

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



PATATES KIZARTMALARINDA AKRİLAMİD OLUŞUMUNA
GEVEN (*Astragalus bisculcatus*) VE SARIMSAK (*Allium sativum* L.)
BİTKİLERİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
Özge ELİTAŞ

Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Fikret KARATAŞ

ŞUBAT-2017

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PATATAES KIZARTMALARINDA AKRİLAMİD OLUŞUMUNA GEVEN
(*Astragalus bisulcatus*) VE SARIMSAK (*Allium satium L.*) BİTKİLERİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge ELİTAŞ

(122117105)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih:

Tezin Savunulduğu Tarih:

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fikret KARATAŞ (Fırat Üniversitesi)

Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. İsmet YILMAZ (İnönü Üniversitesi)

Prof. Dr. Süleyman AYDIN (Fırat Üniversitesi)

ŞUBAT-2017

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, hoşgörü ve sabırla her konuda beni destekleyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Fikret KARATAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım esnasında benden bilimsel ve sosyal desteğini esirgemeyen bir abla olarak bildiğim Dr. Ebru ÇÖTELİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (FÜBAP-FF.14.05 nolu proje) çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden hoşgörü, sabır ve desteğini esirgemeyen anneme, babama, ağabeyime aynı zamanda bu yolda benim en büyük manevi destekçilerim canım ananem ve dedem Ayten-İrfan KILIKLI'ya kuzenlerim Gamze YILDIRIM ve Sinem TÜRK BAY'a ve her daim yanımda olan eşim İslam ELİTAŞ'a şükranlarımı sunarım.

Özge ELİTAŞ
Elazığ- 2017

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Akrilamid.....	5
1.1.1. Akrilamidin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	5
1.1.2. Akrilamidin oluşum mekanizması.....	5
1.1.2.1. Sıcaklık ve Süre etkisi	8
1.1.2.2. Su aktivitesi durumu.....	8
1.1.2.3. Asitlik ve pH faktörü	9
1.1.2.4. Aminoasit ve Şekerlerin etkisi.....	10
1.1.3. Akrilamidin vücuttaki metabolizasyonu.....	10
1.1.4. Akrilamid maddesinin toksik etkileri	12
1.2. Sarımsak (<i>Allium satium</i>)	13
1.2.1. Sarımsak (<i>Allium satium</i>) bitkisinin antioksidan özelliği.....	14
1.2.2. Sarımsak (<i>Allium satium</i>) bitkisinin kanser tedavisindeki etkisi.....	15
1.3. Keven (<i>Astragalus bisulcatus</i>).....	15
1.4. Selenyum (Se)	17
1.5. Amaç.....	19
2. MATERYAL VE METOT.....	21
2.1. Materyal.....	21
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	21
2.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	21
2.2. Metot.....	22
2.2.1. Kızartma İşlemi	22
2.2.2. 3, 3'-Diaminobenzidin çözeltisinin hazırlanması.....	22
2.2.3. Kızartma yağlarına katılan Se-DAB kompleksinin hazırlanması	23

2.2.4. Kızartma ortamına sarımsak ve kevenin dal ve çiçeklerinin katılması	23
2.2.5. Selenyum Tayini.....	24
2.2.5.1. Standart Ekleme Yöntemi.....	24
2.2.6. Akrilamid Tayini	25
2.3. İstatistiksel Değerlendirme	26
3.BULGULAR	26
4. TARTIŞMA.....	34
5. KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	54



PATATES KIZARTMALARINDA AKRİLAMİD OLUŞUMUNA KEVEN (*Astragalus biscalcatus*) VE SARIMSAK (*Allium satium* L.) BİTKİLERİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada patatesin değişik yağlar ve kızartma sürelerinde oluşabilecek akrilamid miktarları araştırıldı. Kızartma sonucu oluşan akrilamid miktarı HPLC ile belirlendi. Kızartma ortamına katılan sarımsak ve keven bitkilerindeki selenyum miktarları ise Florimetre ile tayin edildi. Kızartma ortamına selenyum açısından oldukça zengin keven (*Astragalus biscalcatus*) ve sarımsak (*Allium satium* L.) bitkileri katılarak akrilamid oluşumunu engelleme dereceleri araştırıldı. Patatesin değişik kızartma sürelerinde (6-15 dk) ayçiçek, mısırözü ve zeytinyağları ile kızartmalarında oluşan akrilamid miktarının sırasıyla 4.93 ± 0.20 - 13.94 ± 0.78 ; 3.33 ± 0.22 - 11.49 ± 0.50 ; 3.02 ± 0.14 - 10.62 ± 0.44 $\mu\text{g/g}$ arasında değiştikleri gözlemlendi. Ayçiçeği, mısırözü ve zeytinyağı ile patates kızartmalarında, ortama sarımsak ilave edilerek kızartma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu işlemlerde yağa ve kızartma sürelerine (12-15 dk) bağlı olarak akrilamid miktarlarının sırasıyla 4.54 ± 0.18 - 5.52 ± 0.20 ; 3.70 ± 0.10 - 4.88 ± 0.16 ve 3.30 ± 0.08 - 4.22 ± 0.21 $\mu\text{g/g}$ arasında değiştikleri gözlemlendi. Ayçiçeği, mısırözü ve zeytinyağları ile 12 dk patates kızartma süresinde ortama keven dallarının ilave edilmesi ile oluşan akrilamid miktarlarını sırasıyla 2.23 ± 0.14 ; 1.84 ± 0.10 ve 1.45 ± 0.09 $\mu\text{g/g}$ olduğu gözlemlendi. Aynı yağlar ile 12 dk patates kızartma süresinde ortama keven çiçeğinin ilave edilmesiyle oluşan akrilamid miktarlarını sırasıyla 2.73 ± 0.15 ; 2.34 ± 0.12 ve 1.94 ± 0.11 $\mu\text{g/g}$ olduğu gözlemlendi.

Sarımsak ile kevenin çiçek, dal ve kök kısmındaki selenyum miktarı ise sırasıyla 181 ± 17.05 ; 396 ± 41.70 ; 604.30 ± 53.85 ve 295.67 ± 24.96 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık olarak belirlendi. Sarımsak ile kevendeki selenyumun akrilamid oluşumuna etkisini gözlemek için patatesin kızartıldığı üç farklı yağ ortamına 3,3-DAB ile Se-DAB kompleksi ilave edilerek kızartma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Aynı yağlar ile 12 dk patates kızartmalarında ortama 3,3-DAB ilave edilmesi ile oluşan akrilamid miktarlarının sırasıyla 9.60 ± 0.45 ; 8.06 ± 0.38 ve 7.04 ± 0.32 $\mu\text{g/g}$ olduğu gözlemlendi. Aynı yağlar ve sürede kızartmalarda ortama Se-DAB ilave edilmesi ile oluşan akrilamid miktarlarının sırasıyla 2.35 ± 0.16 ; 1.92 ± 0.10 ve 1.70 ± 0.09 $\mu\text{g/g}$ olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlardan patates kızartmasında hem yağ hemde kızartma süresinin akrilamid oluşumunu etkilediği görülmektedir ($p < 0.005$). Ayrıca sarımsak ve kevenin kızartma ortamına katılmasıyla akrilamid oluşumunda azalma gözlemlenmiştir ($p < 0.005$). Keven dalı ve Se-DAB kompleksinin katılarak gerçekleştirildiği kızartmalarda akrilamid miktarlarının birbirine yakın olduğu gözlemlenmiştir ($p > 0.05$).

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, selenyum, sarımsak(*Allium Satium*), keven (*Astragalus biscalcatus*), HPLC.

INVESTIGATING THE EFFECTS OF ASTRAGALUS BISULCATUS AND ALLIUM SATIUM L. PLANTS ON THE FORMATION OF ACRYLAMIDE IN FRIED POTATOES

SUMMARY

In this study, the amounts of acrylamide formed in potatoes with different oils and frying times were investigated. The amount of acrylamide was determined by HPLC. The amounts of selenium in the garlic (*Allium sativum* L.) and keven (*Astragalus bisulcatus*) plants added to the roasting environment were determined by the fluorimeter. The roots of selenium- *Astragalus bisulcatus* and *Allium sativum* L. were added to the roasting environment to investigate the inhibition of acrylamide formation. The amount of acrylamide formed during frying time (6-15 min), of sunflower, corn and olive oil were found to be 4.93 ± 0.20 - 13.94 ± 0.78 ; 3.33 ± 0.22 - 11.49 ± 0.50 ; 3.02 ± 0.14 - 10.62 ± 0.44 $\mu\text{g/g}$, respectively. To be able to observe the inhibition of acrylamide formation, *Allium sativum* L. plant was added to frying medium. The frying times of sunflower, corn and olive oil were found to be depending on the frying time (12-15 min) 4.54 ± 0.18 - 5.52 ± 0.20 ; 3.70 ± 0.10 - 4.88 ± 0.16 and 3.30 ± 0.08 - 4.22 ± 0.21 $\mu\text{g/g}$ respectively. The branch and flowers of *Astragalus bisulcatus* were added to frying medium of sunflower, corn and olive oil. The acrylamide amount were found to be 2.23 ± 0.14 ; 1.84 ± 0.10 ; 1.45 ± 0.09 $\mu\text{g/g}$ and 2.73 ± 0.15 ; 2.34 ± 0.12 and 1.94 ± 0.11 $\mu\text{g/g}$, respectively. The amount of Se in *Allium sativum* L and flower, branch and stem of *Astragalus bisulcatus* was 181 ± 17.05 ; 396 ± 41.70 ; 604.30 ± 53.85 and 295.67 ± 24.96 $\mu\text{g/g}$ dry weight, respectively. To observe the effect of garlic and selenium on the formation of acrylamide, frying operations were carried out by adding Se-DAB complex and 3,3'-DAB to three different oil of frying potatoes. The addition of 3,3'-DAB in the same frying oils at 12 minutes of frying times resulted amount of acrylamide 9.60 ± 0.45 ; 8.06 ± 0.38 and 7.04 ± 0.32 $\mu\text{g/g}$, respectively. By addition of Se-DAB to the frying oils medium, the amount of acrylamide 2.35 ± 0.16 ; 1.92 ± 0.10 and 1.70 ± 0.09 $\mu\text{g/g}$, were found to be respectively. These results indicate that both frying times and frying oil effect the acrylamide formation in the potatoes ($p < 0.005$). In addition, decrease of acrylamide formation was observed by adding *Allium sativum* L and *Astragalus bisulcatus* to frying medium ($p < 0.005$). It was observed that the amounts of acrylamide were found to be similar when branch of *Astragalus bisulcatus* and Se-DAB complex were added ($p > 0.05$).

Keywords: Acrylamide, Selenium, Garlic (*Allium sativum*), *Astragalus bisulcatus*, HPLC.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. 1. Akrilamidin (AA) molekül yapısı	5
Şekil 1. 2. Akrilamidin (AA) Maillard Reaksiyonu ile oluşum mekanizması	6
Şekil 1. 3. Asparajin ile şekerin karbonil grubunun etkileşimiyle akrilamid oluşumu	7
Şekil 1. 4. Farklı moleküllerden meydana gelen akrilamid (AA) sentezi	9
Şekil 1. 5. Akrilamid maddesinin ana metabolik yolu	11
Şekil 2. 1. Standart ekleme metoduyla konsantrasyon tayini.....	25
Şekil 3. 1. Akrilamidin maksimum absorbans yaptığı dalga boyunun belirlenmesi	28
Şekil 3. 2. Akrilamidin çalışma grafiği ve doğru denklemi	28
Şekil 3. 3. Ayçiçek yağında 6 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı.....	28
Şekil 3. 4. Ayçiçek yağında 9 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı.....	28
Şekil 3. 5. Ayçiçek yağında 12 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı.....	29
Şekil 3. 6. Ayçiçek yağında 15 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı.....	28
Şekil 3. 7. Patatesin farklı marka yağlarda değişik sürelerde kızartılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği	29
Şekil 3. 8. Patatesin farklı marka yağlarda değişik sürelerde kızartılması sırasında ortama sarımsak katılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği.....	33
Şekil 3. 9. Patatesin farklı marka yağlarda değişik sürelerde kızartılması sırasında ortama kevenin dal ve çiçeklerinin katılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği.....	32
Şekil 3. 10. Patatesin farklı marka yağlarda 12 dk kızartılması sırasında ortama 3,3-DAB ve Se-DAB kompleksinin katılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği	33

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. 1. Ölmez ve ark.'nın gıda içerikli Akrilamid incelemesi sonuçları.....	2
Tablo 3. 1. Ayçiçek yağında değişik sürelerde kızartılmış olan patates örneklerindeki akrilamid miktarları	27
Tablo 3. 2. Mısır yağında değişik kızartma sürelerinde kızartılmış olan patates örneklerindeki akrilamid miktarları.....	28
Tablo 3. 3. Zeytinyağında değişik kızartma sürelerinde kızartılmış olan patates örneklerindeki akrilamid miktarları.....	29
Tablo 3. 4. Sarımsak ve kevendeki selenyum miktarları	29
Tablo 3. 5. Ayçiçek yağı ile değişik sürelerde patates kızartmalarında, ortama sarımsak ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları	30
Tablo 3. 6. Mısır özü yağı ile değişik sürelerde patates kızartmalarında, ortama sarımsak ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları	30
Tablo 3. 7. Zeytinyağı ile değişik sürelerde patates kızartmalarında, ortama sarımsak ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları.....	30
Tablo 3. 8. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında, kızartma ortamına keven (dal kısmı) ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları.....	31
Tablo 3. 9. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında, kızartma ortamına keven (çiçek kısmı) ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları.....	31
Tablo 3. 10. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında ortama 3,3-DAB ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları.....	32
Tablo 3. 11. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında ortama Se—3,3-DAB kompleksinin ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları	32

KISALTMALAR LİSTESİ

A	: Adenin
AA	: Akrilamid
HClO₄	: Perklorik asit
HNO₃	: Nitrik asit
DAB	: Diaminobenzidin
NH₃	: Amonyak
C₆H₁₄	: n-Hekzan
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetikasit
CH₃OH	:Metanol
Se	: Selenyum
SH	: Tiyol Grubu
S	: Kükürt
C	: Sitozin
G	: Guanin
Cu	: Bakır
(O₂)	: Süper Oksit
(OH)	: Hidroksil
(NO)	: Nitrik Oksit
(SeO₄)⁻²	: Selenat
GSH	: Redükte Glutatyon
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
GST	: Glutatyon S-Transferaz
Sit-P450	: Sitokrom P450 (Cyt-P450) enzimi
Cyt2E1	: Sitokrom 2E1 enzimi
HCOH	: Formaldehit
RCOH	: Aldehit Grubu
R₂NH	: Amin Grubu
RSH	: Tiyol Grubu
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
HCOOH	: Formik asit

3,3-DAB	: 3,3-diaminobenzidin
Se-DAB	: Selenyum-3,3-diaminobenzidin kompleksi
SOD	: Süper Oksit Dismustaz
C₇H₈	: Toluen
BHT	: Bütilenmiş Hidroksi Toluen
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
HPLC	: Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1.GİRİŞ

Akrilamid (AA) maddesi, doğa içerisinde doğrudan yer almayan fakat kimyasal yöntemlerle sentezlenip ticaret alanında kullanıma hazır olabilen kimyasal yapıda bir maddedir.

Ticari alanlarda özellikle kullanım alanları, moleküler biyoloji, kromatografi ve elektroforez gibi değişik kullanım alanları bulunmaktadır. Akrilamid maddesinin ileri derecede toksik ve canlılarda kanser yapıcı bir madde olduğu 1970'li yıllarda deney hayvanları üzerinde [1] ve ayrıca belli sürelerde ve belli miktarlarda düzenli olarak alınmasının da kanserleşme ve toksisiteye sebebiyet verdiği yapılan birçok deneysel çalışmalarla rapor edilmiştir [1, 2]. Stockholm üniversitesi tarafından 2000-2002 yılları arasında yapılan çalışmalarda gıda maddelerinin yüksek sıcaklığa maruz bırakılarak işlem görmesi esnasında yüksek oranlarda akrilamid oluştuğunu ortaya koymuştur [3, 4]. Bu çalışmalar ışığında AA yüksek sıcaklığa maruz kalan gıdaların ısıtma işlemi tabii tutulması ve hazırlanması esnasında meydana gelen Maillard reaksiyonuyla da yakından ilgili olduğu görülüp [5] 100°C nin üzerinde oluşan bu reaksiyonla birlikte meydana gelen asparajin aminoasidinin de oluşumu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir [5, 6].

Maillard reaksiyonu serbest haldeki asparajin aminoasidi ile reaktif karbonil içeren indirgen şekerler arasında oluşmaktadır [7, 8]. Patateslerin ısıtma işlemi uygulanmış ürünleri, bilhassa patates cipsleri ve derin yağda kızartılan patatesler AA açısından oldukça zengindir [9, 10]. Ayrıca bu ürünlerin dışında diğer ısıtma işlemi uygulanmış gıdalardan kızarmış ekmek, bisküvi, krakerler, kurabiye, tost, kahvaltılık tahıllar, unlu mamuller, kavrulmuş kuruyemişler, şerbetli tatlılar, patlamış mısır, kahve vb. daha birçok gıda ürünleri yüksek AA içeriğine sahip gıdalardır [11, 12]. Dolayısıyla bu konuyla ilgili birçok bilim insanı çeşitli araştırmalar yaparak birçok bulgu elde etmişlerdir. Bu araştırmacılar Ölmaz ve ark. [13] ısıtma işlemi maruz bırakılan birçok gıda ürünlerinde meydana gelen AA düzeylerini deneysel veriler ışığında çeşitli sonuçlar elde ederek aşağıdaki Tablo 1.1'de açıklamıştır.

Tablo 1. 1. Ölmez ve ark.'nın gıda içerikli Akrilamid incelemesi sonuçları

GIDA MADDESİ	AKRİLAMİD (µg/kg)
Pirinç pilavı	Ölçülebilir değerin altında
Tahin helvası	Ölçülebilir değerin altında
Kebap, döner, ızgara	Ölçülebilir değerin altında
Çavdar Ekmeği	Ölçülebilir değerin altında
Beyaz ekmek (kabukta)	40-160
Kızarmış ekmek (hazır)	200
Hazır çorbalar	40-60
Tulumba tatlısı	40-45
Bebe bisküvisi	400-600
Bisküvi	70-130
Kraker	70-200
Kahvaltılık gevrekler	80-350
Ekmek	40-160
Kızarmış ekmek	90-1430
Sade kek	150-400
Zencefilli kek	1070-1410
Bisküviler	260-1450
Krakerler	180-420
Çeşitli fırıncılık ürünleri	230-3200
Kahvaltılık tahıllar	30-1400
Bebek bisküvileri	150-610
Patetes kızartması	330-3700
Kahve (bir bardakta)	25

Çiğ ve ısıtıl işlem uygulanmamış gıdalarda [14], ayrıca kaynatılmış veya suda haşlanmış gıdalarda da ölçülebilir düzeyde akrilamid oluşumu belirlenememiştir [15]. Gıdaların yüksek sıcaklıklarda işlenmesi ve hazırlanmasında kullanılan yağların da akrilamid oluşumunu arttırıcı yönde etki gösterdiği de düşünülmektedir [16, 17]. Dolayısıyla diğer bir AA oluşum mekanizmasına, indirgen şekerler, nem ve aminoasitlerle birlikte yağlarda dâhil edilmektedir. Bu mekanizmada, yağlardan başlayan AA oluşum yolu ileri sürülmektedir [17, 18]. Gliserolden oluşan akrolein ya da çoklu doymamış yağ asitlerinin ve onların bozunma ürünlerinin oksidasyonu sonucu AA'nın oluştuğu belirtilmektedir. Çünkü yağlar dumanlanma noktasının üzerindeki sıcaklıklara ısıtıldığında, gliserol akroleine parçalanmaktadır [6, 9]. Akrolein ise okside olarak akrilik aside dönüşmekte, akrilik asit amonyak ile yüksek verimlilikte bir reaksiyona girerek AA'e dönüşmektedir [19, 20]. Akrolein ya da akrilik asit reaksiyonu malik asit, sitrik asit ve

laktik asit içeren temel bazı organik asitli bileşiklerin dehidrasyon ve dekarboksilasyonu ile serbest halde bulunan asparajinin indirgen şekerlerle oluşturduğu Maillard reaksiyonu ile AA oluşumu söz konusu olmaktadır [21, 22].

İnsan sağlığı açısından ise incelendiğinde tüm kanserlerin yaklaşık 1/3' ünde en önemli faktör beslenme olarak saptanmış [23] olup, beslenmede kanserojen faktörlerden biri de AA'dir. AA'e uzun süre maruz kalındığı zaman hayvan ve insanların sinir sistemlerinde tahribata yol açtığı ve ayrıca memeliler için de olası bir genotoksik, mutajenik ve kanserojenik olduğu tespit edilmiştir [24].

Karbonhidrat bakımından zengin olan gıdaların ısıtılma maruz kalmasıyla bu gıdalarda yüksek değerlerde bulunan akrilamid maddesi insanlar üzerinde nörotoksik etki oluşturmaktadır [25]. Buna sebep olan olgu ise yapılan araştırmalar sonucu [26, 27] akrilamid maddesine toksik özellik katan durum nükleofil yapılarıyla etkileşen elektrofilik özellikte bulunan α , β -doymamış karbonil gruplarından kaynaklanan durumdur. Dolayısıyla AA elektrofilik özelliğinden dolayı tiyol, alkil hidroksil, imidazol, amin ve karboksil gibi nükleofilik özellik gösteren gruplarla rahat bir şekilde etkileşime girebilmektedirler. AA maddesinin hücrelerde oluşturduğu toksik etkisi akrilamid maddesinin yüksek sıcaklık derecelerinde nükleofilik özellik gösteren (SH) yani tiyol gruplarıyla etkileşim halinde olmasından dolayı oluşmaktadır.

Yapılan araştırmalarda akciğer kanseri ile meme kanseri hastaların plazmalarında asparajin aminoasidi yüksek bulunmuştur [28]. Malign tümörlerin gelişiminde L-asparajinin etkili olduğu deneysel araştırmalarda rapor edilmektedir [29]. Asparajin çeşitli tümörlerin gelişiminde önemli olan bir aminoasittir. L-asparajinaz enzimi ise kandaki asparajini hidrolize ederek tümör hücrelerinde protein sentezi için gerekli olan yapı taşı ortadan kaldırmış olur. Bu nedenle kanser tedavisinde asparajinaz kullanılmaktadır [30]. Yapılan hayvan denemeleriyle yüksek dozlardaki AA'in üreme ve sinir sistemini etkilediği, metabolik ürünü olan glisidamidin DNA'ya bağlanarak genetik hasara yol açtığı bulunmuştur [31, 32]. Organizmalarda ise akrilamidin genotoksikepoksit kısmen biyotransforme olarak 2,3-epoksipropionamid glisimid olarak adlandırılmaktadır [33, 34].

Ayrıca AA sigara dumanı içerisinde sigara dumanının bir bileşeni olarak da oluşmaktadır. Akrilamidin miktarı sigara başına 1.1 ile 2.3 g arasında değiştiği rapor edilmiştir [35]. Gıdalarda ki durumu ise, kızartma işlemleri sonucu oluşan trans-yağ asidi, asparajin ve akrilamidin, başta kanser olmak üzere kardiyovasküler, diyabet dâhil birçok

hastalığın ortaya çıkmasında oldukça etkin oldukları farklı araştırmalarla kanıtlanmıştır. [36]

Bundan dolayı yapılan çalışmaların neticesinde Uluslararası Kansere Araştırma Kurumu (IARC) akrilamidi bir kanserojen madde olarak sınıflandırmıştır [37].

AA maddesiyle ilgili yine yapılan çalışmalar üzerine Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2002 yılında [38] AA maddesiyle ilgili tüm çalışmalar değerlendirilip ortak bir sonuç ortaya koymuşlardır [39]. WHO ve FAO'nun gıdalarda bulunan AA'nın insan sağlığı açısından önemli bir sorun oluşturacağı ifadesini kullanmışlardır. Daha sonra AA ihtiva eden bilhassa patates cipslerinin üzerine “İnsan sağlığı açısından zararlı akrilamid içerir” şeklinde yazılıp bu uyarıyı tüm insanlar için bir kamu spotu haline gelmesini sağlamışlardır [40].

Çeşitli hastalıklara özellikle de kansere sebebiyet veren AA vücut içerisine fazla miktarlarda alındığı zaman vücut dokuları içerisinde GSH miktarı azalır. Böyle olması durumunda radikallerin nonenzimatik detoksifikasyonunda ve aynı zamanda GSH ihtiyacı duyan enzimatik detoksifikasyon içeriğinde bir azalmaya sebep olmaktadır. Dokularda bulunan oksidan/antioksidan uyumu oksidanların lehine bozulmaya uğrar ve oksidatif stres ortaya çıkar. Bu strese dayanarak dokularda bulunan GSH seviyesinin düşmesiyle oral yolla alınan akrilamid maddesi yeterince detoksifikasyona uğrayamaz. Böyle olduğu zaman akrilamid maddesi karaciğer içerisinde Sitokrom P450 2E1 ile okside hale getirilerek daha fazla toksik etki gösteren glisidamid formuna dönüştürülüp sonuç olarak genotoksik etkilere sebebiyet vermektedir [41].

AA ya da onun öncü maddeleri ile reaksiyona girebilen antioksidanların kullanımının, ısıtma işlemi uygulanmış gıdalarda AA oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir. Özellikle flavanoid içeren antioksidanların gıdalarda AA düzeylerini düşürdüğü rapor edilmiş olup bu durum kızartmalarda trans-yağ asidi, asparajin ve AA oluşumunun önlenmesinde antioksidan özellik gösteren selenyumun (Se) kullanılabileceği fikrinin oluşmasını sağlamıştır. Çünkü antioksidan özellik gösteren Se insan, hayvan ve bitkilerin [42], büyümesinde önemli olup, düşük dozlarda antioksidan, yüksek dozlarda ise toksik etki gösterdiği rapor edilmektedir [43, 44]. Se bitkilerde aminoasitlerden sistein ve metiyonin yapısındaki sülfürlerin yerine geçebildiği belirtilmektedir [45].

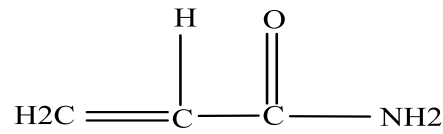
Antioksidan maddelerin diğer bir etkisi, AA vücuda alındığı zaman GSH sindirim sisteminde uygun seviyelere ulaştığında GST aracılığıyla Akrilamid-Glutatyon formuna sokularak etkisiz hale getirilir ve dolayısıyla kolay bir şekilde vücuttan atılması sağlanır.

Vücutun tamamında bulunan redükte glutatyonun ise yaklaşık olarak % 60'ının karaciğerde yer almasından dolayı çok fazla oranda bulunan AA, yine karaciğer organında Akrilamid-Glutatyon formuna çevrilerek büyük bir kısmı idrar yoluyla vücutun dışına atılabilmektedir [41]. Dolayısıyla bu araştırmada antioksidan selenyum hiper akümülatörü olarak bilinen keven (*Astragalus bisculcatus*) bitkisinin [46, 47] kullanılması kaçınılmazdır.

1.1. Akrilamid

1.1.1. Akrilamidin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Akrilamid (2-propenamid) renksiz bir madde olup, 84.5°C erime noktasına ve 125°C (760mm Hg) kaynama noktasına sahip, beyaz renkli ve kokusuz olan kristalik bir maddedir. 25°C de 0.007 mm Hg buhar basıncı değerine sahiptir. 71.08 g/mol molekül ağırlığına sahip olan bu bileşik; suda, asetonda kloroformda ve etanolde çözünme yeteneğine sahiptir, aynı zamanda sudaki çözünürlüğü de oldukça yüksektir (2155 g/L). AA ilk olarak poliakrilamid sentezi olmak üzere ticari amaca yönelik üretilen aynı zamanda kullanılan monomer yapılı bir bileşiktir. Poliakrilamidin ise kullanıldığı birçok alan vardır. Bu alanlar; içme sularının temizlenmesi, kâğıt elektroforezi, kâğıt üretimi, boya sanayi, kozmetik ve madencilik alanlarıdır [48].



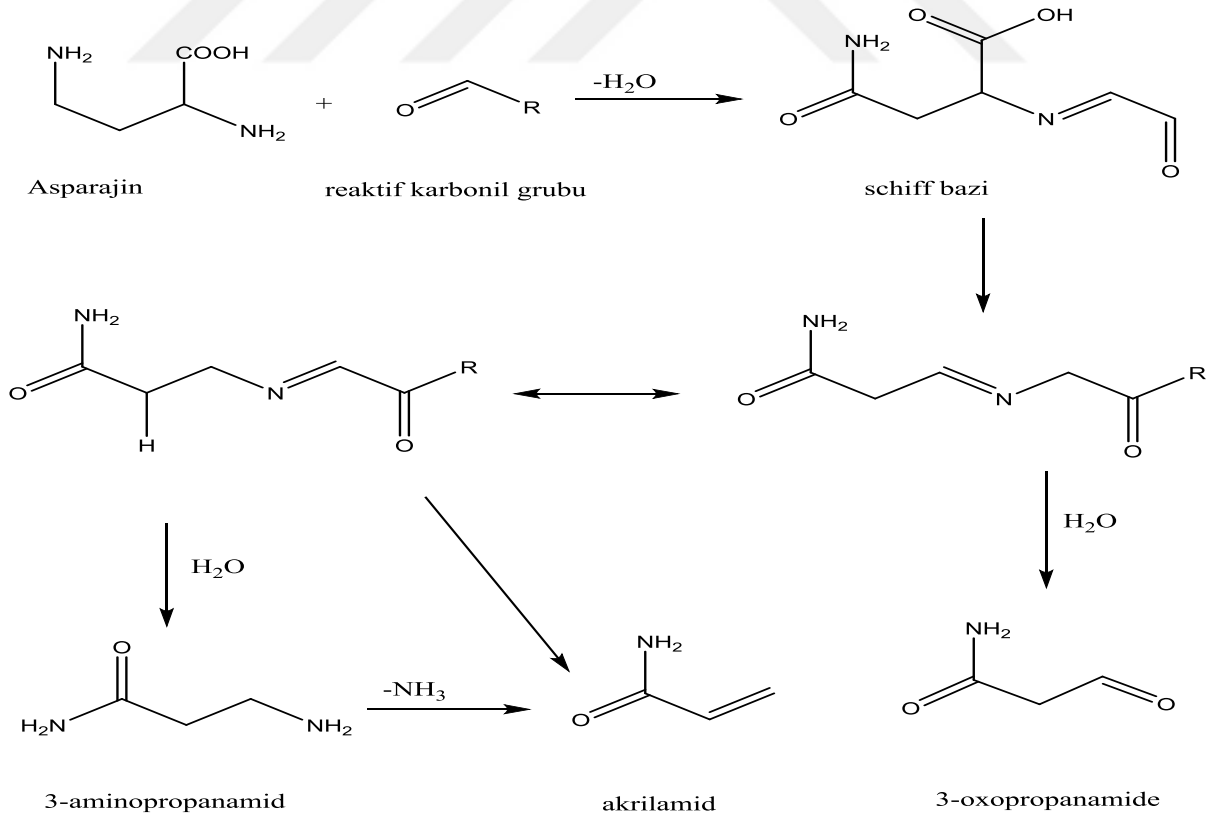
Şekil 1. 1.Akrilamidin (AA) molekül yapısı

1.1.2. Akrilamidin oluşum mekanizması

Akrilamid doymamış çift bağ içeren bir amid yapılı bir moleküldür [49] Bilinen diğer şekilleri etilen karboksamid, vinil amid, akrilik asit amid ve propenoikasid amid'dir. Bu maddenin küçük reaktiflerle yani formaldehit (HCOH), aldehitler (RCHO), aminler (R₂NH), tiyoller (RSH) gibi reaktif moleküllerle reaksiyon verebildiği bilinmektedir [50]. AA aynı zamanda 120°C'nin üzerindeki sıcaklıklara maruz kalan gıdalarda, glukoz veya

fruktoz gibi monosakkarit bileşikleri ile asparajin aminoasitleri arasında Maillard reaksiyonu sonucunda da meydana gelmektedir [51]. Bu tanımlardan da yola çıkarak besin maddelerinin yüksek sıcaklığa maruz bırakılmasıyla oluşan AA maddesinin meydana gelme şekli, gıdaların yapısında bulunan şeker ile asparajin aminoasidinin reaksiyon vermesi sonucu meydana gelmektedir. Lakin ısıtma işlemi esnasında ortamda ihtiva eden aminoasit ile şekerin büyük bir kısmı reaksiyon vererek AA maddesinin oluşumu söz konusu olabilmektedir [52]. Maillard reaksiyonu ile sadece AA maddesi meydana gelmemektedir bunun yanı sıra yüksek sıcaklıklara maruz bırakılan gıdalarda kanserojenik bileşiklerin meydana gelmesi kaçınılmaz olabilmektedir. Bu tür bileşiklerden en yaygın olanları; heterosiklik amin bileşikleri, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-alkil-N-nitrosamin ve akrilamid bileşikleridir [6].

Proteinlerin yapısında bulunan 20 tane farklı aminoasit içerisinde bulunan asparajin aminoasidi özellikle AA oluşumunda kritik rol oynamaktadır [53], aynı zamanda AA çoğunlukla asparajin aminoasidinin amino grubu ile indirgen şekerlerin karbonil grubundan meydana gelen bileşiklerle oluşan Maillard reaksiyonu neticesinde oluştuğu düşünülmektedir (Şekil 1.2).



Şekil 1. 2. Akrilamidin (AA) Maillard Reaksiyonu ile oluşum mekanizması

AA'nin meydana gelmesini etkileyen unsurlar; gıdalarda bulunan indirgen şekerlerin ve asparajin oranı, kızartmanın sıcaklığı ve zamanı, su miktarı ve gıdada ki matriks oranıdır [54]. Asparajin amino asidi için bu oran % 0.1-0.3 arasındadır. Bu konuyla ilgili Surdky ve ark. [55] ekmeğin içerisindeki hamura değişik oranlarda asparajin katması ile oluşturduğu bir çalışmada pişirme sonrasında ekmekte bulunan asparajin oranının % 0.3'lük kısmının AA maddesine dönüştüğünü rapor etmiştir (Şekil 1.3). Dolayısıyla buğday unu, mısır nişastası ve patates içinde bulunan AA maddesinin meydana gelmesine yönelik yapılan diğer farklı çalışmalarda bulunan asparajin-akrilamid dönüşüm miktarları biraz daha yüksek bulunmuş fakat bu oran totalde % 1'in altında kendini göstermiştir.



Şekil 1. 3. Asparajin ile şekerin karbonil grubunun etkileşimiyle akrilamid oluşumu

Maillard reaksiyonuyla yine yağ, şeker ve süt gibi gıda maddelerinin yüksek sıcaklıklara maruz bırakılmasıyla muhallebi ve bisküvi gibi besin maddelerinde AA maddesinin oluşumu kaçınılmaz olup, özellikle bu reaksiyonla sütün yapısında bulunan bazı proteinler denatüre olarak karaciğerde toksik etki meydana getirebilmesi söz konusu olmaktadır [56].

Bu şekilde birçok etkiye sebebiyet veren pişirilerek hazır hale gelen gıda maddelerinde oluşan AA miktarları, gıdalarda bulunan asparajin aminoasidi ve indirgen şekerlerin miktarlarına, uygulama sürelerine ve sıcaklık derecelerine bağlı olarak farklılık oluşturabilmektedir. Örnek olarak, 180°C de kızartması yapılan patates örneğinin, 120°C'de kızartması yapılan patates örneğine göre 30 kat daha fazla AA maddesi oluştuğu rapor edilmiştir. Bu örnekler bizlere farklı türden gıdaların kızartılması, pişirilmesi ya da kavrulmasıyla AA oluşumuna etki edeceği gibi aynı zamanda uygulama süresi ve sıcaklık derecelerinin de AA'nin meydana gelmesi açısından etkin bir hal aldığını ispatlamaktadır.

Surdky ve ark. [55] yaptığı çalışmalar sonucunda görülen şu ki pişirilme yapmadan önce asparajın oranının hamurda arttırılmasıyla pişirilme esnasında ise ekmekte oluşan AA seviyesinin ciddi boyutta arttığı görülmüştür. Dolayısıyla ekmek hamurunda artan asparajın miktarını düşürmek amacıyla patatesi pişirmeden önce asparajnaz enzimiyle işleme tutulup daha sonra pişirme işlemi yapıldığında akrilamid seviyesinin düşüş yaşadığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak besin maddelerinin yapısında ihtiva aminoasit ve şeker içerikleri göz önünde bulundurularak seçilmesi, pişirme yapılırken akrilamid maddesinin daha az oranlarda kalabileceğini gösterebilmektedir

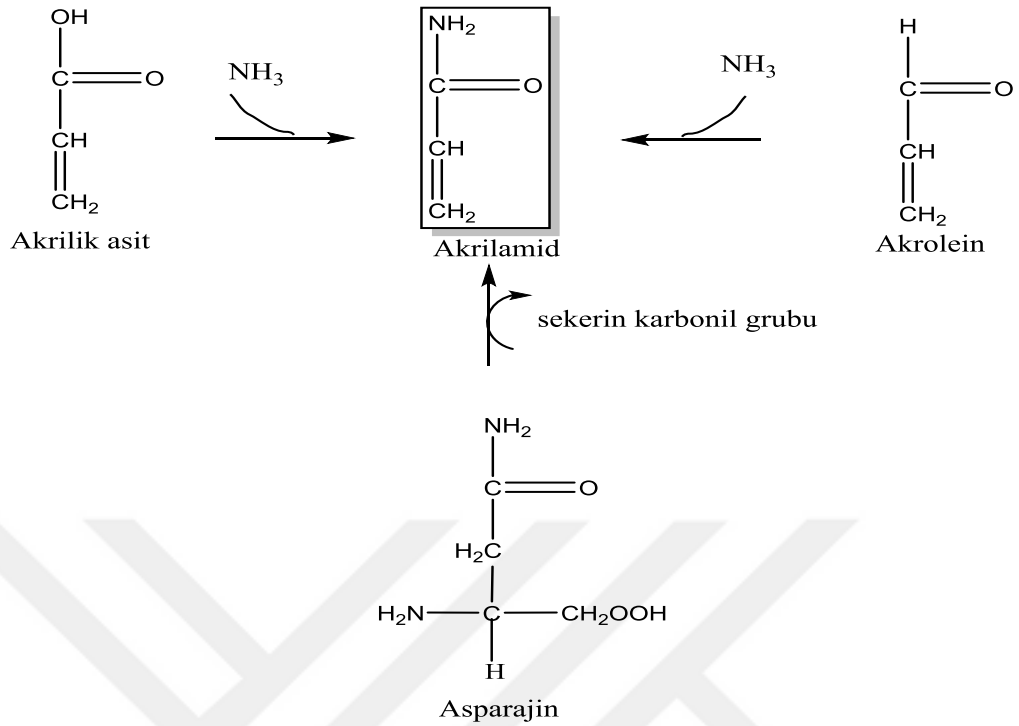
AA'nin oluşmasında meydana gelen bu faktörler gibi maillard reaksiyonlarının da oluşmasında etkili olan faktörler bulunmaktadır. Bu faktörler sıcaklık, su aktivitesi, süre, pH ve gıdalardaki şekerlerin bulunma şekilleridir.

1.1.2.1. Sıcaklık ve Süre etkisi

Sıcaklık maillard reaksiyonlarının hızına önemli ölçüde etki etmekte olup [57-59] sıcaklığın her 10°C artışı durumunda reaksiyon hızında da yaklaşık 4 kat artış görüldüğü rapor edilmiştir [60]. Aynı şekilde ısı işlem süresinin artmasıyla da maillard reaksiyonu ve esmerleşme olaylarının arttığı çalışmalar sonucu rapor edilmiştir [61].

1.1.2.2. Su aktivitesi durumu

Su aktivitesi faktörünün maillard reaksiyonlarındaki etkisi oldukça önemlidir. Su aktivitesinin etkisi gıda maddelerine göre farklılık gösterebilmektedir. Bu konularla ilgili yapılan çalışmalarda ortamlarda yüksek su aktivitesinin boy gösterdiği durumlarda maillard reaksiyon hızının yavaşlamaya başladığı, suyun aktivitesinin 0.6-0.7 arasında olduğu durumlarda ise maillard reaksiyon hızının maksimum seviyelere çıktığı rapor edilmiştir [62]. Yapılan bir başka çalışmada su aktivitesinin veya nem oranının az olması durumunda asparajın aminoasidi ile bir takım şeker molekülleri (glukoz, fruktoz, galaktoz) arasında oluşan Schiff bazlı hareket AA'nin meydana gelmesini sağlayabilir. AA oluşumu için uygun koşullar sağlandığında asparajın aminoasidinin dekarboksilasyonu ya da akrolein bileşiğine amonyak girişiyle meydana geldiği belirtilmiştir [63]. Özellikle kızartma ortamında nem oranının azalmasıyla kızarmış yağ içerisinde bulunan trigliseridlerin ısı altında bozulması artmakta ve akrolein meydana gelmektedir. AA'nin, akrolein etkisinde ki oluşum mekanizmasının, kızartılmış patates içerisindeki AA' in meydana geliş mekanizmasına benzerliği bulunmamaktadır [56].



Şekil 1. 4. Farklı moleküllerden meydana gelen akrilamid (AA) sentezi

Yapısında üç karbon ihtiva eden akrolein (2-propenal $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$) bir aldehit olup aynı zamanda AA'nin yapısına benzemekte ve dolayısıyla AA'nin başlangıç molekülü olarak tespit edilmiştir. Akrolein, AA'ye ana kimyasal tepkimelerle dönüşebilir, fakat akrolein bileşiği AA'nin alternatif oluşum mekanizmaları için gerekli değildir (Şekil 1.4) [64]. Su aktivitesinin yüksek olduğu durumlarda ise düşük olduğu durumların tam tersine gıdaların yapısındaki substrat konsantrasyonu azalarak reaksiyon hızını düşüşe uğrattığı belirtilmektedir [61, 65].

1.1.2.3. Asitlik ve pH faktörü

Maillard reaksiyonlarında pH ve asitlik değerleri reaksiyonun işleyişi bakımından büyük önem taşımaktadır. Asidik ortamlarda amino grubunun protonlanması durumunda glukozamin oluşumu önlenerek maillard reaksiyonunun asitli ortamlarda yavaş seyir etmesi sağlanmaktadır [66]. Kısacası pH seviyesi düşürülerek asparajin aminoasidinin serbest haldeki protonsuz α -amino grubu, protonlu amin yapısına dönüştürülerek reaksiyon için önemli basamak olan schiff bazı oluşumu engellenmektedir [6]. pH değerinin yüksek

olduğu durumlarda ise (pH~10.0)reaksiyon hızında artış söz konusu olabilmektedir [67, 68].

1.1.2.4.Aminoasit ve Şekerlerin etkisi

Şekerlerin büyük moleküllü olmaları durumunda aminoasitlerle vermiş oldukları maillard reaksiyonlarının daha yavaş olduğu belirtilmektedir [60]. Şeker moleküllerinin reaksiyona girebilme öncelik sırası, pentoz şekerler (L-ksiloz, L-arabinoz), hekzos şekerler (D-glukoz, D-galaktoz, D-mannoz), dissakarit yapılı moleküller (maltoz, laktoz) ve oligosakkarit yapılı moleküller (sakkaroz) şeklinde sıralanma durumları mevcuttur. Bunlarla birlikte aldoz şekerlerin ketoz şekerlerden öncelikli olarak reaksiyon verdiği de rapor edilmiştir [66, 69].

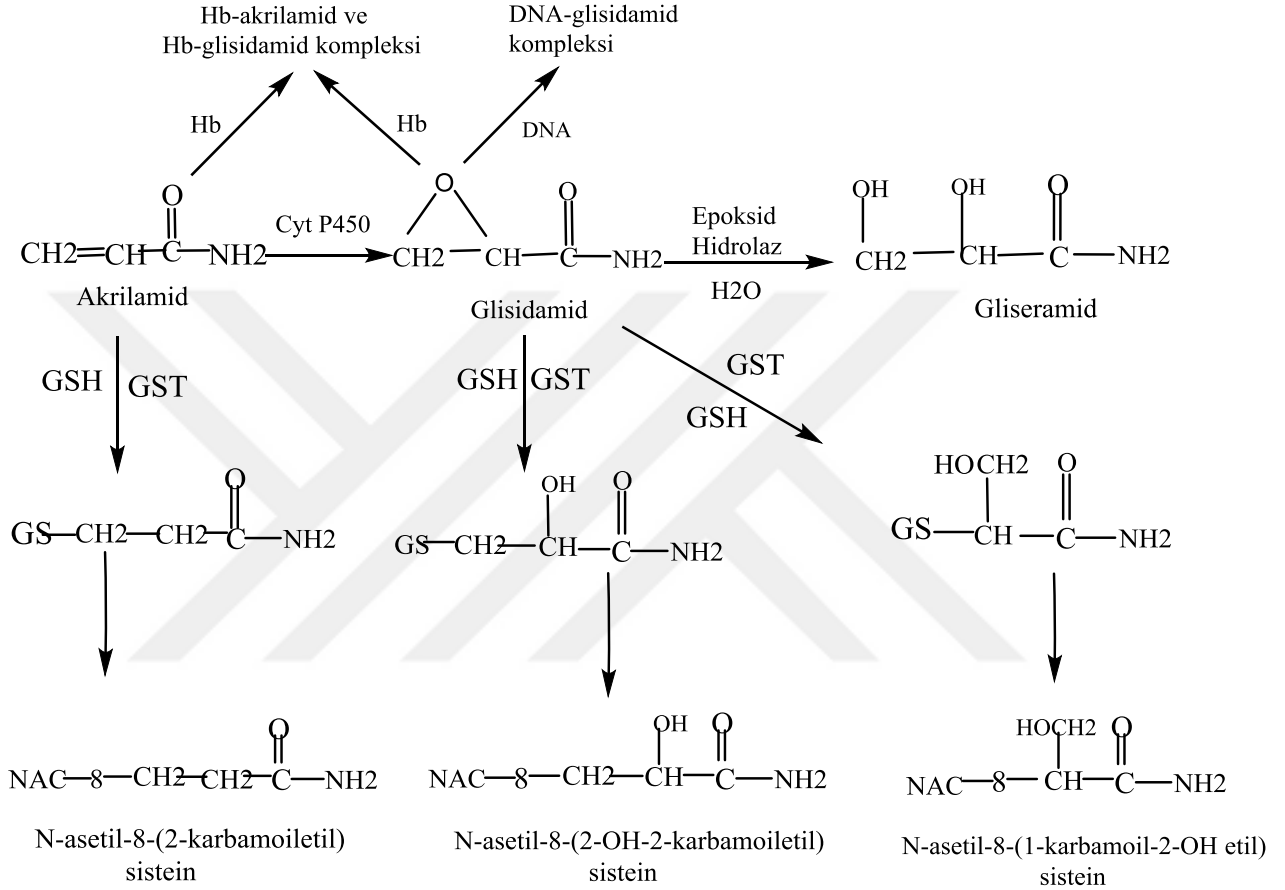
Kısacası; maillard reaksiyonlarının engellenebilmesinde aminoasitlerin, proteinlerin ve peptitlerin pH değerlerinin izoelektrik noktasından daha aşağıya çekilmesi, reaksiyon sıcaklığı ve süresinin minimum seviyelerde tutulması gereklidir. Ayrıca seyreltme durumu söz konusu ise reaksiyon oluşumuna sebep veren ortama su katılarak reaktanların arasındaki mesafenin uzatılması ve indirgen şekerlerin yerine indirgen olmayan şekerlerin seçilmesi uygun olmaktadır [69].

1.1.3. Akrilamidin vücuttaki metabolizasyonu

Akrilamid maddesine yönelik insanlar ve fareler üzerinde çeşitli metabolik araştırmalar yapılmıştır. AA maddesi metabolik olarak nükleofilik özellik gösteren maddelerle bilhassa tiyolat anyonları, imid, nitriller (N-etil maleimid) ve α - β doymamış amid gruplarıyla tepkime verebilmektedir. Özellikle proteinlerin fonksiyonları bakımından aktif olabilmesi için tiyol grupları gerekli olmaktadır. Bu gruplar özellikle hücresel antioksidan özellikli indirgeyici ajanlar olup reaktifleri GSH molekülleridir [70]. AA maddesinin genel metabolik yolu Şekil 1.5' de verilmiştir.

AA maddesinin glisidamide transformasyonu sonucunda bu iki yapının yıkımı glutatyona bağlı olarak enzimatik işlemlerle gerçekleşir ve vücut dışına idrar yoluyla N-asetil-S-(3-amino-3-okzopropil) sistein yapısında metabolit olarak dışarı atılmaktadır. AA maddesi glutatyon yapılı bileşiklerle okside olarak farklı yüzdelerde glisidamid oluşmaktadır. Dolayısıyla okside glisidamid grubu akrilamidin yapısında bulunan çift bağa oranla, yüksek derecede hemoglobin ile etkileşim haline girebilmektedir [71]. AA maddesinin

yıkımı iki farklı birbirleriyle yarışmalı olan enzimatik tepkimeler sayesinde olmaktadır. AA maddesinin redükte glutatyona bağlanabilmesi Glutasyon-S-transferaz ile olabileceği gibi glisidamide dönüştürülebilirliği ise Sit-P450 enzimi ile okside olarak gerçekleşmektedir. Dolayısıyla AA maddesini substrat şeklinde kullanırken bu farklı



Şekil 1. 5. Akrilamid maddesinin ana metabolik yolu

iki enzimatik tepkime birbirleriyle yarışır durumundadırlar [72, 73]. AA ile ilgili yapılan pek çok araştırmalar sonucunda bu maddenin mide ve barsak aracılığıyla etkili ve hızlı bir şekilde Emilimi söz konusu olmuştur [74]. AA maddesinin Emilimi mide ve barsakta gerçekleştiikten sonra plazmada 1 mol hemoglobine 4 mol AA molekölü bağlanarak karaciğer organına taşınıp karşılarına çıkan iki metabolik yollardan birini tercih etmektedir. Bu yollardan ya karaciğerdeki Sit-P450 enzimindeki Cyt-2E1 enzimiyle okside edilerek toksik etkisi fazla olan glisidamide dönüşür ya da glutatyona bağlanarak toksik etki göstermeyen N-asetil-S (2-karbamoiletil) sisteine dönüşüp herhangi bir zararı olmadan idrar yoluyla dışarıya atılımı gerçekleştirilir. Meydana gelen glisidamid maddesi ise plazma içerisinde hemoglobinle birlikte dokulara taşınması sağlanıp oradan da DNA

oluşmaktadır. Ayrıca tiyol gruplarıyla da etkileşime geçerek dokularda hasar oluşumuna, üreme sorunlarına ve en önemlisi kansere sebep olması kaçınılmaz olmaktadır [81-83].

Son 30 yılda AA maddesinin nörotoksik etkisini gözler önüne sermek için yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlarda erken oluşan ve sinirsel iletimlerin zararına sebep olan kanserli hücrelerin oluşma sürecinde AA maddesinin önemli ölçüde etkili olduğu belirtilmektedir [84]. AA maddesinin nörotoksik etkilerini incelemek amacıyla insanlarda ve hayvanlarda yapılan diğer bir çalışmada zararlı olan etkilerinin kaslarda zayıflığa ve koordinasyon bozukluğuna sebebiyet verdiği ortaya çıkmıştır [85-88].

Ayrıca insanlarda AA maddesinin 2A sınıfında bulunan kanserojenik bir madde olduğu Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından tespit edilmiştir. Bu tespit özellikle kemirgen türü canlıların hem somatik hücrelerinde hem de üreme hücrelerinde meydana getirdiği genlerde oluşan mutasyonlara ve de kromozomlarda meydana gelen anormalliklere dayandırılmıştır [89]. Son yıllarda gerçekleştirilen pek çok incelemeler [90-92], sonucunda akrilamid maddesinin nörotoksik etkisi dışında genotoksik etkisinin de olduğu belirlenmiş olup, bu etkisinin de glisidamidden meydana geldiği sonucuna varılmıştır. Bu sonuçta şöyle ki glisidamidden aynı oranlarda hayvanlara verildiği zaman bu maddenin AA'den daha mutajen özellik gösterdiği belirlenmiştir. Yine yapılan bir başka çalışmada AA veya glisidamidle etkileştirilen hücreler, kendi kendine mutasyona uğrayan kontrol hücrelerine göre daha çok G→C ve A →G değişimleri görülmüştür. Fare ve insan hücrelerinde oluşan bu mutajenik olgunun sebebi de bilim insanlarınca glisidamid ve AA metabolitlerinin DNA molekülleriyle oluşturdukları promutajenik bağlanma etkisinden meydana geldiği şeklinde rapor edilmiştir [90, 93].

1.2.Sarımsak(*Allium satium*)

Sarımsak bitkisi (*Allium satium*)familyasında bulunan *Allium* cinsinden olan soğanlı bir bitki türüdür. Ayrıca yapısı gereği saplarında, yapraklarında ve toprak altındaki soğanında kokulu bir yağ bulunduran bir bitkidir [94]. Sarımsak bitkisinin içerisinde kükürtlü bileşiklerin ve tiyosülfınatların (Allisin de dâhil olmak üzere) yüksek konsantrasyonlarda etkin maddeler bulunduğu öne sürülmektedir [95]. Sarımsak keskin bir kokuya sahip iştah açıcı özellik gösteren lezzeti yakıcı olan ayrıca etli yemeklerde ve birçok yiyecek içerisinde bulunan dolayısıyla çeşitli özellik gösteren bir bitki olup, aynı zamanda tıptaki önemi oldukça fazladır. Sarımsak (*Allium satium*)140 kalori değerinde

olup bu bitkinin 100 gramlık kısmında 63.8 gsu, 28.2 g karbonhidrat, 0.2 g yağ, 11 g selüloz ve 5.3 g protein bulunmaktadır. Sarımsak (*Allium satium*)kendi yapısında 200'ü aşkın kimyasal yapıda bileşik ihtiva etmektedir. Bu bileşiklerden en önemlileri kükürt içerikli kimyasal bileşikler (allii, ajoene ve alicin) den meydana gelen uçucu özellikteki yağlar, karbonhidratlar (glukoz, sakaroz), enzimler (mirasinaz, peroksidaz ve alinaz), aminoasitler, mineraller, niasin, A, B1,B2 vitaminleri ve aynı zamanda C vitaminidir [96, 97]. Sarımsak bitkisinin (*Allium satium*)kendine has karakteristik kokusu ve tadı bulunmakta olup, bunu sağlayan madde ise Allisin (dially thiosulfinate) maddesidir [94, 98]. Sarımsakyapısında birçok özellik ihtiva etmekte olup bu özellikler; antimikrobiyal, antioksidan, antifungal ve antitrombotik özellikleridir [95, 99]. Yine sarımsak bitkisinin genel fonksiyonları arasında muhteşem özellikleride bulunmakta olup bu özellikler; parazitleri, mantarları, bakterileri etkisiz hale getirmek, kolesterol ve kan şekerini düşürmek aynı zamanda karaciğerde koruyucu kalkan olup tümör engelleyici maddeleri içinde bulundurma özelliğidir. Sarımsakbitkisinin etkisini gösterebilmesi için çiğ halinde tüketiminin gerekliliği söylenmesine nazaran birtakım araştırmacılar pişirilmiş sarımsağın çok türlü bekletilmiş ekstratların aynı zamanda yağlarının kimi durumlardaenfeksiyonlara ve serbest radikallere karşı olarak çiğ halde bulunan sarımsağa göre korumasının daha iyi olabileceğini öne sürmektedir [96].

1.2.1.Sarımsak (*Allium satium*) bitkisinin antioksidan özelliği

Son 10-15 sene boyunca ismi çokça kullanılmakta olan antioksidan kelimesi; organizmamızdaki hücrelere zarar verme eğilimi teşkil eden serbest radikallere ve okside ajanlara karşı koruma kalkanı oluşturmamıza yardım eden A, E ve C vitaminleri, bioflavanoidler, beta-karoten ve selenyum (Se) gibi bir takım maddeleri içerisinde bulundurmaktadır [100, 101]. Se depolama özelliğine sahip olan sarımsak, soğan, brokoli ve yabani pırasa gibi bitkilerde yoğun olarak bulunan ve aynı zamanda bir Seleno-aminoasit olan Se-metilselenosisteinin [102], kanserojenik etkilere karşı koruyucu özellik gösteren bir yapıya sahip olduğu gözlenmiştir [103]. Se bakımından zengin olan sarımsak bitkisinin kansere karşı antikanserojen özellik gösterdiği rapor edilmiştir [104]. Bu olgunun, S ile Se yer değiştirmesiyle oluştuğu, dolayısıyla selenyum açısından zengin olan soğan ve sarımsağın içinde bulunmakta olan S-metilselenosistein maddesinin tümör oluşmasını engellemeye çalışan bir madde olduğu belirlenmiştir [105]. Sarımsak bitkisi,

içyapısında müthiş bir antioksidan olarak bilinen sülfhidril maddesini çok miktarda teşkil etmekte fakat çiğ halde bulunan sarımsak bu etkiyi teşkil edememektedir. Sarımsak bitkisinin radyasyon içerikli ortamlara karşı koruma kalkanı görevine bürünmesinden dolayı ortamdaki serbest halde bulunan radikallerin zararlı etkilerini azaltmaya çalışmakta ve bu sayede prematüre yaşlanma ve kanser gibi dokusal bozukluğa sebebiyet veren rahatsızlıkların meydana gelme tehlikesini de önemli ölçüde azaltıcı etkisi olabilmektedir. Sarımsakbitkisinde aynı zamanda bu serbest haldeki radikallerin yol açtıkları zarara karşı koruma kalkanı rolüne yardımcı olan Glutamin, Sistein, İzolösin ve Metionin gibi aminoasitler bulunmaktadır [100, 101].

1.2.2. Sarımsak(*Allium satium*)bitkisininkanser tedavisindeki etkisi

Sarımsak(*Allium satium*) bitkisi kanser önleyici bir ajan olarak bilinen aynı zamanda bağışıklık sistemini harekete geçirmeye kolaylık sağlayan bir bitkidir. Tümör oluşmasına sebep olan karsinogenik maddeler, bağışıklık sisteminin güçlenmesiyle yok olabilmektedir. Sarımsak yapısı gereği içerisinde bulundurduğu Allinaz ve diğer bileşiklerden meydana gelen bu etkisi yapılan türlü deneme çalışmalarıyla doğrulanmış olup kanser taşıyan farelere sarımsaktan oluşan bir ekstrap enjeksiyon aracılığıyla verilince tümör içerikli hücrelerin üremesini engellemiş aynı zamanda kanser hücrelerinin mutasyona uğramasına direkt neden olmuştur. Sarımsak bitkisini kullanan şahısların mide kanseri hastalığına karşı belirli bir seviyede korunacakları Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından gerçekleştirilen çalışmalar sonucu anlaşılmıştır [106, 107].

1.3. Keven(*Astragalus bisulcatus*)

Keven (*Astragalus bisulcatus*) baklagiller (Fabaceae) ailesinden bir üye olup, Asya'da kurak ve yarı kuraklı bölgelerde, Türkiye'de ise İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinin 1300-2300 metrelik yüksek kısımlarında step, orman ve aynı zamanda dağ yamaçlarındaki kısımlarda geniş bir biçimde boy göstermektedir. Bu bitkinin dağlık alanlarda özellikle Giresun, Ankara, Çanakkale, Erzurum, Konya ve Elazığ'da görülme sıklığı fazladır [108]. Keven(*Astragalus bisulcatus*) bitkisinin bozkır alanındaki türü 200 den fazla ve karakteristik olup, aynı zamanda bubitkiler soğuğa ve kuraklığa karşı dayanıklı duran bir yapıya sahip olan çok yıllık bitki türleridir [109]. Fiziksel özelliği

bakımından keven(*Astragalus bisculcatus*) bitkisi baklagiller familyasında bulunan görünümü eliptik şeklinde olan çok yıllık bitki türlerindendir. Yetiştği bölgelere göre 2000 kadar çeşiti bulunmaktadır. Yaprakları dal boyunca karşılıklı sıralanmış halde olup sarı, açık sarı, beyaz ve pembe renklerde açan çiçekleri olan otsu ve dikenli bitkilerdir [110]. Fizyolojik açıdan keven bitkisi organizma içinde bağışıklık sistemini kuvvetlendirici etkiye sahip olup, gribal enfeksiyonlara karşı antikor üretimi yapar ve antikorların hastalık anında savaşıma yeteneklerini arttırmada etkili olmaktadır. Ayrıca bununla sınırlı kalmayıp gribin etki süresini azaltmaktadır [111]. Yapılan diğer bir takım çalışmalarda ise yine seri olarak bağışıklık görevini destekleyen *Astragalus* türlerinin diğer etkileri ise;

- Kalbin kan pompalama hacminde iyileştirmeye yönelik tedavi edici olduğu,
- Beyin ve kalp dokularına oksijen taşımaya yardım sağladığı,
- Vücudun direncini artırdığı,
- Fareler üzerinde yapılan deneylerde ise *Astragalus* özütü alan farelerdeki idrar torbası kanserinin görülme oranının daha az olduğu,
- Akciğer kanseri olan hastalarda kansere sebebiyet veren tümörlerin çoğalmasını engellediği görülmektedir [112].

Keven bitki türlerinin birçoğu halk arasında; antiviral, karaciğer koruyucu, immüno stimulan ve antioksidan özelliklerinden dolayı da tüketilebilmektedir [111]. Keven bitkisi antioksidan Sedepolama özelliğine sahiptir. *Astragalus bisculcatus* 'un bir uç örneği keven bitkisinde ki Se miktarının 15.000 mg/kg kuru ağırlık Se biriktirdiği rapor edilmektedir [113]. Keven bitkisinin sayıları hemen hemen diğer Se depolayıcıları gibi topraktaki düzeyleri 1-100 mg arasında değişebilmektedir [114, 115]. Aynı zaman da bu tip bitkiler için Se akümülatörleri veya Se indikatörleri adı verilmiştir [116, 117]. Se elementinin bitkilere geçişi kükürt (S) elementinin değişime uğraması sonucu esas olan $(\text{SeO}_4)^{-2}$ selenat'a dönüşüp böylelikle bitkiler tarafından biyo-Se şeklinde selenoaminoasit olarak topraktan alındığı rapor edilmektedir [118, 119].

Keven bitkilerinde yapılan bir diğer çalışmada da Se hiperakümülatörünün mevsimsel etkiye bağlı olarak bir takım dalgalanmalar yaşadığı tespit edilmiştir [113]. Genellikle Se miktarının ilkbahar döneminde maksimum düzeye ulaşması ise bitkinin kökünden yapraklarına Se'un taşınmasıyla açıklanmıştır. Daha sonra yapraklarda bulunan Se seviyeleri sonbahar ve yaz aylarında aşamalı olarak düşüşe geçtiği gözlenmiş ve dolayısıyla Se düzeyinin bitkinin üreme organlarından köklere doğru yükseldiği

görülmüştür. Keven bitkisinin genç verimli olan yaprakları ve köklerinden çok yaşlı yapraklarının daha fazla toplayıcı özellik gösterdiği ve dolayısıyla organik halde ki Se'un birikmesine de ortam sağlayacağı gözlenmiştir [120].

1.4. Selenyum (Se)

Se, periyodik tablo içerisinde VI A alt grubunda bulunmakta olan bir elementtir. Se, hava ve su içerisinde erimiş halde, aynı zaman da toprak ve kayalarda ise katı halde bulunmaktadır. Dolayısıyla bu yollarla bitkilere, mantarlara, bakterilere ve insanlara geçip, sonra yeniden doğaya dönmektedir [121]. Se elementi bitkiler için çok gerekli bir element değildir. Lakin bazı araştırmacılar [122, 123] Se'un az bir kısmının bitkiler için gelişmeyi kolaylaştırıcı etkisi olduğunu belirtmişlerdir [124]. Se elementi, insanlar ve hayvanlar için mutlaka gerekli olup [125], hayvanlara biyolojik olarak selenit ve selenat gibi inorganik şekillerde ayrıca selenosistein ve selenomethionin gibi organik şekillerde verilmesi sağlanmaktadır [126-128]. Se, bir eser element olarak bilinmekte olup [129] yapısal olarak enzim ve protein şeklinde görev yapabilen seleno-protein halinde bulunmaktadır. Bu eser element vücudumuzda ilk olarak böbrekler sonra karaciğer, hipofiz, pankreas, dalak gibi pek çok dokuda birikebilmektedir [130]. Eser haldeki Se ihtiyacı selenyum elementinin kimyasal şekline, hayvanlarda bulunan selenyum düzeyine, proteinler, lipitler, aminoasitler, arsenik, kadmiyum, civa, bakır ve E vitamini gibi metabolizma içerisinde karışan veya günlük besin ihtiyacını çoklaştıran etkenlerin miktarına bağlı olabilmektedir [131, 132]. İhtiyaç olan Se'un günlük olarak alınımı 90 µg/gün olmaktadır. Fakat bu oranın diyet haldeki Se elementinin kimyasına ve yararlı olan şekline bağlı olarak farklılık göstermektedir. Se açısından zengin olan gıdalar genellikle biyolojik olarak protein yapılarıyla bir araya gelip kompleks oluşturabilen protein bakımından zengin gıda ürünleridir. Bu sebepten dolayı deniz mahsulleri, sakatatlar (böbrek, karaciğer), kırmızı et, balık gibi ürünler tahıl, sebze, meyve, süt ürünleri ve beyaz et ürünlerine göre selenyum açısından daha zengin gıda ürünleridir. Ayrıca süt ve süt ürünleri ile et ve balık ürünlerine nazaran meyve sebze ve tahıllardaki Se'un metabolik olarak değeri daha fazladır [133]. Se elementi insan organizması içerisinde birçok biyolojik fonksiyonda görev almaktadır. Önemli fonksiyonel görevlerinden biri antioksidan özelliği taşımasıdır. Bu önemli özelliği ile herhangi bir doku hasarında koruyucu bir özellik göstereceği ifade edilmektedir [129]. Bu hasarı önleme şekli E vitaminiyle yakından alakalı olup bu şekilde ikisi beraber pek çok

hücre zarını çeşitli oksidatif etkilere karşı korumaktadır [130]. E vitamini, üreme gücünü arttırmakta ve iyi bir antioksidan olma bakımındaki rolü ve metabolizmada oluşan hastalıklara karşı oldukça dirençli olması özellikle de gıdalarda kullanılan etlerin kalitesi ve raf ömrünü uzatması sebebiyle günümüzdeki önemi oldukça artmaktadır [134]. Değişik gıda ürünlerinden alınan selenyum elementi zekânın ve üreme fonksiyonlarının gelişiminde gerekli olduğu gibi organizma içerisindeki bağışıklık sistemini güçlendirici etkisi bulunmaktadır. Bu güçlendirici etkisi günümüz hastalıklarından olan AIDS hastalığını, yaşlılık evrelerinde meydana gelen katarakt hastalığını, gribal enfeksiyonları [135], kanserin birçok çeşidini, kalp ve romatizmal ağrıları, şeker hastalığı, hipertansiyon, astım ve guatr gibi pek çok hastalığı engelleyebilmektedir [136]. Se elementinin bir başka etkisi özel bir protein olan spermatozanın içerisinde bulunup aynı zamanda birer organik baz olan pürin ve pürimidinlerin yapısına bağlanabilme özelliğinden dolayı RNA molekülünde ayrı bir görevi bulunmaktadır. Ayrıca prostaglandinlerin sentezinde ve esansiyel yağ asitlerinin metabolik olaylarında ve immün sisteminde de oldukça etkilidir. Yine Se elementi birçok enzimin yapısında bulunan bir element olup bu enzimlerden en önemlisi glutatyon peroksidaz (GPx) enzimidir [132, 137-139].

Se ile E vitamini birlikte antioksidan özellikleri yeterli olmadığı zaman glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi de yetersiz olmakta ve dolayısıyla meydana gelen serbest radikallerin zararlı etkisi engellenememekte ve buna bağlı olarak hücrede yapısal bütünlük sağlanamamaktadır [138, 140]. Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada Se eksikliği oluşturulan ratların karaciğer organlarında serbest radikaller meydana gelmesiyle önemli olumsuz değişimlerin olduğu gözlemlenmiştir [129]. Olumsuz etkilere sebebiyet veren serbest radikaller ömürleri kısa olan, kararsız, düşük molekül ağırlıklı, tek veya birden fazla eşleşmemiş elektron yapısına sahip olan moleküller olarak bilinmektedir. Bu moleküller patolojik mekanizmaların da bir parçası olup birçok serbest radikal oluşumu ve ksenobiyotiklerin zararlı etkileriyle yakından alakalıdır [141, 142]. Serbest radikallerin kimyasal olarak nitrik oksit (NO), süper oksit (O_2), hidroksil (OH), ve lipid peroksid radikalleri gibi çeşitli kimlikleri bulunmaktadır [143]. Oluşan önemli serbest radikal grupları biyolojik sistemlerde bulunan oksijenden meydana gelen radikal gruplarıdır. Oksijen molekülü yükseltgenme ve indirgenme olayları için kükürt ve demir içeren enzimlerle ve de flavoproteinlerin yardımıyla süper oksit grubuna (O_2) indirgenmektedir. Oldukça aktif olan ve hücrenin hasarına sebebiyet veren bu süper oksit grubu bakır (Cu) içerikli bir enzim olan süper oksit dismutaz (SOD) yardımıyla oksijen ve hidrojen

peroksite (H_2O_2) formasyonu gerçekleşir. Süper oksit gruplarına göre etkisi daha az olan hidrojen peroksit (H_2O_2) dokular içerisinde yer alan peroksidaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi etkisi daha az olan yapılara çevrilerek etkisiz hale getirilmektedir [144, 145]. Ayrıca yine süper oksit gruplarının çok çabuk bir şekilde meydana getirdiği singlet oksijen yapısı hücre zarlarının içerisinde yer alan glikolipid, fosfolipid, sterol ve gliserid yapısında bulunan doymamış yağ asiti gruplarıyla tepkimeye girerek aldehitler, alkoller, peroksitler, etan, pentan ve hidroksi yağ asitleri gibi farklı tiplerde lipid peroksidasyon ürünlerini meydana getirmektedir. Oluşan bu lipid peroksitler, indirgenmiş glutatyon (GSH) Gs-peroksidaz gibi selenyum içerikli bir enzimle lipidler alkol gruplarına dönüştürülerek aktifliği sonlanmaktadır [144-147]. Se elementinin eksikliği ile meydana gelen bu olayların yanı sıra yüksek konsantrasyonlarının (6-20 mg/kg) hayvanlar üzerinde ağır birtakım zehirlenmelere sebebiyet vermektedir. Bununla birlikte alkali rahatsızlığına da rastlanılmaktadır. Bu hastalığın belirtileri; el ve ayaklarda uyuşma, kansızlık, sağırılık, deride kalınlık oluşması aynı zamanda da hayvan tüyleri ve tırnaklarında döküntülerin meydana gelmesidir [148]. Se elementinin, antioksidan özelliğiyle birlikte antikanserojen aktivite gösterdiği de ayrıca rapor edilmiştir [149, 150]. Dolayısıyla Se elementi kanserli hücrelere karşı antikanserojenik özelliğine sahip olup, Se açısından iyi olan bitkilerin (*Astragalus bisculcatus*, *Allium satium* vs.) tüketimi Se elementinin besin olarak alımının artmasında etkili bir rol oynamaktadır [151].

1.5. Amaç

Bu araştırmadakızartmalarda oluşan ve kanser dâhil birçok hastalığın oluşumunda etkin olduğu belirtilen AA'nın, HPLC ile tayininde bütün deneysel şartların optimize edilmesi ve çalışma grafiklerinin oluşturulması sağlanacaktır. Ayrıca patates kızartmasında, kızartma süresi, sıcaklık ve sıvı yağın cinsi gibi değişik parametrelerde oluşabilecek AA miktarlarını belirlenmesi sağlanacaktır. Kızartmalar sonucu oluşacak AA miktarlarının azaltılması amacıyla, kızartma ortamına katılacak olan Se bakımından zengin başta keven (*Astragalus bisculcatus*) ve sarımsak (*Allium satium* L.) bitkileri katılması sağlanacaktır. Yapılacak deneylerin sonunda Se'un kızartma sonucu oluşabilecek AA miktarlarına etkileri, yani bunların oluşmalarını önleme dereceleri belirlenecektir. Dolayısıyla bu materyallerde Se tayini için deneysel şartların optimize edilmesi, çalışma grafiğinin oluşturulması ve Se bakımından zengin, keven ve sarımsak optimize edilen

şartlardaki kızartma ortamlarına katılarak her birinin akrilamid oluşumunu önleme dereceleri saptanacaktır.Ayrıca Se'un net etkisini belirlemek için kızartma yağına 3,3-DAB ile Se-DAB kompleksi katılarak kızartma işlemleri gerçekleştirilecektir. Kızartmalarda AA ve Se parametreleri arasında olası korelasyonlar araştırılmaya çalışılacaktır.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Genellikle kızartmalarda patates kızartmalarında Boskou ve arkadaşlarının [152] çalışmasındaki kızartma işlemleri modifiye edilerek uygulanmıştır. Kızartma ortamına katılması düşünülen keven ve sarımsağın Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim dalında tür teşhisi yapılmıştır. Kızartma ortamına katılması planlanan materyallerde keven ve sarımsağın önce Se miktarları belirlenmiştir. Daha sonra ise kızartma yağında Se analizi yapılarak, yağa geçebilecek Sekantitatif olarak belirlenmesi sağlanmıştır.

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların temin edildiği firmalar karşılarında belirtilmiştir.

- HClO_4 (Perklorik Asit) : Merck KGaA 64271 Darmstadt (Germany)
- HNO_3 (Nitrik Asit) Merck KGaA 64271 Darmstadt (Germany)
- HCl (Hidroklorik Asit) Merck D-6100 Darmstadt F.R (Germany)
- $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$ (Etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) E.Merck Darmstadt
- HCOOH (Formik Asit) Carlo ERBA Group
- $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4$ (3,3' - Diaminobenzidin (3,3' - DAB)
- NH_3 (Amonyak)
- $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_3$ (Toluen)
- $\text{CH}_3\text{-OH}$ (Metanol) Merck KGaA 64271 Darmstadt (Germany)
- Se (Selenyum)
- $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$ (Akrilamid)Sigma Aldrich (İstanbul)

2.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

- Ultrasantrifüj : Mistral 2000 marka santrifüj
- Spektrofotometre : Secomam S. 750

- Hassas terazi : Chyo JL-189
- Karıştırıcı : NM 110 Vorteks
- Florimetri : Perkin- Elmer LS 55 floresans spektrofotometresi
- Ultrasonik su banyosu: TRANSSONIC 460/H D-78224 SINGEN/Htw. Germany
- HPLC : CECİL 1100 Serisi HPLCve UV dedektörü

2.2. Metot

2.2.1. Kızartma İşlemi

Patates örneklerinin kızartılma işlemleri için [153] uyguladıkları metot aşağıda belirlendiği şekilde modifiye edilerek uygulandı. Bu işlem için taze patates örnekleri 0.7-1.0 cm kalınlığında dilimlendi. Daha sonra çelik bir tavaya 50 mL yağ alındı. Küçük piknik tüpü (bütan gazı kullanılarak) üzerinde ısıtma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra yaklaşık 100 gram patates örneği çelik tavada yağ içerisine alındı. Daha sonra değişik yağlarda ve sürelerde kızartma işlemleri yaklaşık 180°C derecede bütün yağlarda aynı sıcaklıkta olacak şekilde gerçekleştirildi. Bu işlemlerde kızartma işlemlerinde yoğun olarak kullanılan ayçiçek ve mısırözü yağına ilave olarak zeytinyağı kullanıldı.

Patates cipsi üretiminde, kızartma süresinin AA oluşumunun artışına sebep olduğu rapor edilmiştir [154]. Bu literatür bilgileri ışığında kızartma süresi 6, 9, 12 ve 15 dakika olmak üzere dört farklı kızartma süresi tercih edildi.

2.2.2. 3,3'-Diaminobenzidin çözeltisinin hazırlanması

Patates kızartılması sırasında kızartma ortamına flavonoidce zengin ekstrakter katıldığında AA oluşumunun önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir [155]. Yapılan pek çok araştırmalara göre antioksidan özelliği olan Se'un AA oluşumuna etkisini gözlemek amaçlanmıştır. Se yağda çözünmediğinden dolayı yaptığımız çalışmada Se'un yağda çözünebilen 3,3'-diaminobenzidin (3,3'-DAB) ile Se-DAB kompleksi hazırlanması gereklidir. Kızartma yağlarına katılacak olan Se-DAB kompleksinde 3,3'-diaminobenzidin akrilamid oluşumuna etkisini belirlemek için aşağıda belirtildiği şekilde ile işlemler gerçekleştirildi. Bu işlemler için önce 1.0 mg/mL derişimdeki 100 mL 3,3'-

diaminobenzidin (3,3'-DAB) çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiden 3.0 mL alınarak üzerine 2 mL 2.5 M formik asit, 4 mL 0.1 M EDTA çözeltisi katıldı ve 4 N HCl ile ortamın pH'ı 1.7'ye ayarlandı. Bu çözelti karanlıkta 1 saat bekletildi ve 4.0 N NH₃ çözeltisi ile ortamın pH'ı = 4'e ayarlandı. Daha sonra ayırma hunisine alınarak üzerine 15 mL kızartma yağı ilave edilerek iyice çalkalandı ve bu şekilde 3,3'-DAB yağa ekstrakte edimiş oldu. Bu ekstraksiyon işlemi iki kez tekrarlanarak yağlar birleştirildi. Daha sonra bu yağ 50 mL toplam hacme tamamlanarak kızartma işleminde kullanıldı. Bu şekilde 60 µg/mL 3,3'-DAB çözeltisi hazırlanmış oldu. Bu kızartma yağında 3,3'-diaminobenzidinin (3,3'-DAB) akrilamid oluşumuna etkisi belirlendi.

2.2.3. Kızartma yağlarına katılan Se-DAB kompleksinin hazırlanması

4 N HCl ile konsantrasyonu 1.0 g/mL olan, 100 mL Se çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu Se çözeltisinden 1.0mL alınarak üzerine taze hazırlanmış 1.0 g/mL derişimindeki 3,3'-DAB çözeltisinden 3.0 mL katıldı. 3,3'-DAB çözeltisinin reaksiyon ortamına fazla katılmasının nedeni tüm Se'un reaksiyona girmesini sağlamaktır. Daha sonra bu karışım üzerine 2 mL 2.5 M formik asit ve 4.0 mL 0.1 M EDTA ve çözeltisi katıldı ve 4.0 N HCl ile pH'ı 1.7'ye ayarlandı. Kompleks oluşumunun tamamlanması için karanlıkta 1 saat bekletildi. Daha sonra 4.0 N NH₃ çözeltisi ile ortamın pH'ı = 4'e ayarlandı. Çözelti ayırma hunisine alınarak üzerine 15 mL kızartma yağı ilave edilerek iyice çalkalandı. Bu şekilde oluşan Se-DAB kompleksi yağa ekstrakte edildi. Bu ekstraksiyon işlemi iki kez tekrarlanarak yağlar birleştirildi. Daha sonra bu yağ 50 mL toplam hacme tamamlanarak, 20 µg/mL konsantrasyonunda Se-DAB kompleksi hazırlandı. Bu şekilde hazırlanmış olan yağlar ile gerçekleştirilen patates kızartmalarında Se'un AA oluşumuna net etkisi gözlemlendi. Bu işlemler ile Se ile 3,3'-DAB kompleksleştirilerek yağda çözünür hale getirilmiş oldu. Yağa ekstrakte edimiş olan Se-DAB kompleksi florimetrede ölçülerek kompleksin yağ fazına ekstraksiyonu test edildi.

2.2.4. Kızartma ortamına sarımsak ve kevenin dal ve çiçeklerinin katılması

Değişik kızartma yağlarının 50 mL'sine ezilerek iyice parçalanmış 1.5 g sarımsak katılarak, 12 dk süre ile patates kızartma işlemi gerçekleştirildi.

Aynı şekilde 50 mL'lik kızartma yağına iyice ufalanarak iyice parçalanmış kevenin dal kısmından 1.5 g katılarak, 12 dk süre ile kızartma işlemleri gerçekleştirildi.

Yine 50 mL’lik kızartma yağına iyice ufalanarak iyice parçalanmış kevenin çiçek kısmından 1.5 g katılarak, 12 dk süre ile kızartma işlemleri gerçekleştirildi.

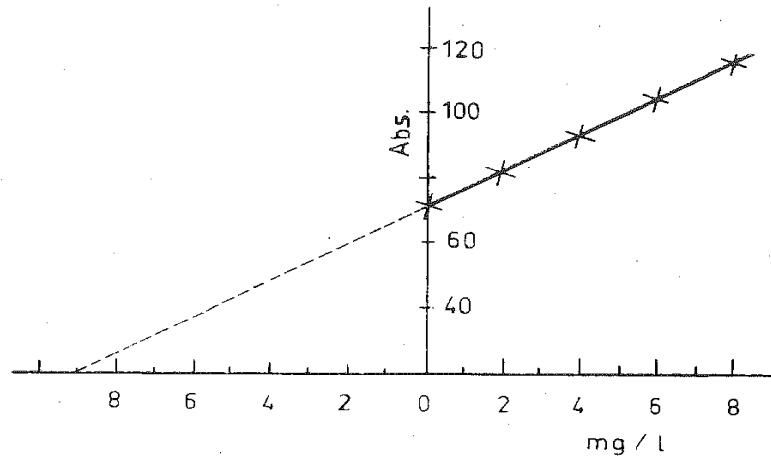
2.2.5. Selenyum Tayini

Homojenizatör içerisine konulan yaklaşık 1.0 g sarımsak ve keven bitki örnekleri (1:5 v/v) oranında perklorik asit (HClO_4) ve nitrik asit (HNO_3) karışımıyla teflon bomba içerisinde parçalanması gerçekleştirildi [156]. Daha sonra ortama 6.0N hidroklorik asitten (HCl) 2.0 mL, 0.1 M etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) çözeltisinden 5.0mL ve 2.5 M formik asit (HCOOH) çözeltisinden 2.0 mL katılması sağlanarak selenyum (Se) dışında diğer tüm metal iyonlarının maskelenmesi sağlandı. Sonra 1000 $\mu\text{g/mL}$ 3,3'-diaminobenzidin (3,3'-DAB) çözeltisinden 5.0 mL katıldı ve sonra 4.0 N amonyak (NH_3) çözeltisi aracılığıyla pH değeri yaklaşık 1.7'ye ayarlanıp karanlık ortamda 75 dk Se-DAB kompleksinin oluşması için beklemeye bırakıldı. Daha sonra ortama 50.0 mL saf su eklenerek yine 4.0 N NH_3 ile pH=4'e ayarlandı. Daha sonra ayırma hunisine alınan çözeltinin üzerine 5.0 mL tolüen ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_3$) eklenerek meydana gelen kompleks tolüen fazına ekstrakte edildi. Tolüen fazına alınan Se-DAB kompleksi Florimetri cihazında 420 nm uyarılarak 570 nm emisyon şiddeti belirlendi [156, 157]. Selenyum (Se) tayininde girişimleri önlemek için standart ekleme yöntemi uygulandı. Standart ekleme yöntemi ile ilgili detaylar aşağıda 2.2.5.1. başlığı altında verilmiştir.

2.2.5.1. Standart Ekleme Yöntemi

Yapılacak analizlerinde matriks etkisi yani girişim var ise standart ekleme yönteminin kullanılması gerekmektedir. Dolayısıyla çeşitli standart ekleme yöntemleri de bulunmaktadır [158]. En çok kullanılan yöntem ise aynı miktarda alınan numunelerin içerisine artan miktarlarda standart eklemesidir. Ölçüm işleminden önce çözeltiler belirli bir hacme kadar seyreltilir. Numunelerin miktar bakımından sınırlı olduğu durumlarda ise belirli bir miktar numune içerisine standart eklemesi yapılabilmektedir. Ölçüm işlemleri esas çözeltilerde ve her bir ilave yapıldıktan sonra numune ile birlikte standardı da içeren çözelti üzerinde ayrı ayrı yapılır. Standart ekleme metotlarının türlü şekillerinde numune matriksi her bir ilave yapıldıktan sonra hemen hemen aynı olmaktadır. Bulunan tek fark analit derişimi ya da analit aşırısının ilave yapıldığı durumlarda reaktif derişimidir.

Reaksiyon karışımlarının diğer bütün bileşenleri de aynı olmaktadır. Bunun sebebi standartların içerisinde aynı miktar numune bulunmasıdır. Teorik olarak anlatılırsa analit derişimi C_x olan numune çözeltisinin içerisinde V_x hacminde birkaç çözelti alınıp ve bu çözeltilerinde V_1 hacimli balon jojelere konulduğu varsayılır. Daha sonra her kabın içerisine derişimi C_s olan standart analit çözeltisinden V_s hacminde eklemeler yapılır. Reaktiflerden uygun olanlar konulduktan sonra çözeltilerde belirli bir hacme kadar seyreltirmeler yapılır. Sonra cihazda bu çözeltilerin ölçümleri yapıp absorbans cevapları alınır. Cihazın vermiş olduğu cevap derişimle orantılıysa eğer bu yöntemde istenilene ulaşılmış demektir [159]. Standart ekleme metoduna ait grafik şekil 2.1’de gösterilmiş olup, şekilde konsantrasyon değerleri x eksenine, absorbansları ise y ekseninde olacak şekilde grafik oluşturulmuştur. Şekilde bu doğrunun konsantrasyon eksenini kestiği noktanın absorbans eksenine olan uzaklığı bize bilinmeyen derişimini vermektedir [160].



Şekil 2. 1. Standart ekleme metoduyla konsantrasyon tayini

2.2.6. Akrilamid Tayini

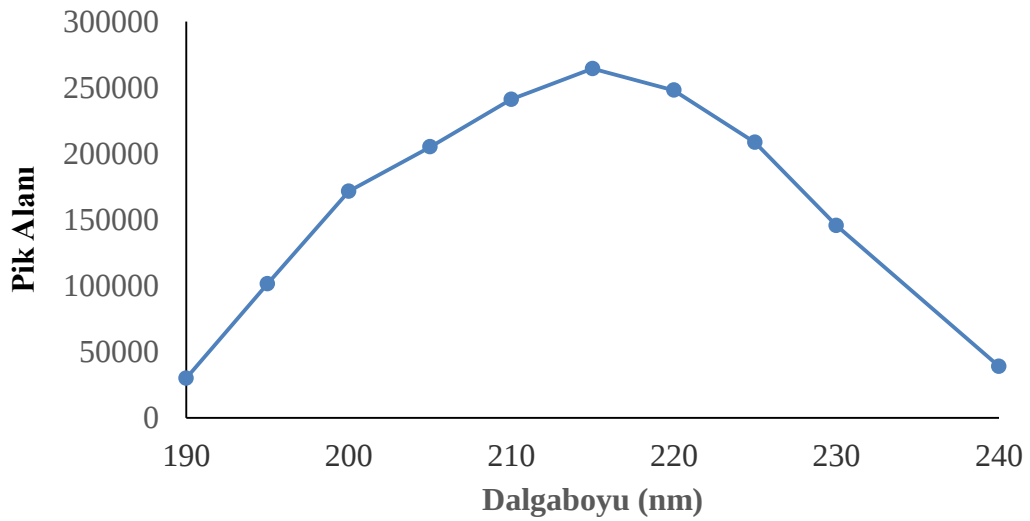
Kızartma işlemi sonrasında analizlenecek olan patates örnekleri mikserde iyice parçalanıp toz haline getirildi. Daha sonra bundan yaklaşık 0.5 gram alınarak toplam hacmi saf su ile 7.0 mL’ye tamamlandı. Daha sonra ultrasonik su banyosunda 15 dk iyice parçalandı ve 4500 rpm’de 15 dk santrifüjlendi. Sonra santrifüjlenen örneğin üstteki süzüntüsünden 20.0 μ L alınarak HPLC’ye enjekte edildi. HPLC’de kolon Inertsil ODS-4 (5 μ m x 4.6mm ID x 150mm) mobil faz su: metanol (98: 2) karışımı ve 215 nm dalga boyunda tayin edildi (Şekil 3.1.) [161, 162].

2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadaki tüm istatistiksel değerlendirmeler SPSS 17.0 bilgisayar programı ile yapıldı. Veriler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Independent-Samples T-testi kullanıldı ve $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

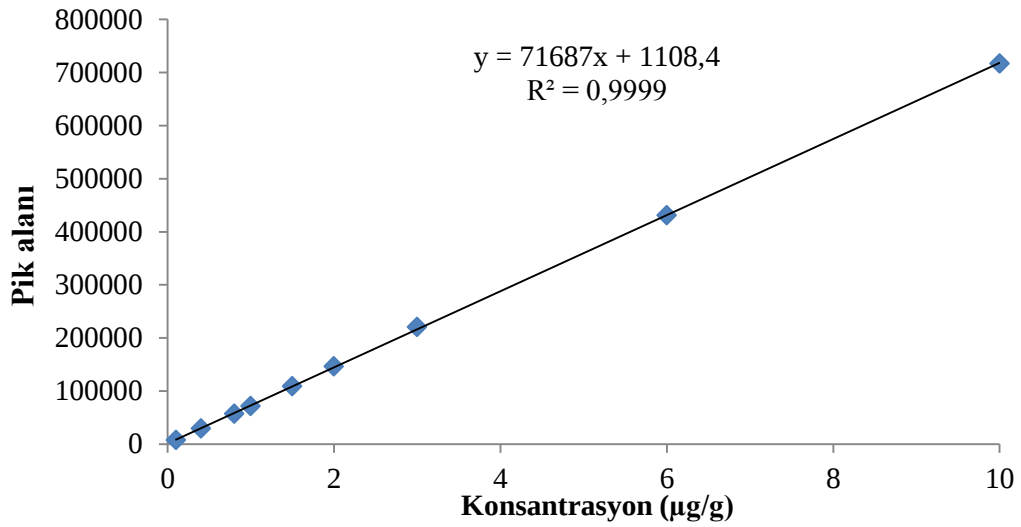
3.BULGULAR

Akrilamid tayininde deneysel şartların optimize edilmesi amacıyla akrilamidin maksimum absorbands yaptığı dalgaboyunu belirlemek için dalga boyu taraması yapıldı Metot kısmı 2.2.6. Akrilamid tayininde belirtildiği üzere; akrilamidin maksimum absorbands yaptığı dalgaboyunu belirlemek için 4.0 $\mu\text{g/mL}$ derişiminde hazırlanan standart akrilamid çözeltisi HPLC'ye enjekte edildi. HPLC'de değişik dalgaboylarına karşılık pik alanları grafiğe alınarak maksimum absorbandsın (pik alanı) olduğu dalgaboyu belirlendi. (Şekil. 3.1).



Şekil 3.1. Akrilamidin maksimum absorbands yaptığı dalgaboyunun belirlenmesi

Maksimum absorbandsın yaptığı 215 nm dalgaboyu belirlendikten sonra değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standart akrilamid çözeltileri HPLC'ye enjekte edilerek Şekil 3. 2'de verilmiş olan akrilamidin çalışma grafiği ve doğru denklemi oluşturuldu. Kısaltma örneklerindeki akrilamid miktarları doğru denklemi yardımıyla hesaplandı.



Şekil 3.2. Akrilamidin çalışma grafiği ve doğru denklemi

Uygulama sonunda elde edilen sonuçlar, farklı yağlarda kızartılmış patates örneklerinin kızartma süresine, numune miktarına ve süreye bağlı olarak oluşan akrilamid miktarları Tablo 3.1-3.3’ de verilmiştir. Kızartma süresine (6, 9, 12 ve 15 dk) bağlı olarak patateslerin renklerindeki değişim fotoğrafları Şekil 3.3-3.6’ da verilmiştir. Yine farklı yağlara sarımsak ve keven bitkilerinin de ortama katılması sonucu kızartılmış patates örneklerinin kızartma süresi ve akrilamid miktarları Tablo 3.4-3.9’ da verilmiştir.

Tablo 3. 1. Ayçiçek yağında değişik sürelerde kızartılmış olan patates örneklerindeki akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Ayçiçek yağı	3	6	4.93 ± 0.20
Ayçiçek yağı	3	9	7.68 ± 0.32
Ayçiçek yağı	3	12	10.78 ± 0.46
Ayçiçek yağı	3	15	13.94± 0.78



Şekil 3.3. Ayçiçek yağında 6 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı



Şekil 3. 4. Ayçiçek yağında 9 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı



Şekil 3. 5. Ayçiçek yağında 12 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı



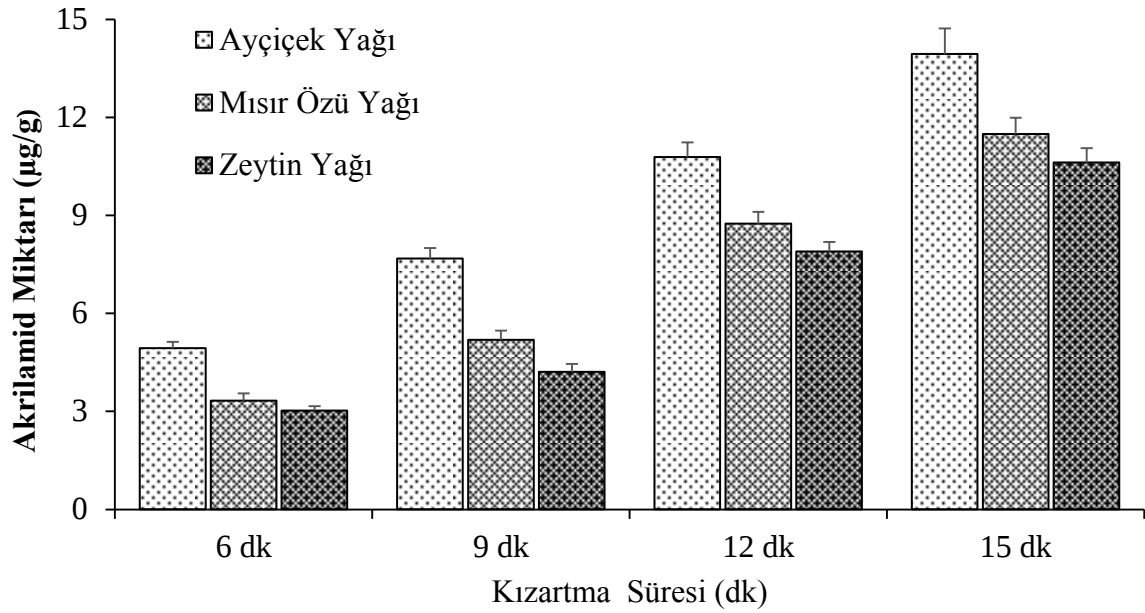
Şekil 3. 6. Ayçiçek yağında 15 dk kızarmış patates örneğinin fotoğrafı

Tablo 3. 2. Mısır yağında değişik kızartma sürelerinde kızartılmış olan patates örneklerindeki akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Mısır özü yağı	3	6	3.33 ± 0.22
Mısır özü yağı	3	9	5.19 ± 0.28
Mısır özü yağı	3	12	8.75 ± 0.36
Mısır özü yağı	3	15	11.49 ± 0.50

Tablo 3. 3. Zeytinyağında değişik kızartma sürelerinde kızartılmış olan patates örneklerindeki akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Zeytinyağı	3	6	3.02± 0.14
Zeytinyağı	3	9	4.21 ± 0.24
Zeytinyağı	3	12	7.89 ± 0.30
Zeytinyağı	3	15	10.62 ± 0.44



Şekil 3. 7. Patatesin farklı marka yağlarda değişik sürelerde kızartılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği

Tablo 3. 4. Sarımsak ve kevendeki selenyum miktarları

Bitki	Örnek sayısı (n)	Selenyum (µg/g kuru ağırlık)
Sarımsak	3	181 ± 17.05
Keven çiçek kısmı	3	396 ± 41.70
Keven dal kısmı	3	604.3 ± 53.85
Keven kök kısmı	3	295.67 ± 24.96

Tablo 3. 5. Ayçiçek yağı ile değişik sürelerde patates kızartmalarında, ortama sarımsak ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları

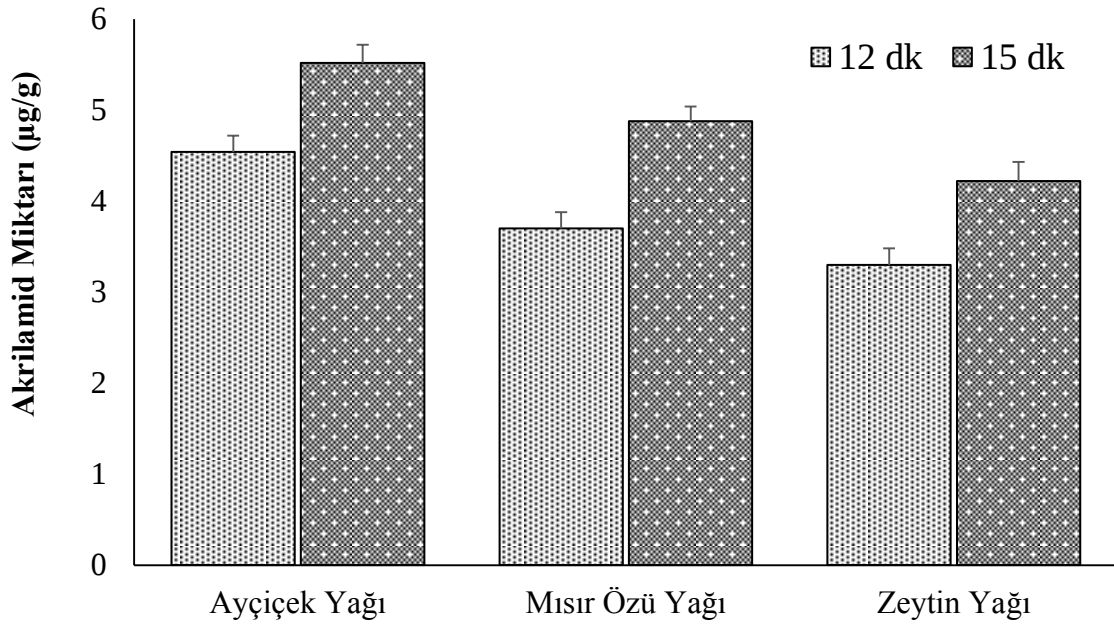
Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Ayçiçek yağı	3	12	4.54 ± 0.18
Ayçiçek yağı	3	15	5.52 ± 0.20

Tablo 3. 6. Mısır özü yağı ile değişik sürelerde patates kızartmalarında, ortama sarımsak ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Mısır özü yağı	3	12	3.70 ± 0.10
Mısır özü yağı	3	15	4.88 ± 0.16

Tablo 3. 7. Zeytinyağı ile değişik sürelerde patates kızartmalarında, ortama sarımsak ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Zeytinyağı	3	12	3.30± 0.08
Zeytinyağı	3	15	4.22 ± 0.21



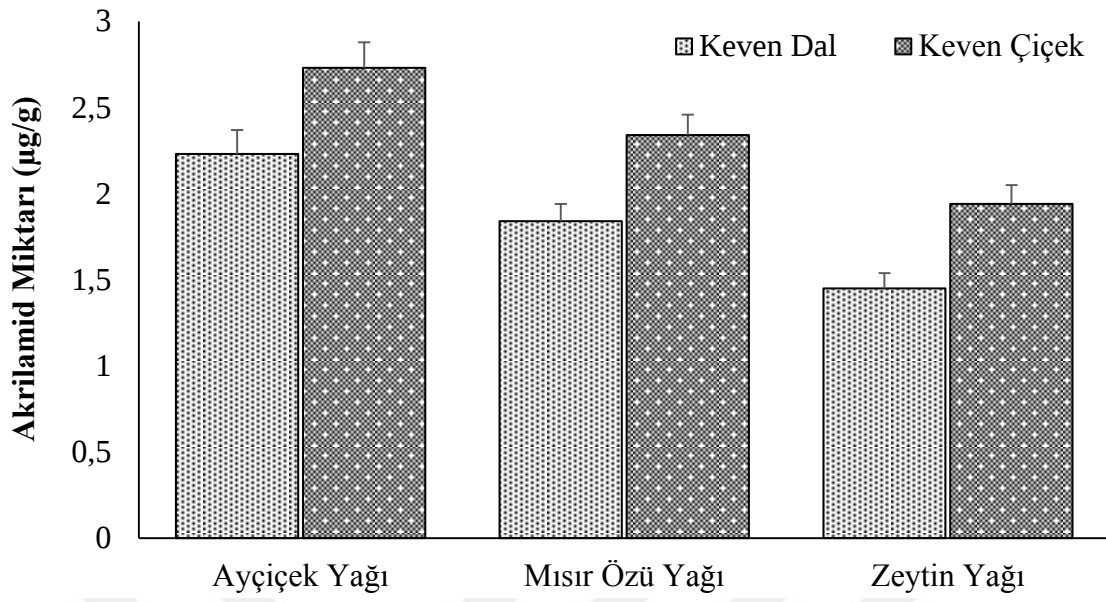
Şekil 3. 8. Patatesin farklı marka yağlarda değişik sürelerde kızartılması sırasında ortama sarımsak katılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği

Tablo 3. 8. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında, kızartma ortamına keven (dal kısmı) ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Ayçiçek yağı	3	12	2.23 ± 0.14
Mısır özü yağı	3	12	1.84 ± 0.10
Zeytinyağı	3	12	1.45 ± 0.09

Tablo 3. 9. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında, kızartma ortamına keven (çiçek kısmı) ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Ayçiçek yağı	3	12	2.73 ± 0.15
Mısır özü yağı	3	12	2.34 ± 0.12
Zeytinyağı	3	12	1.94 ± 0.11



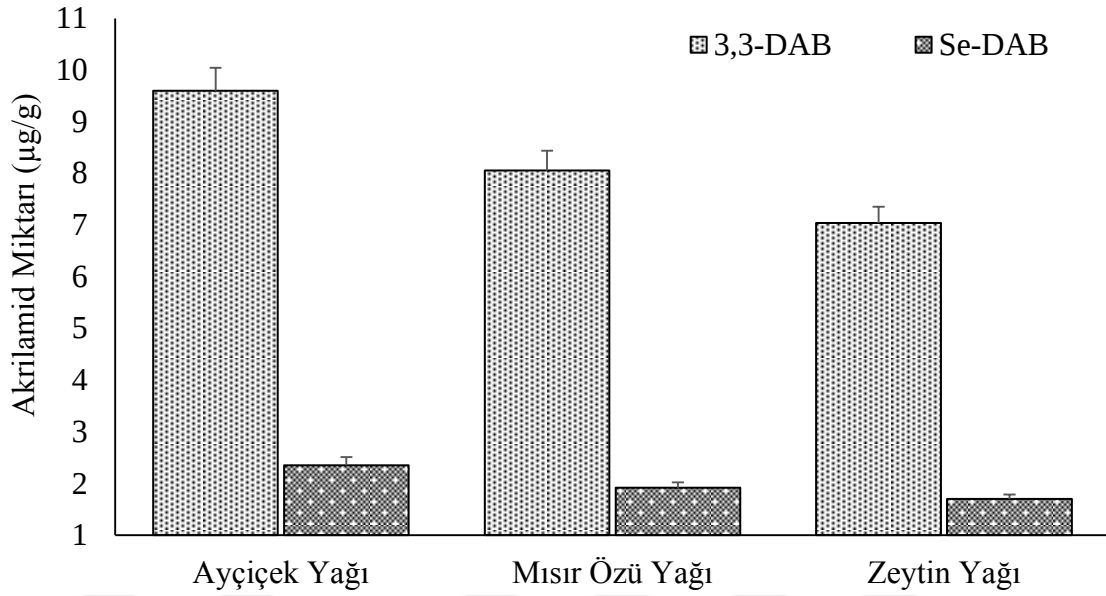
Şekil 3. 9. Patatesin farklı marka yağlarda değişik sürelerde kızartılması sırasında ortama kevenin dal ve çiçeklerinin katılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği

Tablo 3. 10. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında ortama 3,3-DAB ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Ayçiçek yağı	3	12	9.60 ± 0.45
Mısır özü yağı	3	12	8.06 ± 0.38
Zeytinyağı	3	12	7.04± 0.32

Tablo 3. 11. Farklı marka yağlar ile patates kızartmalarında ortama Se—3,3-DAB kompleksinin ilave edilmesi sonucu kızartmalarda oluşan akrilamid miktarları

Yağın adı	Örnek sayısı (n)	Kızartma süresi (dk)	Akrilamid miktarı (µg/g)
Ayçiçek yağı	3	12	2.35 ± 0.16
Mısır özü yağı	3	12	1.92 ± 0.10
Zeytinyağı	3	12	1.70 ± 0.09



Şekil 3. 10. Patatesin farklı marka yağlarda 12 dk kızartılması sırasında ortama 3,3-DAB ve Se-DAB kompleksinin katılması sonucu oluşan akrilamidin sütun grafiği

Metot kısmında; 50 mL’lik kızartma yağlarındaki 3,3-DAB derişimi 60 µg/mL iken, Se-DAB kompleksi konsantrasyonunun ise 20 µg/mL olduğu belirtilmiştir. Değişik kızartma yağlarına katılmış 3,3-DAB çözeltisi ile 12 dakikalık kızarma süresince gerçekleştirilen patates kızartmalarında oluşan akrilamid miktarları Tablo 3. 10 ve Şekil 3. 10’da görülmektedir. Aynı şekilde kızartma yağlarına katılmış Se-DAB kompleksi ile yine aynı kızarma süresinde gerçekleştirilen patates kızartmalarında oluşan akrilamid miktarları Tablo 3. 11 ve Şekil 3. 10’da görülmektedir.

Tablo 3.4’te Sarımsak, kevenin çiçek ve dal kısımlarındaki selenyum miktarları 181 ± 17.05 ; 604.3 ± 53.85 ve 396 ± 41.70 µg/g olarak verilmiştir. Metot kısmında 2.2.4. Kızartma ortamına sarımsak ve kevenin çiçek ve dallarının katılması kısmında belirtildiği üzere 50 mL’lik kızartma yağlarındaki Se derişimleri hesaplandığında aşağıdaki şekilde olur. 50 mL’lik kızartma yağlarına 1.5 g sarımsak, keven çiçeği veya dalları katıldığında herbirindeki Se konsantrasyonu sırasıyla 5.43; 11.88 ve 18.10 µg/mL olur.

4. TARTIŞMA

Sağlık açısından en tehlikelisi gıdalarda bulunan akrilamiddir. Bunun sebebi insanların tükettiği gıdalarda vücuda sürekli akrilamid geçişi olmasıdır. Yüksek sıcaklıklarda yapılan pişirme işlemlerinde meydana gelen Maillard reaksiyonuyla asparajin aminoasidinin amino grubu ile glikozun karbonil grubu da reaksiyona girerek akrilamid meydana gelmektedir [163]. Pelucchi ve ark. İsviçre ve İtalya’da yapılan çalışmalarda, haşlanmış ve kızarmış patateslerin kanser oluşumu ile ilgileri incelenmiştir. Çalışma sonucu kanserli hücrelerin oluşma durumuna göre gırtlak, kalın barsak, ağız boşluğu ve yutak, yemek borusu, meme dokusu ve yumurtalık dokularının etkilendiği rapor edilmektedir [164]. Akrilamidin meydana gelmesini etkileyen faktörlerin sıcaklık, yüksek sıcaklıktaki bekletilme süresi ve ortamın pH’ı olduğu belirtilmiştir [165]. Ayrıca patates cipsi üretiminde akrilamid oluşumunun artışına, kızartma süresi ile [154] kızartma sıcaklığının artırılmasının önemli iki faktör olduğu rapor edilmektedir [166, 167].

Bu literatür bilgilerinden yararlanarak dört farklı kızartma süresi (6, 9, 12 ve 15 dk) seçilmiştir. Patatesin 6, 9, 12 ve 15 dk süre ile ayçiçek yağında kızartılması sonucu oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 4.93 ± 0.20 ; 7.68 ± 0.32 ; 10.78 ± 0.46 ve 13.94 ± 0.78 µg/g olarak belirlenmiştir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.7). Mısırözü yağı ile patatesin yine 6, 9, 12 ve 15 dk süreyle kızartılması sonucu oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 3.33 ± 0.22 ; 5.19 ± 0.28 ; 8.75 ± 0.36 ve 11.49 ± 0.50 µg/g olarak belirlenmiştir (Tablo 3.2 ve Şekil 3.7). Zeytinyağı ile patatesin yine 6, 9, 12 ve 15 dk süreyle kızartılması sonucu oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 3.02 ± 0.14 ; 4.21 ± 0.24 ; 7.89 ± 0.30 ve 10.62 ± 0.44 µg/g olarak belirlenmiştir (Tablo 3.3 ve Şekil 3.7). Bu sonuçlardan akrilamid oluşumunun en az olduğu yağın zeytinyağı olduğu ve en uygun kızartma süresinin ise 6 dk olduğu ve kızartma süresine bağlı olarak akrilamid oluşumunun arttığı görülmektedir ($p < 0.005$).

Troxell ve ark. [165] yaptıkları araştırmada sıcaklığı sabit tutup değişik sürelerde kızartma işlemleri gerçekleştirmişlerdir. Sıcaklığı 180 °C sabit tutarak 3,5.dk, 4.dk ve 5.dk’da ki kızartma süreleri esas alınarak yapılan kızartma işlemlerinde patateslerde oluşan akrilamid miktarlarının 12, 46, 227 ve 973 µg/kg düzeylerinde olduğu rapor edilmiştir. Bulgularımızın literatür değerleri arasında olduğu görülmektedir.

Patates cipsi oluşumu sırasında flavonoid bakımından zengin baharat karışımı katıldığında %50 oranında akrilamid miktarında azalma olduğu belirtilmektedir [168].

Bir araştırmada ise kızartma ortamına flavon (apigenin Trisin ve luteolin) ve izoflavonların (daidzin, genistein, daidzein ve genistein) eklenmesi sonucu akrilamid oluşumunun %19.6-52.1 arasında inhibe edildiği belirtilmektedir[169].

Daha sonra kızartma sırasında akrilamid oluşumuna selenyumun etkisini belirlemek için selenyumca zengin olan keven ve sarımsaktaki Se miktarları belirlendi (Tablo 3.4). Bulgularımıza göre sarımsak ve keven bitkisinin iek kısmı, dal kısmı ile kök kısımlarındaki Se miktarları sırasıyla 181 ± 17.05 ; 396 ± 41.7 ; 604.3 ± 53.85 ve 295.67 ± 24.96 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlendi. Bu verilerden kevenin dal kısmının Se açısından oldukça zengin olduğu görülmektedir (Tablo 3.4). Bulunan bu sonuçlardan kızartmalarda sarımsak ile keven bitkisinin iek ve dal kısımlarının kullanılmasına karar verilmiştir.

Ayrıca patatesin kızartılmasında 12 ve 15 dk kızartma sürelerinde oluşan akrilamid miktarlarının fazla olduğu gözlenmiştir (şekil 3.7 ve Tablo 3.1-3.3). Bu nedenle akrilamid oluşumuna selenyumun etkisini belirlemek amacıyla patatesin kızartılmasında 12 ve 15 dk kızartma süreleri tercih edilmiştir. Tercih edilen bu iki kızartma süresinde değişik yağlarda patates kızartılırken ortama sarımsak, keven bitkisinin iek ve dal kısımları katılarak oluşan akrilamid miktarları belirlendi (Tablo 3.5- 3.9).

Kızartma ortamına sarımsak katılarak 12 ve 15 dakikalık kızartma sürelerinde değişik yağlar ile kızartmalar gerçekleştirildi. Ayçiçek, mısırözü ve zeytinyağındaki kızartmalarda oluşan akrilamid miktarlarının ise sırasıyla $4.54 \pm 0.18 - 5.52 \pm 0.20$ $\mu\text{g/g}$; $3.70 \pm 0.10 - 4.88 \pm 0.16$ $\mu\text{g/g}$ ve $3.30 \pm 0.08 - 4.22 \pm 0.21$ $\mu\text{g/g}$ arasında olduğu belirlendi. Bu verilerden zeytinyağında daha az akrilamid oluştuğu görülmektedir (şekil 3.8 ve Tablo 3.5- 3.7). Ayçiçek, mısırözü ve zeytinyağı ile 12 dakikalık patates kızartmalarında ortama sarımsak katıldığında oluşan akrilamid miktarlarındaki azalmalar % 57.51, % 57.71 ve % 58.18 şeklindeyir. Aynı yağlar ile 15 dakikalık patates kızartmalarında kızartma ortamına sarımsak katılması sonucu oluşan akrilamid miktarlarındaki azalmalar % 60.40, % 57.53 ve % 60.26 oranlarındadır.

Kızartma ortamına keven bitkisinin dal kısmı katılarak gerçekleştirilen 12 dakikalık kızartma süresi sonunda ayçiçek, mısırözü ve zeytinyağlarında oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 2.23 ± 0.14 ; 1.84 ± 0.10 ve 1.45 ± 0.09 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlendi. Yine aynı yağlar ile kızartmalarda, kızartma ortamına keven bitkisinin çiçeği katılarak gerçekleştirilen 12 dakikalık süre ile patates kızartmalarında oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 2.73 ± 0.15 ; 2.34 ± 0.12 ve 1.94 ± 0.11 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlendi (şekil 3.9 ve Tablo 3.8-3.9).

Ayçiçek, mısırözü ve zeytinyağı ile 12 dakikalık patates kızartmalarında ortama keven bitkisinin dal kısmının katılmasıyla oluşan akrilamid miktarlarındaki azalmalar % 79.31, % 78.97 ve % 81.62 oranlarındadır. Aynı yağlar ile 12 dakikalık patates kızartmalarında ortama keven çiçeklerinin katılmasıyla oluşan akrilamid miktarlarındaki azalmalar % 74.68, % 73.26 ve % 75.41 oranlarındadır (Tablo 3.8 - 3.9 ve Şekil 3.9). Bulgularımızdan örneğin; ayçiçek yağı ile 12 dakikalık patates kızartma sırasında ortamda oluşan akrilamid miktarı $10.78 \pm 0.46 \mu\text{g/g}$ iken, kızartma yağına keven bitkisinin dal kısmı katılarak gerçekleştirilen patates kızartmasında oluşan akrilamid $2.23 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$ olduğu belirlendi ($p < 0.005$). Kızartma yağlarına katılan sarımsak, kevenin çiçek ve dallarının katılmış olduğu patates kızartmalarında oluşan akrilamid miktarlarının Se miktarıyla orantılı olduğu Tablo 3.4 – Tablo 3.9 ile Şekil 3.8 ve Şekil 3.9’da görülmektedir.

Ayçiçek, mısırözü ve zeytinyağı ile 12 dakikalık patates kızartmalarında kızartma yağlarına 3,3’-DAB’ın katılmasıyla oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 9.60 ± 0.45 ; 8.06 ± 0.38 ve $7.04 \pm 0.32 \mu\text{g/g}$ şeklindedir (Tablo 3.10 ve Şekil 3. 10). Aynı yağlar ile 12 dakikalık patates kızartmalarında ortama 3,3’-DAB’ın katılmasıyla oluşan akrilamid miktarlarındaki azalmalar % 10.95, % 7.89 ve % 10.77 oranlarındadır.

Ayçiçek, mısırözü ve zeytinyağı ile 12 dakikalık patates kızartmalarında kızartma yağlarına Se-DAB’ın katılmasıyla oluşan akrilamid miktarları sırasıyla 2.35 ± 0.16 ; 1.92 ± 0.10 ve $1.70 \pm 0.09 \mu\text{g/g}$ şeklindedir (Tablo 3.11 ve Şekil 3. 10). Aynı yağların 12 dakikalık patates kızartmalarında ortama Se-DAB’ın katılmasıyla oluşan akrilamid miktarlarındaki azalmalar % 78.20, % 78.06 ve % 78.45 oranlarındadır. Bulgulardan da görüleceği üzere kızartma yağına Se-DAB kompleksi katılarak gerçekleştirilen patates kızartmalarında oluşan akrilamid oranının % 78 oranında azaldığı görülmektedir. Bu sonuçlardan 3,3’-DAB’nin akrilamid oluşumunu pek fazla etkilemediği ($p > 0.05$) gözlenmiştir. Oysa Se-DAB kompleksinin akrilamid oluşumunda azalma olduğu görülmektedir ($p < 0.005$). Kızartma yağlarına kevenin dallarının ve Se-DAB kompleksinin katıldığı patates kızartmalarında oluşan akrilamid miktarları birbirine yakındır (Tablo 3.8 ve Tablo 3.11 ile Şekil 3.9 ve Şekil 3.10).

Örneğin keven dallarının katıldığı ayçiçek kızartma yağındaki Se konsantrasyonu $18.10 \mu\text{g/mL}$ iken, Se-DAB kompleksinin katıldığı ayçiçek yağındaki Se konsantrasyonu $20 \mu\text{g/mL}$ ’dir. Keven dallarının katılmış olduğu Ayçiçek yağı ile 12 dk’lık kızartma süresince kızartılan patateslerdeki akrilamid miktarı $2.23 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$ iken Se-DAB

kompleksi katılmış yağda kızartılmış patateslerdeki akrilamid miktarı ise $2.35 \pm 0.16 \mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur. Bu bulgular diğer kızartma yağları içinde geçerlidir (Tablo 3.8 ve Tablo 3.11 ile Şekil 3.9 ve Şekil 3.10). Aynı şekilde 12 dk kızartma yağına keven dalı ve Se-DAB kompleksi katılarak gerçekleştirilen patates kızartmalarında akrilamidi önleme dereceleri sırasıyla % 79.31 ve %78.20 olarak belirlendi.

Kızartma sırasında akrilamid üretimine rengin etkili olduğu belirtilmektedir [170]. Aynı gıda örneğinin açık kahve renkten koyu kahverenge dönüşmesiyle akrilamid miktarının % 41.2 oranında arttığı tespit edilmiştir [171].

İsviçre’de yapılan çalışmalar bu gözlemlerimizi kanıtlar nitelik taşımaktadır. İsviçre’de yapılan çalışmalara göre insanların haftada iki porsiyon kızartılmış patates tüketimi ile vücutlarına önemli ölçüde akrilamid girişi söz konusu olabilmektedir. Yine derin yağ içerisinde kızartılmış olan patateslerde meydana gelen akrilamid düzeyi kızartılmış patatesin rengi ile doğru orantılı olduğu belirtilmekte ve devamında ise bu değerin 20-1000 mg/kg arasında değişebileceği rapor edilmektedir [172].

Kızartma sürelerine (6, 9, 12 ve 15 dk) bağlı olarak patateslerin renklerinin açık kahverenginden koyu kahverengine dönüştüğü Şekil 3.3- 3.6’da görülmektedir. Ayrıca bütün yağlar ile kızartmalarda kızartma sürelerine bağlı olarak akrilamid miktarlarında artışları olduğu da Tablo 3.1- 3.3 ile Şekil 3.7’de görülmektedir. Bulgularımızın literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

Ayrıca Ölmez ve ark. [13]’nin değişik gıdalardaki akrilamid miktarlarının araştırılması ile ilgili yapmış oldukları araştırma sonuçlarına göre kızartma işlemine maruz kalmış patates örneklerinde meydana gelen akrilamid miktarları 330-3700 ppb arasında tespit edilmiştir. Patates kızartmalarında oluşan akrilamid miktarları Ölmez arkadaşlarının değerleri ile uyumlu gibidir.

Patatesin yetiştiği toprağın özelliği, patatesin çeşidi, patatesin depolanması, iklimatik koşullar, kızartılacak patatesin kesimi ve şekli, kesilmiş patatesin kurulanması ve kızartma işlemlerinin tümü akrilamid oluşumunda etkili faktörlerdendir [173].

Literatürlerden de görüleceği üzere patates ve patatese kızartma için uygulanacak tüm işlemlerin akrilamid oluşumuna etkisi olduğu rapor edilmiştir.

Yaptığımız çalışmaların sonucu olarak;

Patates kızartılmasında, kızartma yağının cinsine göre akrilamid miktarında kısmen farklılık olmasına rağmen, kızartma süresine bağlı olarak patateslerin renklerinde ve akrilamid miktarlarında artış olduğu gözlenmiştir.

Yine kızartma ortamına Se açısından zengin sarımsak ile kevenin çiçek ve dal kısmının kızartma ortamına katılmasıyla akrilamid miktarında belirgin bir azalma olduğu gözlenmiştir. Kızartmalarda akrilamid miktarındaki azalmalarda Se'un net katkısının olduğu kızartma ortamına Se-DAB kompleksi ilavesi ile de anlaşılmıştır. Kızartma ortamına sarımsak ve keven katılmasıyla akrilamid oluşumundaki azalmada, antioksidan ve flavonoidlerin katkısıda göz ardı edilmemelidir.



5. KAYNAKLAR

- [1] **Heath, Jr. CW., Falk, H., Creech, Jr. JL.,** 1975. Characteristics of cases of angiosarcoma of the liver among vinyl chloride workers in the United States. *Ann NY Acad Sci.*, **246**, 231-236.
- [2] **Johnson, KA., Gorzinski, SJ., Bodner, KM., Campbell, R., Wolf, C., Friedman, M.A., and Mast, R.W.,** 1986. Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, **85**, 154–168.
- [3] **Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Törnqvist, M.,** 2000. Acrylamide: a cooking carcinogen. *Chemical Res Toxicol*, **13**, 517–522.
- [4] **Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Törnqvist, M.,** 2002. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agri Food Chem.*, **50**, 4998–5006.
- [5] **Pedreschi F., Kaack K., Granby K., Troncoso E.,** 2007. Acrylamide reduction under different pretreatments in French fries. *J Food Eng.*, **79**, 1287-1294.
- [6] **Claeys, W.L., De Vleeschouwer, K., and Hendrickx, M.E.,** 2005a. Quantifying the formation of carcinogens during food processing acrylamide. *Trends In Food Sci.& Technol.*, **16**, 181-193.
- [7] **Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M., Aman, P.,** 2002. Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scan. Nutr.*, **46**, 159-172.
- [8] **Yuan, Y., Zhao, G.H., Hu, X.S., Wu, J.H., Liu, J., Chen, F.,** 2008. High correlation of methylglyoxal with acrylamide formation in glucose/asparagine Maillard reaction model. *Eur. Food Res. Technol.*, **226**, 1301-1307.
- [9] **Taeymans, D., Wood, J., Ashby, P., Blank, I., Studer, A., Stadler, R.H., Gonde, P., Van Eijck, P., Lalljie, S., Lingnert, H., Lindblom, M., Matissek, R., Muller, D., Tallmadge, D., O'Brien, J., Thompson, S., Silvani, D., Whitmore, T.,** 2004. A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **44**, 323-347.

- [10] **Yuan, Y., Chen, F., Zhao, G.H., Liu, J., Zhang, H.X., Hu, X.S.,** 2007. A comparative study of acrylamide formation induced by microwave and conventional heating methods. *J. Food Sci.*, **72(4)**, 212-216.
- [11] **Mestdagh, F., Meulenaer, B., Peteghem, C.,** 2007. Influence of oil degradation on the amounts of acrylamide generated in a model system and in French fries. *Food Chem.*, **100**, 1153-1159.
- [12] **Kocadagli, T., Goncuoglu, N., Hamzalioglu, A., Gokmen, V.,** 2012. In depth study of acrylamide formation in coffee during roasting: role of sucrose decomposition and lipid oxidation. *Food & Function*, **3(9)**, 970-975.
- [13] <http://www.gidacilar.net/ders-ve-arastirma-projeleri/gidalarda-akrilamid-tubitak-raporu-1717.html> Erişim tarihi 27.10.2016
- [14] **Granda, C., Moreira, R.G.,** 2005. Kinetics of acrylamide formation during traditional and vacuum frying of potato chips. *J. Food Process Eng.*, **28**, 478-493.
- [15] **Svensson, K., Abramsson, L., Becker, W., Glynn, A., Hellenas, K.E., Lind, Y., Rosen, J.,** 2003. Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 1581-1586.
- [16] **Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M., Shibamoto, T.,** 2003. Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3999-4003.
- [17] **Biedermann, M., Noti, A., Biedermann-Brem, S., Mozzetti, V., Grob, K.,** 2002. Experiments on acrylamide formation and possibilities to decrease the potential of acrylamide formation in potatoes. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, **93(6)**, 668-687.
- [18] **Weiland, S.K., von Mutius, E., Hüsing, A., Asher, M.I.,** 1999. On behalf of the ISAAC Steering Committee. Intake of trans fatty acids and prevalence of childhood asthma and allergies in Europe. *Lancet*, **353**, 2040-2041.
- [19] **Doğan, I.S., Meral, R.,** 2006. Gıdalarda Akrilamid ve Önemi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 24-26 Mayıs, s. **630**.
- [20] **Gertz, C.,** 2000. Chemical and physical parameters as quality indicators of used frying fats. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **102**, 566-572.
- [21] **Yıldız, O., Şahin, H., Kara M., Aliyazıcıoğlu, M., Tarhan, Ö., Kolaylı, S.,** 2010. Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. *Akademik Gıda*, **8(6)**, 44-51.

- [22] **Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., Dodson, A.T.** 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, **419**, 448-449.
- [23] **Yuan, Y., Zhao, G., Chen, F., Liu, J., Wu, J., Hu, X.**, 2008. Correlation of methylglyoxal with acrylamide formation in fructose/asparagine Maillard reaction model system. *Food Chem.*, **108**, 885-890.
- [24] **Zhang, Y., Zhang, G., Zhang, Y.**, 2005. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods - Review and recent developments. *J. Chromatogr. A*, **1075**(1-2), 1-21.
- [25] **Mestdagh F., Meulenaer B., Peteghem C.**, 2007. Influence of oil degradation on the amounts of acrylamide generated in a model system and in French fries. *Food Chem.*, **100**, 1153-1159.
- [26] **Calleman, C.**, 1996. The metabolism and pharmacokinetics of acrylamide: Implications for mechanisms of toxicity and human risk estimation. *Drug Metab Rev*, **28**, 527-590.
- [27] **Dearfield, K., Douglas, G., Ehling, U., Moore, M., Sega, G., and Brusick, D.**, 1995. Acrylamide: A review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutat Res*; **330**, 71-99.
- [28] **Proenza, A.M., Oliver, J., Palou, A., Roca, P.**, 2003. Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content. *J. Nutr. Bioc.*, **14**, 133-138.
- [29] **Urazova, L.N., Kuznetsova, T.I., Boev, R.S., Burkova, V.N.**, 2011. Efficacy of natural L-asparagine in the complex therapy for malignant tumors in experimental studies. *Exp. Oncol.*, **33**(2), 90-93.
- [30] **Wang, L.B., Shen, J.G., Zhang, S.Z., Ding, K.F., Zheng, S.**, 2004. Amino acid uptake in arteriovenous serum of normal and cancerous colon tissues. *World J. Gastroenterol*, **10**(9), 1297-1300.
- [31] **Dybing, E., Sannner, T.**, 2003. Risk assesment of acrylamide in foods. *Toxicol. Sci.*, **75**, 7-15 Oxford University Press.
- [32] **Nixon, B.J., Stanger, S.J., Nixon, B., Roman, S.D.**, 2012. Chronic exposure to acrylamide induces dna damage in male germ cells of mice. *Toxicol. Sci.*, **129**(1), 135-145.
- [33] **Segerback, D., Calleman, C. J., Schroeder, J. L., Costa, L. G., Faustman E.M.**, 1995. Formation of N-7-(2-carbamoyl-2- hydroxyethyl)guanine in DNA of the

- mouse and the rat following intraperitoneal administration of [14C]acrylamide. *Carcinogenesis*, **16**, 1161-1165.
- [34] **Thielen, S., Baum, M., Hoffmann, M., Loeppky, R. N., Eisenbrand, G.**, 2006. Genotoxicity of glycidamide in comparison to (+/-)-anti-benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide and alpha-acetoxy-N-nitroso-diethanolamine in human blood and in mammalian V79-cells. *Mol. Nutr. Food Res.*, **50**, 430-436.
- [35] **Smith, C. J., Perfetti, T. A., Mullens, M. A., Rodgman, A., Doolittle, D.J.**, 2000. "IARC group 2A Carcinogens" reported in cigarette mainstream smoke. *Food Chem. Toxicol.*, **38**, 371-383.
- [36] **Murkovic, M., Steinberger, D., Pfannhauser, W.**, 1998. Antioxidant speices reduce the formation of heterocyclic amines in fried meat. *Z. Lebensm UntersForsch*, **207**, 47-480.
- [37] International Agency for Research on Cancer.1994. Some Industrial Chemicals, IARC Monographs on the Evaluation for Carcinogenic Risk for Chemicals to Humans, 60, IARC, Lyon, s. **435**.
- [38] Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. 2002. Health Implications of Acrylamide in Food, Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Health Organization, Geneva. Available at <http://www.who.int/fsf/acrylamide/SummaryReportFinal.pdt>
- [39] U.S. Food and Drug Administration. Mayıs 2007. *The Action Plans for Acrylamide in Food*. 2002-18.
- [40] <http://www.newsmedical.net/news/2005/06/19/11112.aspx>Erişim 13.12.2016
- [41] **Türköz, Y.**, 2009. Ratlarda akrilamid kaynaklı oksidatif stres ve genotoksisite üzerine N-asetilsisteinin etkilerinin araştırılması. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.
- [42] **Hartikainen, H.**, 2005. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *J.Trace Elem. Med. Biol.*, **18**, 309-318.
- [43] **Tran, D., Moody, A.J., Fisher, A.S., Foulkes, M.E., and Jha, A.N.**, 2007. Protective Effects of Selenium on Mercury-Induced DNA Damage in Mussel Haemocytes. *Aquatic Toxicol.*, **84**, 11-18.
- [44] **Feng, R., Wei, C., Tu, S., Wu, F.**, 2009. Effects of Se on the uptake of essential elements in *Pteris vittata* L. *Plant Soil*, **325**, 123-132.

- [45] **Akesson, B., Martensson, B.**, 1989. Interaction of heparin with a selenoprotein in human plasma. *Se. Biol. Med.* 33-37, Springer-Verlag (book), New York.
- [46] **James, L.F., Panter, K.E.**, 1993. Selenium accumulators. Howard Current Vet. Therapy. *Food Anim. Pract. Saunders Co.* Philadelphia, 366-367.
- [47] **Ellis, D.R., Sors, T.G., Brunk, D.G., Albrecht, C., Orser, C., Lahner, B., Wood, K.V., Harris, H.H., Pickering, I.J., Salt, D.E.**, 2004. Production of semethylselenocysteine in transgenic plants expressing selenocysteine methyltransferase. *BMC Plant Biology*, **4**, 1-11.
- [48] **Friedman, M.**, 2003. Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Review, *J. Agric. Food Chem.*, **51(16)**, 4504-4526.
- [49] **Blasiak J., Gloc, E., Wozniak, K., Czechowska, A.**, 2004. Genetotoxicity of acrylamide in human lymphocytes. *Chemico-Biological Interac*, **149**, 137-149.
- [50] **Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M., Aman, P.**, 2002. Acrylamide in food: mechanism of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition*, **46(4)**, 159-172.
- [51] **Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., Robert, M.C., Riedikr, S.**, 2002. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, **419**, 449-450.
- [52] **Surdyk, N., Rosén, J., Andersson, R., Aman, P.**, 2004. Effects of asparagine, fructose, and baking conditions on acrylamide content in yeast-leavened wheat bread. *J Agric Food Chem*, **52(7)**, 2047-51.
- [53] **Margaretha, Jagerstad., Kertsin, Skog, B.**, 2005. Genotoxicity of heatprocessed foods. *Mutat Res.*, **574**, 156-172.
- [54] **Hagmar, L., Wirfalt, E., Paulsoon, B., Törnqvist, M.**, 2005. Differences in haemoglobin adduct levels of acrylamide in the general population with respect to dietary intake, smoking habits and gender, *Mutat Res.*, **580**, 157-165.
- [55] **Biederman, M., Grob, K.**, 2003. Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch: ways to reduce acrylamide contents in bakery ware. *Mitteilungen fu r Lebensmittel Hygiene*, **94**, 406-422.
- [56] **Becalski, A., Lau, BP., Lewis, D., Seaman, SW.**, 2003. Acrylamide in French fries: influence of free amino acids and sugars. *J Agric Food Chem*, **51(3)**, 802-8.

- [57] **Carabasa-Giribet, M. and Ibarz-Ribas, A.**, 2000. Kinetics of colour development in aqueous glucose systems at high temperatures. *Journal of Food Engineering*, **44**, 181-189.
- [58] **Tsai, P.J. Delva, L., Yu, T.Y., Huang, Y.T. and Dufosse, L.**, 2005. Effect of sucrose on the anthocyanin and antioxidant capacity of mulberry extract during high temperature heating. *Food Research International*, **38**, 1059-1065.
- [59] **Yilmaz, Y. and Toledo, R.**, 2005. Antioxidant activity of water soluble maillard reaction products. *Food Chem.*, **93**, 273-278.
- [60] **Eskin, N.A.M.**, 1990. Biochemistry of food processing: browning reactions in foods. In 'Biochemistry of Foods', second edition, *Academic Press*, p. 240-295, London.
- [61] **Toribio, J. L., Nunes, R. V. and Lozano, J. E.**, 1984. Influence of water activity on the nonenzymatic browning of apple juice concentrate during storage. *Journal of Food Sci.*, **49**, 1630-1631.
- [62] **Fellows, P.J.**, 2000. Food Processing Technology. Principles and Practice. 2. Edition. *CRC Press*, **565**, New York.
- [63] **Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M.**, 2003. Shibamoto Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *T J Agric Food Chem.*, **51(14)**, 3999-4003.
- [64] **Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L., Törnqvist, M.**, 2003. Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7012-7018.
- [65] **Buera, M. D., Chirife, J., Resnik, S. L. and Graciela, W.**, 1987. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to Maillard's reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning. *J. Food Sci.*, **52(4)**, 1063-1067.
- [66] **Daniel, J. R. and Whistler, R. L.**, 1985. Carbohydrates. In 'Food Chemistry', O. R. Fennema (Ed.), second edition, *Marcel Dekker*, p. 70-137, New York.
- [67] **Ashoor, S.H. and Zent, J.B.**, 1984. Maillard browning of common amino acids and sugars. *J. Food Sci.*, **49**, 1206-1207.
- [68] **Petriella, C., Resnik, S.L., Lozano, R.D. and Chirife, J.**, 1985. Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity: Color changes due to nonenzymatic browning. *J. Food Sci.*, **50**, 622-626.

- [69] **Richardson, P.**, 2001. Thermal technologies in food processing. *Woodhead publishing*, 294, England.
- [70] **Tong, G.C., Cornwell, W.K., Means, G.E.**, 2004. Reactions of acrylamide with glutathione and serum albumin. *Toxicol Letters.*, **147**, 127-131.
- [71] **Paulsson, B., Grawe, J., Tornqvist, M.**, 2002. Hemoglobin adducts and micronucleus frequencies in mouse and rat after acrylamide or /V-methylolacrylamide treatment. *Mutat Res.*, **516**, 101-111.
- [72] **Sumner, S.C., MacNeela, J.P., and Fennell, T.R.**, 1992. Characterization and quantitation of urinary metabolites of [1,2,3-¹³C]-acrylamide in rats and mice using ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem. Res. Toxicol.*, **5**, 81-89.
- [73] **Calleman, C.J., Bergmark, E., Costa, L.G.**, 1990. Acrylamide is metabolized to glycidamide in the rat: evidence from hemoglobin adduct formation. *Chem. Res. Toxicol.*, **3**, 406-412.
- [74] **Ikeda, G.J., Miller, E., Sapienza, P., Michel, T. & Inskeep, P.**, 1987. Comparative tissue distribution and excretion of [1-¹⁴C] acrylamide in beagle dogs and miniature pigs. *Food chem. Toxicol.*, **25(11)**, 871-875.
- [75] **Kirman, C., Gargas, M., Deskin, R., Tonner-Navarro, L. and Andersen, M.**, 2003. A physiologically based pharmacokinetic model for acrylamide and its metabolite, glycidamide, in the rat. *J. Toxicol. Environ Health*, **66(3)**, 253-274.
- [76] **Yang, H.J., Lee, S.H., Jin, Y., Choi, J.H., Han, D.U., Chae, C., Lee, M.H., and Han, H.C.**, 2005. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. *Reproductive Toxicol.*, **19**, 527- 534
- [77] **Johnson, K., Gorzinski, S., Bodner, K., Campbell, R., Wolf, C., Friedman, M., and Mast, R.**, 1986. Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rat, *Toxicol. and Applied Pharmacol.*, **85**, 154-168.
- [78] WHO, 2005. Summary report of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO expert committee on food additive (JECFA). Rome, Italy: The ILSI Press International Life Sciences Institute. Washington, DC, 1-47.
- [79] **Capuano, E., Fogliano, V.**, 2011. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies, *Food Sci. and Technol.*, **44(4)**, 793-810.

- [80] **Friedman, M.A., Dulak, L.H., Stedham, M.,** 1995. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl. Toxicol.*, **27**, 95-105.
- [81] **Fullerton, P., and Barnes, J.,** 1966. Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. *Br J Ind. Med.*, **23**, 210-221.
- [82] **Tilson, H., Cabe, P., and Spencer, P.,** 1979. Acrylamide neurotoxicity in rats: A correlated neurobehavioral and pathological study. *Neurotoxicol.*, **1(1)**, 89-104.
- [83] **Yoshimura, S., Imai, K., Saitoh, Y., Yamaguchi, H., and Ohtaki, S.,** 1992. The same chemicals induce different neurotoxicity when administered in high doses for short term or low doses for long term to rats and dogs. *Mol Chem Neuropathol.*, **16**, 59-84.
- [84] **Goldstein, BD.,**1985. Acrylamide neurotoxicity: altered spinal monosynaptic response to quipazine, a serotonin agonist in cats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **78**, 436-44.
- [85] **Tanii, H., and Hashimoto, K.,** 1983. Neurotoxicity of acrylamide and related compounds in rats: Effects on rotarod performance, morphology of nerves and neurotubulin. *Arch. Toxicol.*, **54(3)**, 203- 213.
- [86] **Crofton, KM., Padilla, S., Tilson, HA., Anthony, DC., Raymer, JH., MacPhail, RC.,** 1996. The impact of dose rate on the neurotoxicity of acrylamide: the interaction of administered dose, target tissue concentrations, tissue damage, and functional effects. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **139**, 163-76.
- [87] **LoPachin, RM., Ross, JF., Reid, ML., Dasgupta, S., Mansukhani, S., Lehning, EJ.,** 2002b. Neurological evaluation of toxic axonopathies in rats: acrylamide and 2,5-hexanedione. *NeuroToxicol.*, **23**, 95-110.
- [88] **Tilson, HA., Cabe, PA.,** 1979. The effects of acrylamide given acutely or in repeated doses on fore- and hindlimb function of rats. *Toxicol. Appl Pharmacol.*, **47**, 253-60.
- [89] International Agency for Research on Cancer (IARC). 1994. Acrylamide, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Industrial Chemicals. International Agency for Research on Cancer, Lyon, **60**, 389-433.
- [90] **Gamboa da Costa, G., Churchwell, MI., Hamilton, LP., Beland, FA., Marques, MM., Doerge, DR.,** 2003. DNA adduct formation from acrylamide via

- conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. *Chem. Res. Toxicol.*, **16**, 1328-1337.
- [91] **Sumner, S., Fennell, T., Moore, T., Chanas, B., Gonzalez, F., and Ghanayem, B.**, 1999b. Role of cytochrome P450 2E1 in the metabolism of acrylamide and acrylonitrile in mice. *Chem. Res. Toxicol.*, **12**, 1110-1116.
- [92] **Favor, J., Shelby, MD.**, 2005. Transmitted mutational events induced in mouse germ cells following acrylamide or glycidamide exposure. *Mutat. Res.*, **580**, 21-30.
- [93] **Besaratinia, A., Pfeifer, GP.**, 2004. Genotoxicity of acrylamide and glycidamide. *J. Natl. Cancer Inst.*, **96**, 1023-1029.
- [94] <https://tr.wikipedia.org/wiki/Sarımsak> Erişim tarihi 27.10.2016
- [95] **Ellen Tattelman, M.D.**, 2005. Health Effects of Garlic. *Am. Fam. Physician*, **72**, 1.
- [96] **Baytop T.**, 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, ISBN No: 9754200211.
- [97] **Kütevin Z., Türkeş T.**, 1987. Sebzeçilik ve Genel Sebze Tarımı Prensipleri ve Pratik Sebzeçilik Yöntemleri. İnkilap Kitabevi, İstanbul.
- [98] **Thomson, M., and Ali, M.**, 2003. Garlic [*Allium sativum*]: A Review of its Potential Use as an Anti-Cancer Agent . *Curr. Cancer Drug. Targets*, **3**, 67-81.
- [99] **Lun, Li., Tiantian, Sun., Jinhui, Tian., Kehu, Yang., Kang, Yi., and Peng, Zhang.**, 2013. Garlic in Clinical Practice: An Evidence-Based Overview. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutr.*, **53**, 670-681.
- [100] **Duraka, A., Ozturk, H.S., Olcay, E., Guven, C.**, 2002. Effects of garlic extract supplementation on blood lipid and antioxidant parameters and atherosclerotic plaque formation process in cholesterol-fed rabbits. *J. Herbal Pharmacotherapy*, **2**, 19-32.
- [101] **Imai, J., Ide, N., Nagae, S., Moriguchi, T., Matsuura, H., Itakura, Y.**, 1994. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic and its constituents. *Planta Med.*, **60**, 417-420.
- [102] **Whanger, P.D.**, 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *J. Am. Coll. Nutr.*, **21**, 223-232.
- [103] **Finley, J.W.**, 2003. Reduction of cancer risk by consumption of selenium-enriched plants: enrichment of broccoli with selenium increases the anticarcinogenic properties of broccoli. *J. Med. Food.*, **6**, 19-26.

- [104] **Ip, C. and Lisk, D. J.**, 1995. Efficacy of cancer prevention by high-selenium garlic is primarily dependent on the action of selenium. *Carcinogenesis*, **16**, 2649-2652.
- [105] **Lu, J., Pei, H., Ip, C., Lisk, D. J., Ganther, H. and Thompson, H. J.**, 1996. Effect on an aqueous extract of selenium-enriched garlic on in vitro markers and in vivo efficacy in cancer prevention. *Carcinogenesis*, **17(9)**, 1903-7.
- [106] **El-Mofty, M.M., Sakr, S.A., Essawy, A., and Abdel Gawad H.S.**, 1994. Preventive action of garlic on aflatoxin B1-induced carcinogenesis in the toad *Bufo regularis*. *Nutr. Cancer*, **21(1)**, 95-100.
- [107] **Fleischauer, A.T., Poole, C., Arab. L.**, 2000. Garlic consumption and cancer prevention: meta-analyses of colorectal and stomach cancers. *Am J Clin Nutr.*, **72**, 1047-1052.
- [108] **Akan, H., Firat, M., Ekici, M.**, 2007. *Astragalus bahcesarayensis* (Leguminosae-Papilionaceae), a new species of section *Alopecuroidei* oC. from Turkey. *Bot.J. Linn. Soc.*, **156**, 439-444
- [109] **Gürpınar, T.**, 1977. Doğa Bilimleri Dizisi II: Akarsularımız Göllerimiz Yabani Bitkilerimiz. *Redhouse Yayınevi*, İstanbul, s. 64.
- [110] <http://www.saglikaktuel.com/bitki-ansiklopedisi-keven-nedir-faydalari-nelerdir-1531.htm?&topeStarEhJUS=1> Erişim tarihi 10.11.2016
- [111] **Rios, J.L., Waterman, P.G.**, 1997. A Review of the Pharmacology and Toxicology of *Astragalus*. *Phytother. Res.*, **11**, 411-418.
- [112] <http://www.forumgercek.com/alternatif-tip/73298-her-derde-deva-bitki-kevenin-faydalari.html> Erişim tarihi 10.11.2016
- [113] **Galeas, M.L., Zhang, L.H., Freeman, J.L., Wegner, M.**, 2007. Pilon-Smits EAH Seasonal fluctuations of selenium and sulfur accumulation in selenium hyperaccumulators and related nonaccumulators. *New Phytol.*, **173**, 517-525.
- [114] **Beath, O.A., Gilbert, C.S., Eppson, H.F.**, 1939a. The use of indicator plants in locating seleniferous areas in Western United States. *I. General. Am J Bot.*, **26**, 257-269.
- [115] **Beath, O.A., Gilbert, C.S., Eppson, H.F.**, 1939b The use of indicator plants in locating seleniferous areas in Western United States. II. Correlation studies by states. *Am J. Bot.*, **26**, 296-315.
- [116] **Oldfield, J.E.**, 1987. The two faces of selenium., *J.Nutr.*, **117(12)**, 2002-2008.

- [117] **Shamberger, R.J.**, 1986. Selenium metabolism and function., *Clin. Physiol. Biochem.*, **4**, 42-49.
- [118] **Sors, T.G., Ellis, D.R., Salt, D.E.**, 2005. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynth Res.*, **86**, 373-389.
- [119] **Freeman, J.L., Zhang, L.H., Marcus, M.A., Fakra, S., McGrath, S.P., Pilon-Smits, E.A.**, 2006b. Spatial imaging, speciation, and quantification of selenium in the hyperaccumulator plants *Astragalus bisulcatus* and *Stanleya pinnata*. *Plant Physiol.*, **142**, 124-134.
- [120] **Pickering, I.J., Prince, R.C., Salt, D.E., George, G.N.**, 2000. Quantitative, chemically specific imaging of selenium transformation in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **97**, 10717-10722.
- [121] **Büyükakyüz, N., Altuğ, T., Yaltırık, M.**, 2000. Kanser proflaksisinde antioksidan maddelerden E vitamini ve selenyumun önemi. *Dişhekimliğinde Klinik Derg.*, **12**, 136-139.
- [122] **Perkins, A.T., and King, H.H.**, 1938. Selenium and tenmarg wheat. *Jour. Amer. Soc. Agron.*, **30**, 664-667.
- [123] **Scharrer, K., and Schropp, W.**, 1950. Sand und Wasserkulturversuche mit Selen und Tellur. *Z. Pflanzenernahrung Düng. Bodenk.*, **50**, 187-202.
- [124] **Terry, N. and Zayed, A. M.**, 1998. Phytoremediation of selenium. In: Frankenberger VVT Jr, and Engberg RA (Eds) Environmental chemistry of selenium. *Marcel Dekker Inc*, New York, pp. 633-655.
- [125] **Miller, E., Lei, R. X., and Ullrey, D. E.**, 1991. Trace elements in animal nutrition. p. 593-662. in: Micronutrients in Agriculture. 2 Ed. (J. J. Mortvedt, F. R. Cox, L. M. Shuman and R. M. Welch. eds.). SSSA Book Series No. 4. Madison, WI. U.S.A.
- [126] **Mahan, DC.**, 1999 Organic selenium, using nature's model to redefine selenium supplementation for animals. Proceedings of the 15th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium 523-535.
- [127] **Surai, P.F.**, 2000. Organic selenium, benefits to animals and humans, a biochemist's view. Proceedings of the 15th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium 205-242.

- [128] **Wolffram ,S.**, 1999. Absorption and metabolism of selenium, differences between inorganic and organic sources. Proceedings of the 15th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium 547-566.
- [129] **Al-Bader A., Abul, H., Hussain, T., Al-Moosawi, M., Mathew, T.C., Dashti, H.**, 1998. Selenium and liver cirrhosis. *Mol Cell Biochem.* Aug; **185(1-2)**, 1-6.
- [130] **Arthur JR.**,1997. Non-glutathione peroxidase functions **In**, Lyons TP, Jacques KA (Eds): Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 13th Annual Symposium, pp. 142154, Nottingham University Press, England.
- [131] **Hassan, S., Hakkaramen, RV., Lindbergp, O., Sankarı, S.**, 1990. Utilization of dietary sodium selenite, barley, oats and meat meal selenium by the chick. *Zentrabl Veterinarmed A.*, **37 (4)**, 270-277.
- [132] **Okuyan, R.**, 1997. Hayvan Besleme Biyokimyası.A.Ü.Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı, 450, 197-205. Ankara
- [133] **Şimşek A., Sarı, F. ve Artık, N.**, 2004. Selenyumun İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknik Dergisi*, **5**, 245-251.
- [134] **Wlaschny, M.B.**,1986. Kanatlıların ve ruminantların beslenmesinde vitamin E'nin önemi "Yeni Görüşler". VIII. Yem Sanayindeki Gelişmeler Semineri. 29 Eylül-3 Ekim, Marmaris. 10-35.
- [135] **Sandstrom, P.A., Murray, J., Folks, T.M., Diamond, A.M.**, 1998. Antioxidant defenses influence HIV-1 replication and associated cytopathic effects. *Free Radical Biol. Med.*, **24**, 1485-1491.
- [136] **Jr, G.F.C., Gray,W.P.**, 1998. Chemopreventive agents: selenium. *Pharmacol. Ther.*, **79**, 179-192.
- [137] **Cantor, A.**, 1997. The role of selenium in poultry nutrition. Proceedings of the 13th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium 155-164.
- [138] **Kaneko, JJ.**, 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. *Academic Press, Inc.*, 772-776. San Diego.
- [139] **Swain, B.K., Johri, TS., Majumdar, S.**, 2000. Effect of supplementation of vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. *British Poultry Sci.*, **41**, 287-292.
- [140] **Surai, PF.**,2006. Selenium in Poultry Nutrition and Health. 1st ed. 104-105, Nottingham University Press, England.

- [141] **Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafariet, K.,** 2003.Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibitscadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp. Biochem. Physo., C*, **135**, 331-336.
- [142] **Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A.,** 2004.Pesticides and oxidative stress : areview. *Med. Sci. Monit.*,**10**, 141-147.
- [143] **Cochranc, C.G.,**1991.Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.*,**92**, 235-305.
- [144] **Kaya, S., Pirinççi _ , Bilgili, A.,** 1998.Veteriner Hekimliginde Toksikoloji. *Medisan Yayın Serisi*, **35**, s. 222, 232, 273, 276, 355 Ankara.
- [145] **Matés, J.M.,**2000.Effects of antioxidantenzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicol.*, **153**, 83-104.
- [146] **Facchinetti, F., Dawson, V.L., Dawson, T.M.,** 1998.Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cell. Mol. Neurobiol.*, **18**, 667-682.
- [147] **Güven, A., Erginsoy, S., Kaya, N.,** 2003.Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasalve patolojik parametrelere etkisi. *Kafkas Ü. Vet. Fak. Derg.*, **9**, 131-136.
- [148] **Halilova, H.,** 2004. Mikroelementlerin (I, Zn, Co, Mn, Cu, Se) biyojeokimyası. İlkeEmek Yayınları, Ankara.
- [149] **Brenneisen, P., Steinbrenner, H., Sies, H.,** 2005. Selenium, oxidativestress, and health aspects. *Mol Aspects Med.*, **26(45)**, 256-67.
- [150] **Stapleton, S.R.,** 2000. Introduction: the selenium conundrum. *Cell Mol Life Sci.*, **57(13-14)**, 1823-4.
- [151] **Charron, C. S., Kopsell, D. A., Randle, W. M., and Sams, C. E.,** 2001. Sodium selenate fertilisation increases selenium accumulation and decreases glucosinate concentration in rapid-cycling Brassica oleracea. *J.Sci. Food Agric.*, **81**, 962-966.
- [152] **Boskou, G., Salta, F.N., Chiou, A., Troullidou, E., Andrikopoulos, N.K.,** 2006. Content of *trans*, *trans*-2,4-decadialenal in deep-fried and pan-fried potatoes. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **108**, 109-115.
- [153] **Roach, J. A. G., Andrzejewski, D., Gay, M. L., Nortrup, D., Musser, S. M.,** 2003. Rugged LC-MS/MS survey analysis for acrylamide in foods. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7547–7554.

- [154] **Romani, S., Bacchiocca, M., Rocculi, P., Rosa, M.D.,** 2008. Effect of frying time on acrylamide content and quality aspects of French fries. *European Food Research and Technol.*, **226**, 555–560.
- [155] **Zhang, Y., Ying, T. J., & Zhang, Y.,** 2008. Reduction of acrylamide and its kinetics by addition of antioxidant of bamboo leaves (AOB) and extract of green tea (EGT) in asparagine-glucose microwave heating system. *Journal of Food Sci.*, **73**, 60-66.
- [156] **Karataş, F.,** 1994. Biyolojik sıvılarda spektroskopik metodlarla selenyum tayini. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
- [157] **Whener, P. A., Ullrey, D.E.,** 1978. Improved fluorometric method for determining selenium. *J. Assoc Anal Chem.*, **61**, 927-30.
- [158] **Bader, M.,** 1980. A systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis, *J. Chem. Educ.*, **57 (10)**, 703.
- [159] **Douglas, A., Skoog, F., Holler, J.,** 1971. Instrumental Analiz İlkeleri 15-16.
- [160] **Gündüz, T.,** 1988. İnrümental Analiz, A.Ü. Fen Fakültesi Yayınları, Ankara.
- [161] Supelco Chromatography Products for Analysis & Purification. 2005-2006. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Export Department Eschenstraße Taufkirchen, Germany, s.131, s.140, s.141.
- [162] **Yuan, Y., Zhao, G.H., Hu, X.S., Wu, J.H., Liu, J., Chen, F.,** 2008. High correlation of methylglyoxal with acrylamide formation in glucose/asparagine Maillard reaction model. *Eur. Food Res. Technol.*, **226**, 1301-1307.
- [163] **Biederman, M., Grob, K.,** 2003. Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch: ways to reduce acrylamide contents in bakery ware. *Mitteilungen fur Lebensmittel Hygiene*, **94**, 406-422.
- [164] **Pelucchi, C., Franceschi, S., Levi, F., Trichopoulos, D., Bosetti, C., Negri, E., La Vecchia, C.,** 2003. Fried potatoes and human cancer. *Int J Cancer.*, **105**, 558-560.
- [165] **Troxell T., and Posnick L.U.S.** Action Plan for Acrylamide Activities and Progress. FAO/WHO Seminar on Acrylamide in Food. U.S. FDA, March 16, 2003. www.fao.org/ag/agn/jecfa/acrylamide/troxell/Troxell.ppt Erişim, 3 ekim 2016.

- [166] **Fiselier, K., Bazzocco, D., Gama-Baumgartner, F., Grob, K.,** 2006. Influence of the frying temperature on acrylamide formation in French fries. *European Food Research and Technol.*, **222**, 414–419.
- [167] **Sanny, M., Jinap, S., Bakker, E.J., van Boekel, M.A.J.S., Luning, P.A.,** 2012. Possible causes of variation in acrylamide concentration in French fries prepared in food service establishments: an observational study. *Food Chem.*, **132**, 134–143.
- [168] **Fernandez, S., Kurppa, L., & Hyvonen, L.,** 2003. Content of acrylamide decreased in potato chips with addition of a proprietary flavonoid spice mix (Flavomare_) in frying. *Innovations in Food Technol.*, **18**, 24–26.
- [169] **Jun, Cheng., Xinyu, Chen., Sheng Zhao, Yu, Zhang.,** 2015. Antioxidant-capacity-based models for the prediction of acrylamide reduction by flavonoids. *Food Chem.*, **168**, 90–99.
- [170] **Zhang, Y., Zhang, G.Y., Zhang, Y.,** 2005. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: review and recent developments. *Journal of Chromatography A*, **1075**, 1–21.
- [171] **Wang, H., Lee, A.W.M., Shuang, S., Choi, M.M.F.,** 2008. SPE/HPLC/UV studies on acrylamide in deep-fried flour-based indigenous Chinese foods. *Microchemical Journal*, **89**, 90–97.
- [172] **Beer, M.U., Schlatter, J., Dudler, V., Zoller, O.,** 2004. Letter to the editor: fried potatoes and human cancer. *Int J Cancer*, **108**, 634–635.
- [173] **Vinci, R.M., Mestdagh, F., De Meulenaer, B.,** 2012. Acrylamide formation in fried potato products – Present and future, a critical review on mitigation strategies. *Food Chem.*, **133**, 1138–1154.

ÖZGEÇMİŞ

18.07.1990 Elazığ doğumluyum. Evliyim. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladıktan sonra 2008 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde yükseköğrenimime başladım. 2012 yılında mezun oldum. 2013 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Biyokimya) yüksek lisansa başladım ve halen yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim.

