Kurumu ve Stockholm Üniversitesi 120°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıtma işlemi gören gıdalarda yüksek seviyelerde akrilamid bulgusuna rastladıklarını dünya kamuoyuna duyurmuşlardır (Arusoğlu 2015).

Hamur işleri, patates kızartması, patates cipsi, bisküvi, kahve ve kahvaltılık tahıl ürünleri gibi yaygın olarak tüketilen gıdalarda akrilamid kimyasalına rastlanması bilimsel camiada ciddi bir endişeye sebep olmuş ve bu maddenin gıda yoluyla alınma miktarını ve sağlık üzerine potansiyel etkilerini değerlendirmek amacıyla kapsamlı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Luning ve Sanny 2016, Tareke ve ark. 2002). Diyetle alınan

akrilamid miktarı çeşitli ulusal gıda güvenliği ajansları tarafından 0,3-0,8 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak hesaplanırken, çocuklarda ise bu alımın yetişkinlere göre 1,5 kat daha fazla olabileceği iddia edilmiştir (Dybing ve ark. 2005, Hogervorst 2009).

Akrilamidin mevcut yasal limiti olmasa bile gıdalardaki seviyesi Avrupa'da yetkililer tarafından kontrol edilmektedir ve gelecekte akrilamid için maksimum limitlerin belirlenmesi muhtemeldir. Üretici firmalardan ürünlerindeki akrilamid miktarının düşürülmesi istense de Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA)'nın 2007-2010 yılları arasında yaptığı piyasa taramasında sadece birkaç gıda kategorisinde akrilamid seviyesinin zamanla azaldığı görülmüştür. Bazı besin gruplarında (kahve, kahve yerine geçen maddeler ve krakerler) ise akrilamid konsantrasyonunun arttığı saptanmıştır (Anonim 2012). Yani, akrilamid azaltımı için yapılan aktivitelerin istenen verimliliğe ulaşmadığı görülmüştür.

Yapılan çalışmalarla akrilamidin nörotoksik etkileri insanlarda ve hayvanlarda, genotoksik, karsinojenik ve üreme sistemi üzerine toksik etkileri ise hayvanlarda gözlemlenmiştir (Shipp ve ark. 2006). Akrilamidin kanser yapma potansiyelinin birçok bilinen gıda kanserojeninden daha düşük olduğu ancak bu kimyasalın gıdalarda diğer toksik maddelere göre daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir (Hogervorst 2009). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), akrilamid kimyasalının insanların sinir ve üreme sistemini etkileyebilmesi için gıdalarla günlük ortalama alımından en az 500 kat daha fazla alınması gerektiğini açıklamıştır. Bu durum, gıdalarda bulunan akrilamid seviyesinin güvenli olduğunu gösterse dahi deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda akrilamidin kanserojen etkilerinin görülmesi insanlarda da kansere neden olabileceği endişesini oluşturmuştur (Anonim 2002). Akrilamidin insanlardaki kanser oluşumuyla ilişkisi henüz kanıtlanmasa da, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) akrilamidi 'insanlar için potansiyel kanserojen maddeler (Grup 2A)' sınıfına almıştır (Soares ve ark. 2015). 2002 yılından bu yana gıdalardaki akrilamid seviyesi, bilim adamları ve sanayi iş birliğiyle azaltılmaya çalışılmaktadır. Akrilamid oluşturabilecek öncü maddeleri düşük miktarlarda içeren hammaddelerin kullanılması, üretim şartlarının değiştirilmesi ve üretim sonrası ürüne bazı müdahalelerin yapılması 3 temel akrilamid azaltma stratejisi olarak karşımıza çıkmaktadır (Xu ve ark. 2016).

Bu derlemede akrilamidin toksisitesine, akrilamid oluşumunu azaltmak için kullanılan temel stratejilere, akrilamid analiz yöntemlerine ve çeşitli gıda ürünlerinde akrilamid seviyesini azaltmak için yapılan güncel çalışmalara yer verilecektir.

2. Akrilamid Toksisitesi

Gıda kaynaklı ve gıda kaynaklı olmayan yollardan vücuda alınan akrilamidin sağlık üzerine etkileri toksikolojik ve karsinojenik olarak ayrılmaktadır (Arisseto ve Vicente 2015, Karagöz 2009). Bir konjuge vinil bileşiği olan akrilamid biyolojik materyallere karşı reaktif ve yapısındaki çift bağdan dolayı amino (-NH₂) ve sülfhidril (-SH) gruplarıyla bağ kurmaya yatkınlık göstermektedir. İnsanlarda vücuda alınan akrilamid sindirim sistemi boyunca yeterli düzeyde redükte glutatyon (GSH) bulunuyorsa akrilamid-glutatyon formuna dönüştürülerek etkisiz hale getirilmekte ya da Cyp2e1 enzim sistemi aracılığıyla okside edilerek çok daha toksik bir madde olan glisidamide metabolize edilmektedir (Friedman 2003). Epoksi halkası içeren glisidamid hemoglobin gibi birçok biyomolekülle kolayca reaksiyona girebilmektedir. Glisidamidin DNA alkilasyonuna neden olması dokularda genotoksik etkilerin meydana gelmesinden sorumlu tutulmaktadır (Kocadağlı ve Gökmen 2015, Arusoğlu 2015). Akrilamide maruz kalan kemirgenlerde tümör oluşumunun gözlenmesi akrilamidin insanlar üzerinde de kanser yapıcı etkisinin olabileceğini düşündürmüştür (Virk-Baker ve ark. 2014). Ayrıca, akrilamid kimyasalının insan ve hayvanların sinir sistemi ve kemirgenlerin erkek üreme organları üzerinde toksik etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır (Hagmar ve ark. 2001).

2.1. Akrilamidin Nörotoksitesitesi

Akrilamidin nörotoksik etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Exon 2006). Nörotoksik etkiler açısından akrilamidin hayvanlarda gözlenebilir bir yan etki oluşturmayan en yüksek düzeyinin (NOAEL) ve gözlenebilir en düşük yan etki seviyesinin (LOAEL) sırasıyla 0,2-0,5 ve 2 mg/vücut ağırlığı/gün olduğu bulunmuştur (Spencer ve Schaumburg 1974). İnsanların diyetle aldığı akrilamid miktarının (0,001 mg/kg vücut ağırlığı/gün) nörotoksitesite açısından güvenli olduğu düşünülse dahi bazı uzmanlar bu dozlardaki akrilamide uzun süreli maruz kalınmasının oluşturabileceği kümülatif etkilerden dolayı tehlikeli olabileceğini ifade etmişlerdir (LoPachin 2004).

Akrilamidin nörotoksik etkileri öncelikle mesleki olarak bu kimyasala maruz kalan çalışanlarda görülmüştür. Akrilamid içeren derz maddesini uygulayan inşaat işçileri el ve ayaklarındaki karıncalanmalardan ve uyuşmalardan şikayet etmeye başlamışlardır. Daha uzun süreli maruziyetler de ise kişilerde aşırı yorgunluk,

ataksi ve periferik nöropati meydana gelmiştir (Hagmar ve ark. 2001). Akrilamid kaynaklı nörotoksisitenin altında yatan mekanizmayı anlamak için çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Öne sürülen temel hipotezler akrilamidin kinezin isimli motor proteinlerine bağlanarak sinir aksonları arasındaki hızlı sinyal iletimini baskılaması veya sistein aminoasitlerinde bulunan sülfidril gruplarına bağlanarak sinir uçlarındaki membran füzyonuna engel olması şeklinde açıklanmıştır (Sickles ve ark. 1996).

2.2. Akrilamidin Kanserojen Etkisi

Sıklıkla tükettiğimiz gıdalarda akrilamide rastlanmasının ardından yapılan epidemiyolojik çalışmalarla akrilamidin çeşitli kanser türleriyle olan ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmaların birçoğunda diyetle alınan akrilamid ile çeşitli kanser türleri arasında istatistiksel olarak önemli bir bağlantı bulunamamıştır. Ancak birkaç çalışmada diyetle akrilamide maruz kalınmasıyla böbrek, rahim ve yumurtalık kanseri riskinin arttığı raporlanmıştır (Virk-Baker ve ark. 2014). İşçiler üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ise akrilamide maruz kalan çalışanlarda kansere yakalanma riskinde tutarlı bir artış saptanmamıştır (Klauning 2008).

Çeşitli yollarla akrilamide maruz kalan fare ve sıçanların bazı organlarında tümör oluşumu meydana geldiği gözlenmiştir. Bir çalışmada akrilamid eklenen suyu tüketen sıçanlarda testis mezotelyomasının, tiroid, beyin ve meme bezi tümörlerinin oluştuğu tespit edilmiştir. Hayvanlarda akrilamid kaynaklı kanser oluşumunun etki şekli belirsizliğini koruyor olsa da in vitro ve in vivo çalışmalar sonucunda genotoksik mekanizmanın ve hormonal değişikliklerin bu durumu tetiklediği düşünülmektedir (Klauning 2008).

2.3. Akrilamidin Genotoksitesisi

Deney hayvanlarında akrilamidin kanserojen etkilerinin görülmesinden sonra bu maddenin canlılarda genetik hasarlara neden olabilme potansiyelini araştırmak önemli hale gelmiştir (Ao ve Cao 2012). In vitro ve in vivo çalışmalar sonucunda, akrilamid ve metaboliti olan glisidamidin somatik ve üreme hücreleri üzerinde genotoksik etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Dearfield ve ark. 1995). Reaktif bileşikler olan glisidamid ve akrilamid, DNA ya da diğer biyolojik moleküllerle hızlı bir şekilde reaksiyona girebilmektedir. Akrilamidin kardeş kromatitler arası değişimleri, mikronukleus oluşumları ve yapısal kromozomal sapmaları indükleyerek kromozom yapısında değişikliğe neden olabildiği saptanmıştır. Öte yandan, akrilamidin genotoksik mekanizması tam olarak net değildir çünkü bu madde proteinlere bağlanmak ya da hormonal dengeyi bozmak gibi direkt olmayan genotoksik mekanizmalara da sahiptir (Ao ve Cao 2012).

2.4. Akrilamidin Üreme ve Gelişimsel Toksisitesi

Üreme toksisitesiyle ilgili bir çalışmada, oral dozlarda akrilamid (≥ 7 mg/kg/gün) erkek kemirgenlere verilmiştir. Daha sonra bu canlılarda öldürücü etkilerin oluştuğu, sperm sayılarının ve morfolojilerinin değiştiği tespit edilmiştir. Dişi kemirgenlerde ise, üreme sistemleri üzerinde olumsuz bir etki gözlenmemiştir. Gelişimsel etkiler açısından, yüksek dozlarda alınan akrilamidin kemirgenlerde fetotoksik etkiler oluşturduğu görülmüştür. Üreme ve gelişimde olumsuz etkiye sebep olmayan doz (NOAEL) ise 2 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir (Arisseto ve Vicente 2015, Anonim 2006).

3. Akrilamid Seviyesini Azaltmak İçin Kullanılan Temel Stratejiler

3.1. Ham Madde

Isıl işlem gören gıdalarda akrilamid çoğunlukla asparajın amino asidinin amino grubu ile indirgen şekerlerin (glikoz, früktoz gibi) karbonil grubu arasında meydana gelen maillard reaksiyonu ile oluşmaktadır (Friedman 2003). Ayrıca, indirgen olmayan bir disakkarit olan sükrozun hidroliz edilmesiyle meydana gelen monosakkaritlerin de akrilamid oluşumuna sebep olabildiği görülmüştür (İsra ve ark. 1998).



Araştırmalara göre akrilamid oluşumunda öncü olan maddelerin miktarlarını ham maddede azaltmak son üründe oluşan akrilamid seviyesini ciddi bir şekilde etkilemektedir (Zyzak ve ark. 2003). Öte yandan, bu yöntemin etkililiği öncü maddelerin ham maddede bulunma oranlarına da bağlıdır. Yani, işlenmemiş bir gıdada toplam indirgen şeker miktarı asparajın amino asidinden yüksek ise asparajın seviyesini azaltmak akrilamid oluşumunu daha fazla etkileyecektir (Xu ve ark. 2016).

3.2. Proses Koşulları

Gıdalarda akrilamid oluşumunu azaltmanın yollarından biri de proses şartlarını (pH değerini düşürmek, pişirme sıcaklığı azaltmak ya da işlem süresini kısaltmak gibi) değiştirmektir (Palazoğlu ve Gökmen 2008). Bu yöntemleri uygulamak son üründe oluşan akrilamid miktarını azaltsa da ürünün duyuşal özelliklerini negatif şekilde etkileyebilmektedir. Bu durumun nedeni, pişirme sıcaklığı ve süresinin azaltılmasıyla Maillard reaksiyonlarının hızının düşmesi ve bu reaksiyonların gıdaların lezzet ve görüntüsünün gelişiminde önemli rol oynamasıdır (Masi ve ark. 2013).

Araştırmalara göre gıdaların pH değeri ve nem oranı akrilamid oluşumunu önemli bir şekilde etkilemektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda, akrilamid oluşum düzeyinin 7,0 ve 8,0 aralığında değişen pH değerlerinde en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, nem içeriği değişen gıda sistemleri arasında akrilamid seviyeleri açısından farklılıklar olduğu görülmüştür. Nem miktarının artmasıyla optimum akrilamid oluşum şartlarına ulaşmak zaman almakta ve akrilamid oluşumu azalmaktadır (Gökmen 2015).

3.3. Katkı Maddeleri Kullanmak

Isıl işlem uygulamadan önce veya sonra gıdaya bazı kimyasalları eklemek ürünlerdeki akrilamid seviyesini azaltabilmektedir. Bu kimyasallar antioksidanlar, katyonlar, asitler, enzimler ve amino asitlerdir. Antioksidan maddelerin kullanılmasının akrilamid oluşumuna farklı etkileri olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda antioksidanların akrilamid seviyelerini azalttığı, arttırdığı ya da değiştirmedikleri durumlar gözlenmiştir. Katyonların akrilamid oluşumunu azalttığı ise uzun zamandan beri bilinmektedir. İki değerlikli katyonların (Ca^{2+} ve Mg^{2+}) tek değerlikli katyonlara (Na^{+} ve K^{+}) göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca asidik maddelerin eklenmesi ile gıdanın pH değeri düşmekte ve daha az akrilamid oluşmaktadır. Çeşitli gıdaların formülasyonlarına farklı amino asitler eklendiği zaman oluşan akrilamid miktarının azaldığı görülmüştür. Bunun nedeni, eklenen amino asitlerin Maillard reaksiyonunda asparajin ile rekabet etmeleridir. Bazı çalışmaların sonuçlarına göre, kimyasalların eklenme konsantrasyonları da üründe oluşan akrilamid miktarını önemli bir şekilde etkilemektedir (Xu ve ark. 2016, Gökmen 2015).

5. Yapılan Güncel Çalışmalar

Yapılan bir çalışmada, atmosferik basınçta (konvansiyonel), vakum altında (0,15 kPa) ve kombine konvansiyonel-vakum şartlarda 200°C de kavrulan Arabika cinsi kahve çekirdeklerinin bazı duyuşal özellikleri, renkleri, ağırlık kayıpları ve akrilamid konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. İncelenen kahve örnekleri renk ve ağırlık kaybı açısından benzer özellikler gösterirken düşük basınç altında kavrulan kahve çekirdeklerinin konvansiyonel olarak kavrulan kahve çekirdeklerine göre %50 oranında daha az akrilamid içerdiği tespit edilmiştir. Fırının vakumlanması sırasında üründe soyma etkisinin (stripping effect) oluşması bu durumun nedeni olarak gösterilmektedir. Bu çalışma sonucunda, kahve çekirdeklerinin düşük basınç altında kavrulmasıyla orta kavrulmuş ve akrilamid seviyesi %50 azaltılmış kahveler üretilebileceği saptanmıştır (Anese ve ark. 2014).

Benzer bir çalışmada, atmosferik basınç (101 kPa) ve vakumla kombine edilmiş şartlar (61 ve 41 kPa) altında 180°C'de pişirilen kurabiyelerin ortalama yüzey sıcaklıkları ölçülmüş ve akrilamid oluşumu ile bu sıcaklıklar arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Kurabiyelerin yüzey sıcaklığı termal kamera yardımıyla sürekli olarak ölçülmüştür. Geleneksel pişirme yöntemleri uygulandığında kurabiye hamurunun ortalama yüzey sıcaklığının 151°C'ye kadar ulaşabildiği vakum altında ise ortalama yüzey sıcaklığının 140°C olduğu saptanmıştır. Vakumla kombine edilmiş şartlarda pişirilen kurabiyelerdeki akrilamid seviyesinin (300 ng/g) geleneksel yöntemlerle pişirilen kurabiyelere (445 ng/g) göre %30 daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, basıncın azalmasıyla ısı transfer katsayısı değerlerinin de biraz düştüğü görülmüştür. Ani basınç düşüşünün buharlaşmalı (evaporatif) soğutma etkisi yaratmasının üründe sıcaklık artışını kısıtladığı ve akabinde akrilamid oluşumunu azalttığı düşünülmektedir (Yıldız ve ark. 2017).

Zeytin sterilizasyonundaki standartlar, yüksek sıcaklığa maruz kalan gıdalarda akrilamid kimyasalının oluşabileceğinin keşfedilmesinden önce belirlenmiştir. Ticari olarak satılan Kaliforniya yöntemi ile üretilen konserve siyah zeytinlerde yüksek seviyede akrilamid bulgusuna (375-1925 µg/kg) rastlanmıştır. Amerika'da bir grup araştırmacı, konserve siyah zeytinlerin kalitesini ve güvenilirliğini negatif olarak etkilemeden akrilamid seviyesini azaltan alternatif sterilizasyon şartlarının belirlenmesi üzerine bir çalışma yapmıştır. Zeytinlerde akrilamid en çok konserveleme ve şişeleme prosesi sırasındaki sterilizasyon basamağında oluşmaktadır. Sterilizasyon sıcaklığı ve süresi akrilamid oluşumunu önemli bir şekilde etkilemektedir. Bu araştırmada, sterilizasyon süresi (5-175 dk) ve sıcaklığı (110-126,7 °C) değiştirilerek 6 farklı proses koşulu oluşturulmuştur. Isı penetrasyonu verilerinden, proses letalite değerleri (F0) hesaplanmıştır. Ardından, F0 değerleri (dk) ile akrilamid oluşumu ve zeytinlerin fiziksel kalite özelliklerinin değişimi arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Akrilamid konsantrasyonu ile F0 değerleri arasında 2. dereceden bir polinom regresyonuna uyan pozitif

korelasyon olduğu bulunmuştur. Termal prosesin (sıcaklık/süre) artırılmasıyla zeytinlerin sertliğinin (firmness) azaldığı, renginin ise değişmediği saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, F0 değerinin düşürülmesi ile daha az akrilamid içeren ve daha güvenli siyah zeytinler üretilebileceği görülmüştür (Tang ve ark. 2016).

Araştırmalar sonucunda uygun zeytin tipinin seçimiyle (Hojiblanca çeşidi gibi), uygun karartma yöntemlerinin uygulanmasıyla ve sterilizasyon şartlarına dikkatli bir şekilde uyulmasıyla zeytinlerdeki akrilamid konsantrasyonunun azaltılabileceği belirlenmiştir. Zeytinler üzerinde çok fazla denenmemiş olsa da diğer bir akrilamid azaltma stratejisi katkı maddeleri kullanmaktır. İspanya'da yapılan bir çalışmada, seçilen bazı katkı maddelerinin (tuzlar, amino asitler veya antioksidanlar) zeytin meyveleriyle muamele edilen alkali zeytin suyuna eklenmesiyle ürünün akrilamid içeriğinin ve duyuşal özelliklerinin nasıl etkilendiği incelenmiştir. Akrilamid oluşumunu en etkili azaltan bileşiklerin sodyum bisülfid, L-sistein ve L-arginin olduğu bulunmuştur. Bu maddelerin yanında sülfür içeren çeşitli maddeler (N-asetil-L-sistein, redükte glutatyon ve metionin) ve bazı doğal ürünler (çay, sarımsak, keklikotu (oregano) ve biberiye) sterilizasyondan önce zeytin suyuna eklenmiştir. Sodyum bisülfid bileşiğinin eklenmesiyle, zeytinlerin duyuşal özellikleri korunarak akrilamid seviyesi önemli bir şekilde azaltılmıştır. Arginin ve sarımsak ilavesi siyah zeytinlerde akrilamid oluşumunu azaltmış ve duyuşal özelliklerini çok sınırlı bir şekilde etkilemiştir. N-asetil-L-sistein, redükte glutatyon ya da L-sistein gibi SH- içeren maddelerin eklenmesinin akrilamid azaltımında sodyum bisülfid kadar etkili olduğu fakat üretilen zeytinde istenmeyen lezzetlerin oluştuğu saptanmıştır (Casado ve ark. 2010).

Bir araştırmada, farklı pişirme yöntemlerinin (mikrodalga (200°C, 10 dk), tavada kızartma (180°C, 5 dk), fritöz (180°C, 5 dk) ve fırınlama (200°C, 10 dk)) et kroketlerdeki akrilamid oluşumuna olan etkisi incelenmiştir. Piyasadan temin edilen benzer ölçüdeki pişirilmemiş kroketlerde şeker (fruktoz, glikoz, sükroz), asparajin, renk (L*, a*, b*) ve su aktivitesi (aw), pişirilen kroketlerde ise akrilamid, renk ve aw analizleri yapılmıştır. Fırınlanan, fritözde ve tavada pişirilen kroketlerde sırasıyla ortalama 360, 298 ve 285 mg/kg akrilamid bulgusuna rastlanmıştır. Mikrodalga uygulamasıyla pişirilen kroketlerin ise geleneksel yöntemlerle pişirilenlere göre daha açık renkli olduğu ve daha fazla miktarda akrilamid (ortalama 420 mg/kg) içerdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, tüketiciler karbonhidrat yönünden zengin kroket gibi gıdaları mikrodalga fırın kullanarak pişirmekten kaçınmalıdır (Michalak ve ark. 2017).

Başka bir çalışmada, amino gruplar yönünden zengin kitosan maddesini gıda formülasyonlarında kullanmanın akrilamid oluşumuna olan etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, araştırmacılar model sistemlere (indirgen şeker (glikoz, fruktoz ya da karışımları), asparajin ve kitosan içeren ortam) ve gerçek gıda sistemlerine (hamur) farklı konsantrasyonlarda kitosan ekleyip farklı sıcaklıklardaki yağlarda (150 ve 180°C) 30 dk boyunca kızartıp akrilamid seviyelerini incelemişlerdir. Formülasyonuna %0,27 kitosan eklenip kızartılan hamurların normal hazırlanıp kızartılan hamurlara göre %59±6 oranında daha az akrilamid içerdiği tespit edilirken, iki katı miktarda (%0,54) kitosan ilavesinin akrilamid seviyesi azaltma kapasitesini önemli bir şekilde değiştirmedeği görülmüştür. Model sistemlerde ise, %1 kitosan ilavesinin %49-85 arasında değişen oranlarda akrilamid azaltımı sağladığı tespit edilmiştir. Maksimum akrilamid azaltımının asparajin-fruktoz model sistemlerinde, minimum akrilamid azaltımının ise asparajin-glikoz model sistemlerinde olduğu saptanmıştır. Bu stratejinin altında yatan mekanizmanın, kitosanın amino gruplarının asparajinin amino gruplarıyla karbonilleri (örneğin indirgen şekerler) bağlamak için yarışa girmesi olarak düşünülmektedir (Sansano ve ark. 2016).

Bir doktora çalışmasında, farklı formülasyonlarla üretilen bisküvilerde akrilamid ve aroma maddelerinin oluşumu incelenmiştir. Dokuz farklı bisküvi hamuru hazırlanmış (standart, şekeri %50 azaltılmış, şekeri %100 azaltılmış, yağı %50 azaltılmış, bütün yumurta tozu içeren (BYT), peynir altı suyu tozu içeren (PST), glisin içeren, lisin içeren ve asparajinaz enzimi içeren) ve her bir reçetede hazırlanan hamura 4 farklı aroma (kontrol, ksiloz, karamel, aroma karışımı (%1,67 karamel aroması ve %89,5 ksiloz içeren)) uygulaması yapılmıştır. Bisküviler fırında 190±10°C de 5 dk süre ile pişirilmiştir. Elde edilen 36 bisküvi örneğinde, aroma moleküllerinin belirlenmesi, akrilamid analizi, renk analizi, duyuşal analiz, hamur ve bisküvide su aktivitesi analizi ve hamurda pH analizleri yapılmıştır. Elde edilen verilere göre, şeker ve yağ azaltımının akrilamid miktarının yanı sıra aroma oluşumunu da azalttığı; BYT, PST ve yağsız süt tozu kullanılan reçetelerde en iyi sonucun BYT kullanılan reçetede elde edildiği; akrilamid oluşumunu azaltmak için hazırlanan glisin, lisin ve asparajinaz enzimi içeren reçeteler arasında ise en iyi sonuç veren reçetenin asparajinaz enzimi içeren bisküvi reçetesinin olduğu saptanmıştır. Ksiloz ve aroma karışımı uygulamaları ise tüm reçetelerde aroma ve akrilamid oluşumunu Maillard reaksiyonu yoluyla arttırmıştır (Yakıcı 2012).

Buğday unuyla hazırlanan ürünlerin besin değerini yükseltmek için tahıl benzeri maddeler una eklenebilmektedir. Ancak, protein yönünden zengin bitkisel katkı maddelerini pişirilecek ürünlere eklemenin akrilamid oluşumunu artırdığı çeşitli araştırmalarda görülmüştür. Yakın zamanda, keten tohumu (*Linum usitatissimum* L.) ve acı bakla (*Lupinus angustifolius* L.) ile zenginleştirilen bisküvilerde daha az akrilamid

oluşması üzerine bir çalışma yapılmıştır. Bisküvi hamuru yapımında standart malzemelerin (300 g buğday unu, 100 g margarin, 80 g sakkaroz ve 80 g yumurta, 1,5 g kabartma tozu ve 1 g tuz) yanı sıra farklı fermentasyon yöntemleri (katı faz (SSF) ve submerged (SMF)) ile fermente edilmiş keten tohumu ya da acı bakla unu (0, 25, 50, 75 g) kullanılmıştır. Bu bitkisel materyalleri fermente etmek için ise *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentosaceus* veya *Pediococcus acidilactici* türü laktik asit bakterilerinden yararlanılmıştır. Fermentasyondan sonra keten tohumunun ve acı baklanın asparajin seviyelerinin sırasıyla ortalama %67,6 ve 80,6 oranında, indirgen şeker seviyelerinin ise sırasıyla ortalama %18 ve 79,4 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Bisküvilerde en etkili akrilamid azaltımının (sırasıyla %78 ve 85) *P. acidilactici* bakterisiyle fermente edilen keten tohumu (SMF) ve acı bakla (SSF) unu kullanıldığı zaman olduğu görülmüştür. Formülasyonlarda *L. sakei* yardımıyla fermente edilen keten tohumu (SSF) ya da acı bakla (SMF) unu kullanmanın bisküvilerin akrilamid seviyesini ortalama %83,4 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Bu çalışma sayesinde, fermente keten tohumu ve acı baklanın güvenli ve besleyici değeri yüksek bisküvi üretiminde kullanılabileceği ortaya konulmuştur (Bartkiene ve ark. 2016).

Maya fermentasyonu ile hazır kahvelerdeki (instant coffee) HMF ve akrilamid seviyesinin azaltılması üzerine bir çalışma yapılmıştır. Yeşil kahve çekirdeklerinin kavrulması sırasında ısıl işlemin derecesine göre üründe değişen miktarlarda HMF ve akrilamid oluştuğu saptanmıştır. Öncelikle hazır kahve (%20, w/v) farklı oranlarda şeker (%1-10, w/v) ile karıştırılıp 100 ml su içinde çözündürülmüştür. Ardından, cam kap içindeki karışıma ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*, %1-2, w/v) da eklenip sıkıca kapatılıp orbital çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Karışım 30°C'de 48 saat boyunca fermentasyona bırakılmıştır. Bu çalışmada, akrilamid ve HMF degradasyonunun kinetiği de incelenmiştir. HMF ve akrilamid içeriğinin fermentasyon ortamına ve süresine bağlı olarak değişen oranlarda katlanarak azaldığı tespit edilmiştir. 24 saatin sonunda, HMF konsantrasyonunun %0, %1, %5 ve %10 sükröz içeren ortamlarda sırasıyla %61,2, %75,7, %93,6 ve %99,2 azaldığı görülmüştür. 48 saatin sonunda ise akrilamid seviyesinin yaklaşık olarak %70 azaldığı bulunmuştur. Bu sonuçlar, maya fermentasyonunun hazır kahvelerdeki HMF ve akrilamid seviyesini azaltmak için kullanılabilecek bir yöntem olduğunu göstermektedir (Akıllıoğlu ve Gökmen 2014).

Polifenollerin pişirme sırasında oluşan akrilamid miktarını etkilediği yapılan bazı çalışmalarda görülmüştür. Polifenollerin akrilamid oluşumuna olan etkisinin polifenonun yapısıyla, konsantrasyonuyla ve antioksidan kapasitesiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Polifenoller reaktif karbonil bileşiklerini yakalayarak ya da lipit oksidasyonunu önleyerek üründeki akrilamid oluşumunu azaltabilmektedir. Öte yandan, bazı özel polifenoller karbonil grupları sağlayarak, 3-aminopropionamide (3-APA) bileşiğinin akrilamide dönüşümünü hızlandırarak veya akrilamid eliminasyonunu engelleyerek akrilamid içeriğini artırabilmektedirler. Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, uzmanlar bazı doğal ekstraktların kızartılan patateslerde akrilamid oluşumuna olan etkisini incelemişlerdir. Araştırmada kullanılan sulu ekstaktlar yabani keklikotundan (*Origanum vulgare*), kekikten (*Thymus vulgaris*), tarçından (*Cinnamomum verum*), begonvilden (*Bougainvillea* spp) ve yeşil çaydan (*Camellia sinensis*) elde edilmiştir. Patatesler kızartılmadan önce hazırlanan ekstraktların (1g/L) içinde 1 dk bekletilmiştir. Kızartılan patateslerde akrilamid analizi (GC-MS) yapılmıştır. Yeşil çaydan, tarçından ve bengovilden elde edilen ekstraktlara batırılıp kızartılan patateslerin akrilamid seviyesinin %62, %39 ve %17 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Kontrol olarak hazırlanan patateslerle tarçın ve bengovil ekstraktlarına daldırılıp kızartılan patateslerin renk parametreleri açısından farklılıklar olduğu görülmüştür. Duyusal değerlendirme sonucunda yapılan uygulama ile patateslerin kabul edilebilirliğinin değişmediği saptanmıştır (Morales ve ark. 2014).

Bir grup araştırmacı ise biberiye (rosemary) ekstraktının ayçiçek yağının stabilizasyonuna ve kızartılan patateslerde akrilamid oluşumuna olan etkilerini değerlendirmişlerdir. Kızartma işleminde kullanılan ayçiçek yağının içine karnasol ve karnosik asit içeren biberiye ekstraktı 1000 mg/kg oranında eklenmiştir. Bu çalışmada, karşılaştırma yapmak için sensetik antioksidanlardan olan bütilhidroksianisol, ter-bütil hidrokinon ve tokoferol kullanılarak pozitif kontroller hazırlanmıştır. Antioksidanların ayçiçek yağını stabilize etmekteki etkinliği toplam polar madde, serbest yağ asitleri, konjuge dienler, konjuge trienler ve renk (L*, b*) analizleri yapılarak incelenmiştir. Kontrol olarak kızartılan patateslerin akrilamid konsantrasyonu 1265 µg/kg, biberiye ekstraktı kullanılarak kızartılan patateslerin akrilamid konsantrasyonu 785 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Yani, biberiye ekstraktı eklenen yağda kızartılan patateslerin akrilamid seviyesinin %38 oranında azaldığı görülmüştür. Yağda kızartılan patateslerde akrilamid oluşumunu en fazla azaltan antioksidanın sırasıyla biberiye ekstraktı, tokoferol, ter-bütil hidrokinon ve bütilhidroksianisol olduğu görülmüştür. Antioksidanların kızartma sırasında akrilamid oluşumunu azaltmasının farklı nedenleri olsa da temel mekanizmanın antioksidanların radikal temizleyici etkilerinin olması ve hidroperoksit oluşumunu engellemesi olarak gösterilmektedir. Kızartma süresi ile toplam polar madde, serbest yağ asidi ile de akrilamid seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Ayrıca kızartılan patateslerde akrilamid ve toplam polar madde oluşumu arasında da anlamlı bir bağlantının olduğu tespit edilmiştir (Urbancic ve ark. 2014).

L-asparaginaz enzimi yardımıyla akrilamidin öncü maddelerinden biri olan L-asparajin amino asidini L-aspartik asit ve amonyağa parçalamak gıdalardaki akrilamid seviyesini azaltmak için kullanılan yöntemlerden birisidir. 2017 yılında yayınlanan bir çalışmada, *Fusarium culmorum*'dan saflaştırılan L-asparaginaz enzimini patates cipsi ve ekmek gibi nişastalı gıdaların hazırlanmasında kullanmanın akrilamid oluşumuna olan etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada ilk olarak, Bengaluru'daki yerel marketlerden temin edilen patates cipsi, patates kızartması, bisküvi, ekmek ve galeta örneklerinin akrilamid seviyeleri incelenmiş ve 690-4475 µg/kg arasında değiştiği bulunmuştur. L-asparaginaz enziminin akrilamid oluşumunu azaltmaya olan etkisini gözlemlemek için dilimlenmiş patatesler ve ekmek hamuru farklı konsantrasyonlardaki (50, 100, 200 ve 300 U) enzimle muamele edilmiş ve ardından kontrol olarak hazırlanan numunelerle yeniden formüle edilen ürünlerin akrilamid seviyesi karşılaştırılmıştır. L-asparaginaz (300 U) uygulanıp pişirilen patates ve ekmek örneklerinin L-asparajin seviyelerinin sırasıyla %85 ve 78 oranında akrilamid seviyelerinin ise %94 ve 86 oranında düştüğü saptanmıştır. Patates ve buğday ununda bulunan serbest L-asparajin konsantrasyonu indirgen şeker miktarından daha yüksektir, bu nedenle L-asparajinin uzaklaştırılması akrilamid sentezini önemli bir şekilde etkilemiştir (Meghavarnam ve Janakiraman 2017).

Bir çalışmada, beta gluklanlar ve fermente edilmiş yulaf unu kullanılarak besin değeri yükseltilmiş yulafli tam buğday ekmeğinin sağlık üzerine olan pozitif etkileri ve güvenilirliği incelenmiştir. Postprandial çalışmalara göre hazırlanan bu ekmek kan şekerini hızla yükseltmemiş ve uzun süreli tokluk hissi sağlamıştır. Yulaf akrilamidin öncü maddelerinden biri olan L-asparajin amino asidi yönünden zengin olduğu için hazırlanan ekmekte akrilamid oluşumunun arttığı saptanmıştır. Akrilamid oluşumunu azaltmak için pişirmeden önce ekmeğin dış tabakasına asparaginaz enzimi uygulanmış ve bu uygulamanın yeni dizayn edilen ekmeğin kalitesinde herhangi bir değişikliğe sebep olmadan kabuğundaki akrilamid oluşumunu %46 oranında (390 µg/kg değerinden 210 µg/kg değerine) azalttığı tespit edilmiştir (Ciesarová ve ark. 2014).

Yapılan bir çalışmada, bir grup bilim insanı gıdaların akrilamid seviyesini düşürmek için kullanabilecek L-asparaginaz enzimini *Aspergillus oryzae* CCT 3940 suşundan klonlama tekniği kullanmadan saflaştırmışlardır. Piyasadaki mevcut L-asparaginaz enzimi *Aspergillus niger* ya da *Aspergillus oryzae* strainlerinden klonlama teknolojisiyle üretilmektedir. Elde edilen bu enzimin akrilamid oluşumunu azaltmadaki etkinliği ticari rekombinant enzimle karşılaştırılmıştır. *A. oryzae* CCT 3940'dan elde edilen ya da ticari olarak satılan L-asparaginaz enzimi uygulandıktan sonra kızartılan patateslerin enzim uygulaması yapılmadan kızartılan patateslere göre akrilamid seviyelerinin sırasıyla %72 ve 92 daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca piyasada mevcut olan L-asparaginaz enzimini uygulamanın gıdanın asparajin konsantrasyonunun yanı sıra glutamin konsantrasyonunu da azalttığı görülmüştür. Öte yandan, *Aspergillus oryzae* CCT 3940'dan saflaştırılan L-asparaginaz enzimini kullanmanın örneğin glutamin seviyesini düşürmediği tespit edilmiştir (Gonçalves Dias ve ark. 2017).

Akrilamid oluşumunu azaltma yönünde yapılan çalışmalar hammadde özelliklerinin incelenmesini de kapsamaktadır. İngiltere'de yapılan bir çalışmada, ekim yapılan bölgenin patateslerin akrilamid oluşturma potansiyeline olan etkileri değerlendirilmiştir. Farklı 20 çeşit patatesin yetiştirildiği Doncaster ve Woburn bölgeleri toprak tipleri açısından farklılık göstermektedir. Üretilen patateslerin serbest amino asit, şeker (glikoz, fruktoz ve sükröz) ve bu patateslerden elde edilen unun 160°C'de 20 dakika kızartılmasıyla elde edilen ürünün akrilamid konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu çalışmada, Doncaster bölgesinde yetiştirilen patateslerin serbest asparajin seviyesinin Woburn bölgesinde yetiştirilenlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, toplam indirgen şeker konsantrasyonu ile akrilamid oluşumu arasında önemli bir korelasyon olduğu görülmüştür. Serbest asparajinin akrilamid oluşumu için sınırlayıcı faktör olduğu noktanın (serbest asparajin/indirgen şeker) $2,257 \pm 0,149$ değeri olduğu bulunmuştur. Yani, öncü maddelerin birbirine olan oranı bu değer altında kalırsa serbest asparajin konsantrasyonu, üstünde olursa indirgen şeker konsantrasyonu akrilamid oluşumu için belirleyici faktör olmaktadır. Doncaster'de yetişen patateslerin diğer bölgede yetişen patateslere göre asparajin seviyesi daha yüksek olsa da bu patateslerin daha yüksek seviyede akrilamid oluşumuna neden olmadığı görülmüştür. Bunun nedeni, bu patateslerin çoğunda öncü maddelerin (prekürsörlerin) birbirine olan oranının (serbest asparajin/indirgen şeker) $2,257$ 'den fazla olması gösterilmektedir. Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada elde edilen model işlem görmemiş patateslerin öncü maddelerinin birbirine olan oranıyla akrilamid oluşturma potansiyelleri arasındaki bağlantıyı açıklamaktadır (Muttucumaru ve ark. 2017).

5. Akrilamid Analiz Yöntemleri

Akrilamid (2-propenamid-CH₂CHCONH₂) analizinde en uygun yöntemin seçilmesi gıdanın çeşidine (örneğin matrisine), akrilamidin yapısına ve fiziksel-kimyasal özelliklerine bağlıdır. Reaktif bir elektrofil olan akrilamid aminler, karboksilatlar, tiyoller gibi nükleofillerle reaksiyona girebilmektedir. Akrilamid yapı olarak polaritesi ve suda çözünürlüğü yüksek (215,5 g/100 mL), moleküler kütlesi (71,08 g/mol) ve uçuculuğu ise

düşük bir maddedir (Morales ve Mesias 2015). Akrilamid analizlerinin GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS, elektrokinetik kapiler kromatografi yöntemi, biyosensör kit yöntemi, NIR yöntemi, ELISA yöntemi ile yapıldığı ifade edilmektedir. GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS cihazlarıyla yapılan akrilamid analizleri ise en yaygın kullanılan yöntemlerdir (Alpözen ve Güven 2012). Akrilamid güçlü kromofor gruplar (konjuge çift ve üçlü bağlar, aromatik halkalar) ve doğal floresanlar içermediği için spektrofotometrik UV detektör ile ölçülememektedir. Miktersal akrilamid tespitinde güvenilir sonuçlar elde etmek için izotop seyreltmeli tandem kütle spektrometresi detektörleri ile kombine edilmiş sıvı ve gaz kromatografileri önerilmektedir. Kütle ve tandem kütle spektrometresinin seçiciliğine rağmen, gıda matrislerinin karmaşıklığından dolayı numune hazırlama sırasında daha yoğun temizleme adımı gerekmektedir (Morales ve Mesias 2015).

Uzmanlar yaptıkları çalışmalarla, kütle spektrometresi ile kombine edilmiş sıvı kromatografisi (LC-MS) yardımıyla kahve gibi kompleks matrislerde bile yüksek hassasiyette akrilamid tespiti yapılabileceğini raporlamışlardır. Ayrıca, gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) cihazıyla akrilamid tespiti yapılabildiği görülmüştür (Tareke ve ark. 2002, Rosen ve Hellenas 2002). GC metodlarında, türevlendirme (bromlama) basamağı ile akrilamid 2,3-dibromopropionamide dönüşmektedir. Bromlanmış akrilamidin polarlığı azalmakta ve polar olmayan organik solventlerde daha kolay çözünmektedir (Wenzl ve ark. 2003). Öte yandan, GC metodunda türevlendirmenin zaman alması, zahmetli olması ve oluşan yan reaksiyonlar nedeniyle yanlış pozitif sonuç eldesi gibi bazı negatif yönleri de vardır. Bazı metodlarda, zaman alan türevlendirme kısmı çıkarılmıştır, ekstraksiyon ve temizleme (clean-up) aşamalarından sonra numunedeki akrilamid GC-MS cihazıyla direkt olarak ölçülmektedir (Morales ve Mesias 2015).

6. Sonuç

Bir proses kontaminantı olan akrilamidin gıda yoluyla alımını tamamen ortadan kaldırmak mümkün olmasa da uygulanan bazı stratejilerle maruz kalınan akrilamid miktarını azaltabilmek mümkündür. Yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi formülasyonlarda yapılan değişikliklerle, uygun hammaddenin seçimiyle ya da proses koşullarının modifiye edilmesiyle gıdaların akrilamid seviyesi azaltılabilmektedir. Ancak ürünlerin akrilamid konsantrasyonunu azaltırken ürünün kalitesini bozmamak önemlidir. Gıda güvenliği konusundaki uluslararası otoriteler (FDA, EFSA) gıdaların akrilamid düzeylerinin düşürülmesi gerektiğini belirtse de taramalarda piyasadaki birçok gıda grubunun akrilamid konsantrasyonunun zamanla azalmadığı saptanmıştır. Bu nedenle, akrilamid azaltımı için daha fazla önlem alınması ve yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bireyler ise pişirme işlemi daha uzun süre veya daha yüksek sıcaklıkta yapıldığında gıdada daha çok akrilamid oluşacağını bilmeli ve akrilamid bulunma ihtimali yüksek olan ürünleri sık olarak tüketmekten kaçınmalıdır.

7. Kaynaklar

- Akıllıoğlu, H. G. and Gökmen, V., 2014. Mitigation of acrylamide and hydroxymethyl furfural in instant coffee by yeast fermentation. *Food Research International* 61, 252-256.
- Alpözen, E. and Güven, G., 2012. Akrilamid Analiz Yöntemleri. *Analiz* 35, Sayı 13.
- Anese, M., Nicoli, M.C., Verardo, G., Munari, M., Mirolo, G. and Bortolomeazzi, R., 2014. Effect of Vacuum Roasting on Acrylamide Formation and Reduction in Coffee Beans. *Food Chemistry*, 145: 168-172.
- Anonim, 2012. Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010. *EFSA Journal*; 10 (10): 2938.
- Anonim, 2002. Consultation on the health implications of acrylamide in food. Geneva; June 25–27. Summary Report (PDF) [Erişim tarihi:21.09.2017].
- Anonim, 2006. Acrylamide. In: Safety evaluation of certain contaminants in foods/prepared by the sixty-fourth meeting of the joint FAO/ WHO expert committee on food additives (JECFA). WHO food additives series: 55. FAO food and nutrition Paper 82.
- Ao, L. and Cao, J., 2012. Genotoxicity of Acrylamide and Glycidamide: A Review of the Studies by HPRT Gene and TK Gene Mutation Assays. *Genes and Environment*, Vol. 34, No. 1 pp. 1-8.
- Arisseto, A. P. and Vicente, E., 2015. Estimate of Acrylamide Intake from Coffee and Health Risk Assessment. *Coffee in Health and Disease Prevention*, 575-584.
- Arusoğlu, G., 2015. Akrilamid Oluşumu ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Akademik Gıda* 13 (1), 61-7.
- Bartkiene, E., Jakobson, I., Pugejeva, I., Bartkevics, V., Zadeike, D. and Juodeikiene, G., 2016. Reducing of acrylamide formation in wheat biscuits supplemented with flaxseed and lupine. *Food Science and Technology* 65, 275-282.

- Bergmark, E., 1997. Hemoglobin adducts of acrylamide and acrylonitrile in laboratory workers, smokers and nonsmokers. *Chem. Res. Toxicol.*, 10, 78–84.
- Casado, F. J., Sánchez, A. H. and Montaña, A., 2010. Reduction of acrylamide content of ripe olives by selected additives. *Food Chemistry* 119, 161–166.
- Ciesarová, Z., Kukurová, K., Mikušová, L., Basil, E., Polakovičová, P., Duchoňová, L., Vlček, M. and Šturdík, E., 2014. Nutritionally enhanced wheat-oat bread with reduced acrylamide level. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*: 6 (3), 327-334.
- Dearfield, K.L., Douglas, G.R., Ehling, U.H., Moore, M.M., Sega, G.A. and Brusick, D.J., 1995. Acrylamide: a review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk, *Mutat. Res.* 330 71–99.
- Dybing, E., Farmer, P.B., Andersen, M., Fennell T.R., Lalljie, S.P., Müller, D.J., Olin, S., Petersen, B.J., Schlatter, J., Scholz, G., Scimeca, J.A., Slimani, N., Törnqvist, M., Tuijelaars, S. and Verger, P., 2005. Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food. *Food Chem. Toxicol.*; 43: 365-410.
- Exon J. H., 2006. A review of the toxicology of acrylamide. *J Toxicol Environ Health B Crit. Rev.*; 9:397-412.
- Friedman, M., 2003. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *J. Agric. Food Chem.*; 51:4504–26.
- Gonçalves Dias, F. F., Junior, S. B., Hantao, L. W., Augusto, F. and Sato, H. H., 2017. Acrylamide mitigation in French fries using native L-asparaginase from *Aspergillus oryzae* CCT 3940. *Food Science and Technology* Volume 76, Part B, 222-229.
- Gökmen, V., 2015. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Hacettepe Üniversitesi, Academic Press, Ankara.
- Hagmar, L., Törnqvist, M., Nordander, C., Rosen, I., Bruze, M., Kautiainen, A., Magnusson, A. L., Malmberg, B., Aprea, P., Granath, F. and Axmon, A., 2001. Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. *Scand. J. Work Environ. Health*, 27, 219-226.
- Hogervorst, J., 2009. Dietary acrylamide intake and human cancer risk. *Datawise-Universitaire Pers Maastricht*.
- Isla, M.I., Vattuone, M.A. and Sampietro, A.R., 1998. Hydrolysis of sucrose within isolated vacuoles from *Solanum tuberosum* L. tubers. *Planta* 205:601–5.
- Karagöz, A., 2009. Akrilamid ve Gıdalarda Bulunuşu. *TAF Prev Med Bull*; 8 (2): 187-192
- Klauning, J. E., 2008. Acrylamide carcinogenicity. *J. Agric. Food. Chem.*, 56 (15): 5984-8
- Kocadağlı, T. and Gökmen, V., 2015. Metabolism of Acrylamide in Humans and Biomarkers of Exposure to Acrylamide. *Acrylamide in Food*; Sayfalar: 109-128.
- LoPachin, R. M., 2004. The changing view of acrylamide neurotoxicity. *Neurotoxicology* 25: 617-630.
- Luning, P. and Sanny, M., 2016. Acrylamide in Fried Potato Products. *Acrylamide in Food*, 159-179.
- Masi, C., Dinnella, C., Barnaba, M., Navarini, L. and Monteleone, E., 2013. Sensory properties of under-roasted coffee beverages. *Journal of Food Science*, 78 (8), S1290-S1300.
- Meghavarnam, A. K. and Janakiraman, S., 2017. Evaluation of acrylamide reduction potential of L-asparaginase from *Fusarium culmorum* (ASP-87) in starchy products. *LWT-Food Science and Technology*.
- Michalak, J., Gujska, E., Czarnowska-Kujawska, M. and Nowak, F., 2017. Effect of different home-cooking methods on acrylamide formation in pre-prepared croquettes. *Journal of Food Composition and Analysis* 56, 134–139.
- Morales, F.J. and Mesias, M., 2015. Analysis of Acrylamide in Coffee. *Coffee in Health and Disease Prevention*, Sayfalar 1013-1021.
- Morales, G., Jimenez, M., Garcia, O., Mendoza, M.R. and Beristain, C.I., 2014. Effect of natural extracts on the formation of acrylamide in fried potatoes. *Food Science and Technology* 58, 587-593.
- Muttucumaru, N., Powers, S. J., Elmore, J. S., Dodson, A., Briddon, A., Mottram, D. S. and Halford, N. G., 2017. Acrylamide-forming potential of potatoes grown at different locations, and the ratio of free asparagine to reducing sugars at which free asparagine becomes a limiting factor for acrylamide formation. *Food Chemistry* 220, 76–86.

- Palazoğlu, T. K. and Gökmen, V., 2008. Reduction of acrylamide level in French fries by employing a temperature program during frying. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56 (15), 6162-6166.
- Park, J.H. and Penning, T.M., 2009. Polyaromatic hydrocarbons. In: Stadler RH, Lineback DR, editors. *Process induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Rosen, J. and Hellenas, K.E., 2002. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst*;127:880-2.
- Sansano, M., Castello, M.L., Heredia, A. and Andres, A., 2016. Protective effect of chitosan on acrylamide formation in model and batter systems. *Food Hydrocolloids* 60, 1-6.
- Shipp, A., Lawrence, G., Gentry, R., McDonald, T., Bartow, H., Bounds, J., Macdonald N., Clewell, H., Allen, B. and Van Lindingham C., 2006. Acrylamide: Review of toxicity data and dose-response analyses for cancer and noncancer effects. *Critical Reviews in Toxicology*, 36, 481-608.
- Sickles, D. W., Brady, S. T., Testino, A., Friedman, M. A. and Wrenn, R. W., 1996. Direct effect of the neurotoxican tacrylamide on kinesin-based microtubule motility. *J. Neurosci. Res.* 46:7-17.
- Soares, C., Alves, R. C. and Oliveira, M., 2015. Factors Affecting Acrylamide Levels in Coffee Beverages. *Coffee in Health and Disease Prevention*, sayfalar 217-224.
- Spencer, P. S. and Schaumburg, H. H., 1974. A review of acrylamide neurotoxicity. Part 1. Properties, uses and human exposure. *Can. J. Neurol. Sci.* 1:143-150.
- Tang, S., Avena-Bustillos, R. J., Lear, M., Sedej, I., Holstege, D. M., Friedman, M., McHugh, T. H. and Wang, S. C., 2016. Evaluation of thermal processing variables for reducing acrylamide in canned black ripe olives. *Journal of Food Engineering* 191, 124-130.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. and Tornqvist, M., 2000. Acrylamide: a cooking carcinogen? *ChemRes Toxicol*; 13:517-22. 5.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. and Tornqvist, M., 2002. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem*; 50:4998-5006.
- Törnqvist, M., Ehrenberg, L. and Hagmar, L., 2000. Leakage of Acrylamides from a Tunnel Construction Work: Exposure Monitoring and Health Effects to Humans and Animals. MS for European ALARA Network workshop, Antwerp, Belgium, 1-8.
- Urbancic, S. Kolar, M.H., Dimitrijevic, D. and Demsar, L., 2014. Stabilization of sunflower oil and reduction of acrylamide formation of potato with rosemary extract during deep-fat frying. *Food Science and Technology* 57, 671-678.
- Virk-Baker, M.K., Nagy, T.R., Barnes, S. and Groopman, J., 2014. Dietary Acrylamide and Human Cancer: A systematic Review of Literature. *Nutrition and Cancer*, 66 (5): 774-790.
- Wenzl, T., Beatriz de la Calle, M. and Anklam, E., 2003. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products; a review. *Food Additives and Contaminants*, 20 (10):885-902.
- Xu, F., Concha, M. and Elmore, J., 2016. The use of asparaginase to reduce acrylamide levels in cooked food. *Food Chemistry* 210:163-171.
- Yakıcı, T., 2012. Farklı Reçetelerle Üretilen Bisküvilerde Aroma ve Akrilamid Oluşumu. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Tekirdağ.
- Yıldız, H. G., Palazoğlu, T. K., Miran, W., Kocadağlı, T. and Gökmen, V., 2017. Evolution of surface temperature and its relationship with acrylamide formation during conventional and vacuum-combined baking of cookies. *Journal of Food Engineering*, Volume 197, Sayfalar 17-23.
- Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D.K. and Villagran, M. D., 2003. Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4782-4787.