



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI UNLARLA YAPILAN YÜKSEK PROTEİNLİ
PANKEKLERE EKLENEN ARONYANIN AKRİLAMİD
OLUŞUMUNA ETKİSİ**

YAŞAR ALP EROL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Duygu Sağlam

İSTANBUL-2024



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI UNLARLA YAPILAN YÜKSEK PROTEİNLİ
PANKEKLERE EKLENEN ARONYANIN AKRİLAMİD
OLUŞUMUNA ETKİSİ**

YAŞAR ALP EROL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Duygu Sağlam

İSTANBUL-2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

29.05.2024

Yaşar Alp Erol

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Değerli danışmanım ve hocam Sayın Doç. Dr. Duygu Sağlam'a, bütün çalışma süreci boyunca destekleriyle bana yol gösteren, deneylerin yürütülmesinde her türlü katkıyı karşılıksız sunan Sayın Doç. Dr. Timur Barak'a ve bütün süreç boyunca omuz omuza çalıştığım değerli meslektaşım Sayın Öğr. Görevlisi Simge Sipahi'ye bütün tez dönemimdeki rehberlikleri, destekleri ve yol göstericilikleri için çok teşekkür ederim. Değerli hocalarımla desteği bu tezin en iyi şekilde yürütülmesine ve tamamlanmasına olanak tanımıştır. Size en içten şekilde minnet duygularıyla teşekkür etmek istiyorum.

Lisans dönemimden beri beni her zaman destekleyen, kariyerimi ve akademik hayatımı yolunda şekillendirdiğim çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Murat Baş'a yıllardır gösterdiği destek ve sevgi için en büyük teşekkürleri ve minneti borç biliyorum.

Destekleriyle, sevgileriyle ve inancıyla her zaman yanımda olan değerli aileme ve en büyük destekçim Çisem Şılar'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ	3
1.1 Akrilamid Oluşumu	3
1.1.1 Akrilamidin sağlık üzerindeki etkileri	3
1.1.2 Gıdalarda akrilamid düzeyi ve azaltma yöntemleri.....	3
1.2 Sporcularda Besin Takviyeleri ve Whey Protein Kullanımı.....	5
1.2.1 Yüksek proteinli pankek ve akrilamid ilişkisi	5
1.3 Çalışmanın Amacı	5
2 GENEL BİLGİLER.....	7
2.1 Akrilamid.....	7
2.1.1 Akrilamidin molekül yapısı.....	7
2.1.2 Gıdalarda akrilamid.....	7
2.2 Akrilamid ve Sağlık İlişkisi.....	8
2.2.1 Dokular ve kanser üzerindeki etkileri.....	9
2.2.2 Maternal akrilamid ve yenidoğan üzerindeki etkileri.....	10
2.2.3 Nörotoksik etkileri.....	10
2.2.4 Sporcu sağlığı.....	11
2.3 Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizması ve Yolları.....	11
2.3.1 Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu	12
2.3.2 Akrilamid oluşumu için alternatif yollar	13
2.4 Gıda Kaynaklı Akrilamid Maruziyeti.....	14
2.4.1 Kahve ve ikame ürünleri.....	16
2.4.2 Patates ürünleri	17
2.4.3 Tahıl ürünleri.....	18
2.5 Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler	19
2.5.1 İndirgen şeker bileşiminin etkileri.....	20
2.5.2 Sıcaklık ve ısıtma süresinin etkileri	20
2.5.3 Protein açısından zengin bileşenlerin ilavesinin etkileri	21

2.5.4	Amino asit ilavesinin etkileri	21
2.5.5	Karbonhidrat ilavesinin etkileri	22
2.5.6	pH ve gıda neminin etkileri.....	23
2.5.7	Antioksidanların, oksidanların ve radikallerin etkisi	23
2.6	Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Azaltma Yöntemleri.....	24
2.6.1	Asparaginaz kullanımı	25
2.6.2	Çok değerlikli katyonların kullanımı.....	25
2.6.3	Amonyum bikarbonatın değiştirilmesi.....	25
2.6.4	Antioksidanların kullanımı.....	26
2.6.4.1	Aronya.....	27
2.6.4.2	Antioksidan analizi.....	27
2.6.4.3	Antioksidan analiz yöntemleri.....	28
2.6.4.4	DPPH.....	30
2.6.4.5	Total fenolik bileşik.....	30
2.6.4.6	Klorojenik asit	31
2.6.5	İşleme yöntemleri.....	31
2.7	Gıdalarda Akrilamid Analiz Yöntemleri	32
2.7.1	HPLC, LC-MS, LC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi.....	33
2.7.2	GC, GC-MS, GC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi.....	33
2.7.3	Akrilamid analizi için kullanılan diğer yöntemler	34
2.8	Sporcularda Besin Takviyelerinin Kullanımı.....	35
2.8.1	Peynir altı suyu proteini (whey) takviyesi.....	37
2.9	Yüksek Proteinli Pankek.....	38
3	GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1	Gereç	39
3.1.1	Pankek örnekleri	39
3.1.2	Kullanılan malzemeler	39
3.1.3	Kullanılan kimyasallar	39
3.1.4	Kullanılan alet/cihaz ve ekipmanlar	39
3.2	Yöntem	40
3.2.1	Akrilamid analizi	40
3.2.1.1	Pankek gruplarının belirlenmesi.....	40
3.2.1.2	Pankeklerin standardizasyonu ve pişirilmesi	42
3.2.1.3	Pankek örneklerinin akıbeti	42
3.2.1.4	Akrilamidin pankek örneklerinden ekstraksiyonu	45
3.2.1.5	Akrilamid standartlarının hazırlanması.....	46
3.2.1.6	Pankek örneklerinin HPLC cihazı ile akrilamid tayini	46
3.2.1.6.1	Kromatografik çalışma koşulları.....	46
3.2.2	Gerçekleştirilen diğer analizler	47
3.2.2.1	DPPH radikal temizleme aktivite tayini ile in vitro antioksidan aktivitenin belirlenmesi	48
3.2.2.2	Total fenolik bileşik analizi.....	48
3.2.2.3	HPTLC ile klorojenik asitin miktarının belirlenmesi.....	48
4	BULGULAR.....	50
4.1	Akrilamidin Standart Çözeltisi, Grafiği ve Denklemi.....	50

4.2	Pankek Örneklerinin HPLC Cihazında Saptanan Sinyal Grafikleri.....	51
4.3	Pankek Örneklerinin Akrilamid Miktarları.....	55
4.3.1	Pankek örneklerinin akrilamid miktarlarının kıyaslanması.....	56
4.4	Aronyada Antioksidan, Total Fenolik Bileşik ve Klorojenik Asit Tayini..	56
4.4.1	DPPH antioksidan aktivite testi.....	57
4.4.2	Total fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi.....	57
4.4.3	HPTLC ile klorojenik asitin miktarının belirlenmesi.....	57
5	TARTIŞMA.....	59
5.1	Pankek Örneklerinde Akrilamid Miktarının ve Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi.....	59
5.2	Aronya Meyvesinin Akrilamid Oluşumundaki Etkilerinin Anlaşılması....	61
5.2.1	Aronyaların antioksidan aktivitesi ve total fenolik bileşik içeriği.....	61
5.2.2	Aronyaların klorojenik asit içeriği.....	62
5.2.3	Aronya ve akrilamid oluşumu.....	62
6	SONUÇ.....	63
7	KAYNAKLAR.....	64
8	EKLER.....	77
EK 1.	Pankek Örnekleri.....	77
EK 2.	Yalova Aronyası.....	78
EK 3.	Akrilamidin Ekstraksiyonu.....	79
9	ÖZGEÇMİŞ.....	80

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

AA	Akrilamid
PK	Pankek
TBA	Tam Buğday Aronyalı Pankek
TBK	Tam Buğday Pankek
TBW	Tam Buğday Wheyli Pankek
TBWA	Tam Buğday Wheyli Aronyalı Pankek
YA	Yulaf Aronyalı Pankek
YK	Yulaf Pankek
YW	Yulaf Wheyli Pankek
YWA	Yulaf Wheyli Aronyalı Pankek

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Akrilamid'in moleküler yapısı	7
Şekil 2.2. DPPH moleküler yapısı.....	30
Şekil 4.1. Akrilamidin çalışma grafiği ve doğru denklemi	50
Şekil 4.2. Tam buğday pankek (TBK) 1. ölçüm kromotogramı	51
Şekil 4.3. Tam buğday pankek (TBK) 2. ölçüm kromotogramı	51
Şekil 4.4. Yulaf pankek (YK) 1. ölçüm kromotogramı	51
Şekil 4.5. Yulaf pankek (YK) 2. ölçüm kromotogramı	52
Şekil 4.6. Tam buğday wheyli pankek (TBW) 1. ölçüm kromotogramı	52
Şekil 4.7. Tam buğday wheyli pankek (TBW) 2. ölçüm kromotogramı	52
Şekil 4.8. Yulaf wheyli pankek (YW) 1. ölçüm kromotogramı.....	52
Şekil 4.9. Yulaf wheyli pankek (YW) 2. ölçüm kromotogramı.....	53
Şekil 4.10. Tam buğday aronyalı pankek (TBA) 1. ölçüm kromotogramı.....	53
Şekil 4.11. Tam buğday aronyalı pankek (TBA) 2. ölçüm kromotogramı.....	53
Şekil 4.12. Yulaf aronyalı pankek (YA) 1. ölçüm kromotogramı.....	53
Şekil 4.13. Yulaf aronyalı pankek (YA) 2. ölçüm kromotogramı.....	54
Şekil 4.14. Tam buğday wheyli aronyalı (TBWA) 1. ölçüm kromotogramı.....	54
Şekil 4.15. Tam buğday wheyli aronyalı (TBWA) 2. ölçüm kromotogramı.....	54
Şekil 4.16. Yulaf wheyli aronyalı (YWA) 1. ölçüm kromotogramı.....	54
Şekil 4.17. Yulaf wheyli aronyalı (YWA) 2. ölçüm kromotogramı.....	55
Şekil 4.18. Pankek örneklerindeki akrilamid miktarlarının kıyaslanması.....	56
Şekil 4.19. Ekstraktların HPTLC analizi.....	58

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Farklı ürünlerde ve ürün gruplarında bildirilen AA miktarlarının özeti... 15	15
Tablo 3.1. PK gruplarının içeriği ve PK örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemelerin miktarı 41	41
Tablo 3.2. Mikserde birlikte parçalanan pankek örneklerinin bilgisi..... 43	43
Tablo 3.3. Pankek gruplarının ve örneklerinin son durumu 43	43
Tablo 3.4. Pankek gruplarının makro besin ögesi değerleri 44	44
Tablo 3.5. HPLC kromatografik çalışma koşulları..... 47	47
Tablo 3.6. HPLC kuaterner pompa çalışma metodu..... 47	47
Tablo 4.1. AA'nın standart çözeltilerine ve ölçülen değerlere dair bilgiler 50	50
Tablo 4.2. Tavada pişirilen pankek örneklerindeki akrilamid miktarları 55	55
Tablo 4.3. DPPH radikal temizleme aktivite tayini ile belirlenen antioksidan miktarı 57	57
Tablo 4.4. Aronyalarda total fenolik bileşiklerin miktarı 57	57
Tablo 4.5. Aronyalarda klorojenik asitin miktarı 57	57

ÖZET

Farklı Unlarla Yapılan Yüksek Proteinli Paneklere Eklenen Aronyanın Akrilamid Oluşumuna Etkisi

Bu tez çalışmasında, sporcular ve vücut geliştirme toplulukları tarafından sıklıkla kahvaltıda veya ara öğünlerde tüketilen, tavada pişirme tekniği ile hazırlanan, farklı un ve antioksidan olarak aronya içeriklerine sahip yüksek proteinli (whey) paneklerde akrilamid miktarının tayin edilmesi, antioksidan ilavesinin akrilamid oluşumu üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi, akrilamidin sporcu sağlığı ve performansı üzerine etkilerinin tartışılması amaçlanmıştır. Kullanılan unun (tam buğday ve yulaf), whey proteini tozunun, ve aronyanın akrilamid oluşumundaki etkilerinin anlaşılması için belirlenen 4 grup içerisindeki 8 pankek örneği pişirildikten sonra; pankek örneklerinde akrilamid (HPLC) miktar tayini ve örneklerde kullanılan aronyalarda antioksidan aktivite (DPPH), total fenolik bileşik ve klorojenik asit (HPTLC) analizleri yapılmıştır. En yüksek AA miktarları whey proteinli aronyalı örneklerde bulunmuş olup en düşük AA formasyonu YA (yulaflı aronyalı pankek) örneğinde görülmüştür. Beklenileceği üzere tam buğday unlu standart pankekta yulaf unlu standart pankeke kıyasla daha düşük AA oluşumu görülmüştür. Yalova aronyasının güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip, fenolik bileşiklerden ve klorojenik asitten zengin olduğu tespit edilmiş ancak akrilamid oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanamamıştır. Çalışmada yüksek proteinli pankek örneklerinin AA miktarları literatürde ilk defa belirlenmiştir. Farklı unların, whey protein ve aronya ilavesinin istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanamamıştır. Ancak bu sonuca neden olabilecek sınırlılıklar açıklanarak gelecek çalışmalar için ışık tutacak veriler sunulmuştur.

Anahtar Sözcükler: Akrilamid, Aronya, Maillard reaksiyonu, HPLC analiz, Sporcu beslenmesi.

ABSTRACT

The Effect of Aronia Added to High Protein Pancakes Made with Different Flours on Acrylamide Formation

In this thesis study, the determination of the amount of acrylamide in high protein (whey) pancakes with different flour and antioxidant aronia contents, prepared with the pan cooking technique, which are frequently consumed for breakfast or snacks by athletes and bodybuilding communities, and the evaluation of the effect of antioxidant addition on acrylamide formation, It is aimed to discuss the effects of acrylamide on athlete health and performance. After cooking 8 pancake samples in 4 groups determined to understand the effects of flour (whole wheat and oats), whey protein powder, and aronia on acrylamide formation; Acrylamide (HPLC) quantification in pancake samples, antioxidant activity (DPPH), total phenolic compound and chlorogenic acid (HPTLC) analyzes in aronias used in the pancake samples were performed. The highest AA amounts were found in the whey protein aronia pancake samples, and the lowest AA formation was seen in the oat aronia pancake sample. As expected, lower AA formation was observed in the standard pancake with whole wheat flour compared to the standard pancake with oat flour. It was determined that Yalova aronia has a strong antioxidant activity and is rich in phenolic compounds and chlorogenic acid, but no statistically significant effect was detected on acrylamide formation. In the study, AA amounts of high protein pancake samples were determined for the first time in the literature. No statistically significant effect of the addition of different flours, whey protein and aronia was detected. However, the limitations that may cause this result are explained and preliminary data for future studies are presented.

Keywords: Acrylamide, Aronia, Maillard reaction, HPLC analysis, Sports nutrition.

1 GİRİŞ VE AMAÇ

1.1 Akrilamid Oluşumu

120°C ve üzeri sıcaklıklarda, gıdalarda yapılan ısı işlemler sonucunda akrilamid (AA) oluşabilir ve bu durum çeşitli mekanizmalarla açıklanmaktadır. Gıdalardaki AA'nın oluşumunun, lipidlerin, karbonhidratların veya serbest aminoasitlerin yıkımıyla meydana gelen akrolein veya akrilik asit üzerinden, malik, laktik ve sitrik asit gibi organik asitlerin su veya karboksil gruplarının kaybıyla, ve aminoasitlerin doğrudan katılımıyla gerçekleşebileceği belirtilmektedir (1). Genel kanı, gıdalarda AA'nın oluşumunun, asparajin adı verilen bir aminoasit ile fruktoz ve glikoz gibi basit indirgen şekerlerin karbonil grupları arasında meydana gelen ısıyla tetiklenen reaksiyonlar (Maillard reaksiyonu) sonucunda gerçekleştiği yönündedir. (2).

1.1.1 Akrilamidin sağlık üzerindeki etkileri

Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü'ne (IARC) (1994) göre kemirgenler üzerindeki genotoksik ve karsinojenik etkileri nedeniyle AA'nın insanlarda grup 2A kanserojen etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir. Gıdalardaki AA seviyeleri ve alımları ile ilgili mevcut çalışmalara dayanarak, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gıda kaynaklı ortalama AA alımını 0,3-2,0 µg/kg vücut ağırlığı/gün düzeyinde ve hatta çocuklarda daha düşük vücut ağırlıkları sebebiyle birkaç kat daha yüksek olabileceğini tahmin etmiştir (3). AA ve onun metaboliti olan glisidamid, genotoksik ve kanserojen etkilere sahip maddelerdir. Genotoksik bir maddenin herhangi bir seviyede alınması, DNA'ya potansiyel zarar verebilir ve kansere neden olabilir. Bu nedenle, gıdalarda kabul edilebilir bir günlük AA tüketimi miktarı (TDI) belirlenememiştir (4, 5).

1.1.2 Gıdalarda akrilamid düzeyi ve azaltma yöntemleri

Araştırmacılar, gıdalardaki AA seviyelerinin gıdanın türüne ve üretim yöntemine göre değişebileceğini belirtmişlerdir. Aynı tür gıdalar arasında bile, içerik bileşenleri, pişirme süresi ve sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak AA konsantrasyonlarında

belirgin farklar olduğu bildirilmiştir. (6). Günlük diyet ile tüketilen farklı gıdaların AA miktarlarına ilişkin yeterli veri ve rehberin bulunmadığı konusunda fikir birliği vardır (7). Farklı gıdaların AA içeriklerinin tayin edilmesi ve maruz kalınan AA miktarının mümkün olduğunca azaltılması koruyucu sağlık hizmetleri açısından önem taşımaktadır (7-9).

Günümüzde gıda güvenliği otoritelerini, akademisyenleri ve gıda üreticilerini temsil eden birçok araştırmacı, AA oluşumunun kinetiğini ve mekanizmalarını, oluşumunu etkileyen faktörleri, biyoyararlanım ve toksisite ilişkisini daha iyi anlamaya ve gıdalarda oluşumunu en aza indirecek çözümler bulmaya çalışmaktadır. Son yıllarda gıda endüstrisi, kalite parametrelerini korurken, ürünlerindeki AA seviyelerini azaltmaya yönelik stratejiler geliştirmiş ve uygulamıştır. Bunlar, ürün formülasyonlarının veya işleme koşullarının değiştirilmesini (pH'ın, pişirme sıcaklığının ve süresinin düşürülmesi) ve AA oluşumunu engellediği bildirilen gıda bileşenlerinin (başta sitrik olmak üzere organik asitler, kalsiyum, magnezyum iyonları ve antioksidan özelliklere sahip ekstraktlar) eklenmesini içerir. Araştırmacılar aynı zamanda gıdalardaki AA seviyelerini düşürmek için başka çözümler de buldular: serbest asparajin konsantrasyonu düşük seviyelerde olan buğday genotiplerini yetiştirmek; örneğin, pişirme veya işleme öncesinde gıdanın asparajinini aspartik asit ve amonyağa hidrolize etmek için asparaginaz enzimini kullanmak gibi (ürünlerin organoleptik özelliklerini etkilemeden AA seviyelerinin %70-90 oranında azaltılması). Uygulanan diğer yöntemler arasında; radyo frekansı, inert atmosfer, buharla pişirme, mikrodalga fırınla pişirme vb. gibi modern işlemlerin pişirme işlemi sırasında uygulanması; fermantasyondan önce hamura glisin ve glutaminin uygulanması; maya ile fermantasyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi için yüksek proteolitik aktiviteye sahip laktik asit bakterileri (LAB) üreten bakteriyosin benzeri inhibitör maddelerin kullanılması; indirgeyici şekerlerin sakkarozla değiştirilmesi; biberiye, amino asitler veya proteinler vb. gibi farklı katkı maddelerinin kullanılması bulunmaktadır (9). Gıda endüstrisinde uygulanan AA azaltma yöntemleri baz alındığında ev ortamında hazırlanan yiyeceklerde AA oluşumunun ya da zararlı etkilerinin azaltılması ile ilgili uygulanabilecekler arasında; pişirme yönteminin,

sıcaklığının, süresinin doğru tercihi ve kontrolü, antioksidan özelliklere sahip gıdalardan ya da ekstraksiyonlardan faydalanılması düşünülebilir.

1.2 Sporcularda Besin Takviyeleri ve Whey Protein Kullanımı

Besin takviyeleri, özellikle peynir altı suyundan üretilen whey protein tozları, sporcular tarafından antrenman ve müsabaka dönemlerindeki artan taleplerini karşılamak için uzun sürelerdir kullanılmaktadır (10). Özellikle son dönemlerde peynir altı suyu proteininin (whey protein) toparlanma ve fiziksel performansla ilgili rolleri üzerine araştırmaların sayısı artmış, sporcular ve vücut geliştirmeciler arasındaki popülerliği önemli ölçüde yaygınlaşmıştır. Sporcuların whey protein tozunu farklı biçimlerde tüketebildikleri görülmüştür. Sosyal medyanın etkileri, sürdürülebilirlik ve çeşitlilik arayışları sebebiyle whey protein tozu içeren yüksek proteinli birçok yeni yemek ya da atıştırma tarifinin geliştirildiği ve popülerlik kazandığı söylenebilir.

1.2.1 Yüksek proteinli pankek ve akrilamid ilişkisi

Kolay hazırlanması, lezzetli ve besin öğeleri açısından zengin bir içeriğe sahip olması sebebiyle whey protein içerikli yüksek proteinli pankek (PK) tarifleri sporcular ve vücut geliştirme toplulukları arasında oldukça ünlüdür. Piyasaya hazır protein PK harcı içeren ürünler dahi sunulmuş ve bu hazır ürünler kısa sürede çokça satılmıştır. Protein PK'ların içeriğinde bulunan peynir altı suyu kaynaklı yüksek miktarda asparajin ve karbonhidrat kaynakları sebebiyle tavada yüksek sıcaklıkta pişirilmesi sonucu toksik miktarda AA oluşabileceği öngörülebilmektedir (11).

1.3 Çalışmanın Amacı

Bütün bu veriler ışığında bu tez çalışmasında, sporcular ve vücut geliştirme toplulukları tarafından sıklıkla kahvaltıda veya ara öğünlerde tüketilen, tavada pişirme tekniği kullanılarak farklı un ve antioksidan olarak aronya içeriklerine sahip yüksek proteinli PK'ların AA içeriklerinin tayin edilmesi, antioksidan ilavesinin AA oluşumu

üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi ve sporcu sağlığı üzerine etkilerinin tartışılması amaçlanmaktadır.

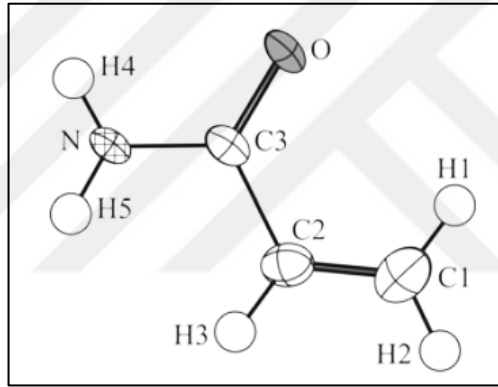


2 GENEL BİLGİLER

2.1 Akrilamid

2.1.1 Akrilamidin molekül yapısı

Kimyasal olarak 2-propenamid (C_3H_5NO) olarak adlandırılan AA, $71,08 \text{ g mol}^{-1}$ molekül ağırlığına sahip, renksiz, kokusuz, suda yüksek çözünürlüğe sahip kristalimsi bir katıdır (12). Erime noktası $84,5^\circ\text{C}$, kaynama noktası (25 mmHg) 125°C 'dir (atmosfer basıncında $192,6^\circ\text{C}$) (13). AA'nın molekül yapısı Şekil 2.1'de görülmektedir.



Şekil 2.1. Akrilamid'in moleküler yapısı (14)

2.1.2 Gıdalarda akrilamid

AA, gıdalarda öncelikle glikoz ve fruktoz gibi indirgen şekerlerin, 120°C 'nin üzerindeki yüksek sıcaklıklarda ve düşük nemde asparajin gibi amino asitlerle reaksiyona girmesiyle ortaya çıkan Maillard reaksiyonu yoluyla oluşur. Kimyager John Hodge tarafından 1953'te detaylandırılan bu enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu, bir Schiff bazının oluşumuyla başlar ve daha sonra α -dikarboniller üretmek üzere reaksiyona giren Amadori ve Heyns-Carlson bileşikleri gibi çeşitli ara maddelere yol açar. Bu α -dikarboniller, serbest asparajin ile etkileşimler yoluyla aldehitler, Strecker α -aminoketonlar ve sonunda AA ile sonuçlanan oksidatif

reaksiyonlara girer. Ek olarak AA, lipid açısından zengin gıdalarda gliserolün akroleine dehidrasyonundan ve buğday gluteninin pirolizi sırasında alanin içeren peptidlerden de oluşabilmektedir. Bu mekanizmaların anlaşılmasına rağmen, gıda matrislerinin karmaşıklığı nedeniyle AA oluşumunun yolları henüz tam olarak tanımlanamamıştır (1, 11).

AA, oldukça reaktif doğası, karbonhidrat açısından zengin, termal olarak işlenmiş gıdalarda bulunması ve potansiyel sağlık riskleri nedeniyle önemli ölçüde endişe yaratmıştır. 1994 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından insanlar için potansiyel kanserojen, nörotoksik ve genotoksik olarak sınıflandırılan bu maddenin, yüksek sıcaklıklara maruz bırakılan gıdalarda bulunduğunu ilk kez bildiren kurum İsveç Ulusal Gıda İdaresi (SNFA) olmuştur (15). Birleşik Krallık, Amerika Birleşik Devletleri, Norveç, Almanya ve İsviçre dahil olmak üzere çeşitli ülkelerde yapılan daha sonraki araştırmalar, yüksek sıcaklıklarda pişirilen fırınlanmış ve kızartılmış yiyeceklerde AA'nın yaygınlığını doğruladı (16). Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi (JECFA) tarafından, özellikle 120°C'yi aşan sıcaklıklarda pişirilen karbonhidrat açısından zengin gıdaların; patates kızartması, cips, unlu mamüller, tatlı bisküvilerin ve kahvenin AA maruziyetine önemli katkıda bulunan diyetel kaynaklar olduğu belirtilmektedir (17).

2.2 Akrilamid ve Sağlık İlişkisi

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından "muhtemel insan kanserojeni" olarak sınıflandırılan AA, DNA hasarına yol açabilir ve böylece kanser riskini artırabilir (3). Hogervorst ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı çalışma, AA'nın DNA ile reaksiyona girebileceğini ve genetik mutasyonlara neden olabileceğini ortaya koymuştur, bu da çeşitli kanser türlerinin gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermektedir (18). Ayrıca, AA'nın nörotoksik etkileri de vardır (19). Schettgen ve arkadaşlarının 2003 yılındaki çalışmaları, AA maruziyetinin sinir sistemi üzerindeki potansiyel zararlarına dikkat çekmiştir; uzun süreli veya yüksek dozda AA maruziyeti, sinir hücrelerinde hasara ve işlev bozukluklarına yol açabilir (20). Bu durum, özellikle işlenmiş ve kızartılmış gıdaların tüketiminin yüksek olduğu

popülasyonlarda endişe verici olabilir. Ek olarak, AA'nın üreme sağlığı üzerindeki etkilerini araştıran bazı çalışmalar AA'nın hem erkeklerde hem de kadınlarda üreme fonksiyonları üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceğini öne sürmüştür (21). Özellikle, AA'nın sperm kalitesi üzerine etkileri ve kadınlarda hormonal dengesizliklere yol açma potansiyeli, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından önemli konulardır (21, 22).

Dünya çapında yapılan maruziyet araştırmalarına göre, bebeklerin, küçük çocukların ve diğer çocukların AA maruziyeti tipik olarak yetişkinlerden daha yüksektir (4, 23). Yenidoğan bebeklerin yüksek düzeyde AA maruziyetinin, gelişimsel ve bilişsel fonksiyonlar üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceği gösterilmiştir (24, 25). Bu bulgular, özellikle anne, yenidoğan ve çocukların beslenmesinde güvenli gıda tüketiminin önemini vurgulamaktadır.

2.2.1 Dokular ve kanser üzerindeki etkileri

AA, hücresel düzeyde DNA, proteinler ve diğer makromoleküllerle reaksiyona girebilir, bu da genetik mutasyonlara ve hücre ölümüne neden olabilir. Araştırmalar, AA'nın metabolitlerinden biri olan glikosidamidin, DNA üzerindeki doğrudan etkileri aracılığıyla mutajenik ve kanserojenik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (26). DNA ile kovalent bağlar oluşturarak, DNA diziliminde mutasyonlara ve dolayısıyla hücre döngüsü düzenlemesinde bozulmalara yol açabilir. Bu mutasyonlar, özellikle DNA tamir mekanizmaları yetersiz olduğunda, hücresel anormallikler ve kanser gelişimine zemin hazırlayabilir (27). Ayrıca, AA'nın sinir hücrelerinde oksidatif stresi artırdığı ve apoptotik hücre ölümüne neden olduğu gözlemlenmiştir (28). Oksidatif stres, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimiyle karakterize edilir ve bu durum, hücre içi lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasarına yol açar. Bu oksidatif hasar, özellikle uzun süreli maruziyetlerde, hücre yapılarının bozulması ve çeşitli kanser türlerinin gelişimine katkıda bulunabilir. AA'nın toksik etkileri, genetik hasar ve hücre ölümü yoluyla çeşitli dokuları etkileyebilir ve kanser dahil çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir (29-32).

2.2.2 Maternal akrilamid ve yenidoğan üzerindeki etkileri

Gebelik sırasında annelerin AA maruziyeti, yenidoğan sağlığı üzerinde potansiyel olarak ciddi etkilere sahip olabilir. AA'nın teratojenik (doğum kusurlarına neden olabilen) ve fetotoksik (fetüse zarar verebilen) özellikleri üzerine yapılan araştırmalar, bu kimyasalın plasenta yoluyla fetüse geçebileceğini ve gelişim sürecini olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir (33). Örneğin, Pedersen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, yüksek düzeyde diyetle alınan AA'nın fetal büyüme parametrelerini, özellikle baş çevresi ve doğum ağırlığını olumsuz etkilediği bulunmuştur (24). Bu bulgular, AA'nın nörolojik gelişimi etkileyebileceğine dair endişeleri artırmaktadır. Ayrıca, AA'nın epigenetik değişiklikler üzerindeki potansiyel etkileri de incelenmiştir. Duarte-Salles ve arkadaşlarının çalışması, anne karnındaki bebeklerde DNA metilasyonunda değişikliklere yol açabileceğini göstermiştir (34). DNA metilasyonu, gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve bu değişiklikler, çocukluk çağı hastalıkları ve uzun vadeli sağlık sorunlarının gelişimi ile bağlantılı olabilir. Annenin AA maruziyetinin, fetal gelişim üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğini ve yenidoğanın sağlığını uzun vadeli olarak etkileyebileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur (24, 34-37).

2.2.3 Nörotoksik etkileri

AA'nın nörotoksik etkileri, sinir sistemi üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle önemli bir sağlık endişesi oluşturmaktadır. AA, merkezi ve periferik sinir sistemlerinde nörolojik bozukluklara yol açabilir. LoPachin ve arkadaşlarının yaptığı araştırmalar, AA'nın nöronlarda sülfidril gruplarına kovalent olarak bağlanarak nöronal proteinlerin yapı ve işlevlerini bozduğunu göstermiştir (38). Bu protein modifikasyonları, sinir iletiminde kritik roller oynayan ve nörotransmitter salınımı gibi süreçlerde önemli olan proteinlerin işlev bozukluklarına neden olabilir. Ayrıca, AA'nın glutamat ve GABA gibi nörotransmitter sistemler üzerindeki etkileri, sinir hücrelerinin aşırı uyarılmasına ve sonuç olarak nörotoksositeye yol açabilir (39-41). AA'nın sinaptik plastisiteyi bozduğu ve böylece öğrenme ve hafıza gibi bilişsel

işlevleri olumsuz etkileyebileceği belirtilmiştir (42). Bu tür etkiler, özellikle kronik maruziyet durumlarında, nörodejeneratif hastalıkların gelişim riskini artırabilir (43).

Serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi, nöronal lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasarına yol açar (44). Bu oksidatif hasar, hücre ölümüne ve nörodejenerasyonun ilerlemesine katkıda bulunabilir. Sonuç olarak, AA'nın nörotoksik etkileri, sinir sistemi sağlığı üzerinde ciddi ve potansiyel olarak uzun vadeli etkilere sahiptir (7, 19, 45-47). Bu etkilerin anlaşılması, AA maruziyeti ve nörolojik hastalıklar arasındaki bağlantıları ortaya koymak ve mümkün olan en etkili koruyucu ve tedavi edici stratejileri geliştirmek için önemlidir.

2.2.4 Sporcu sağlığı

AA'nın antioksidan savunma sistemlerini zayıflatabileceği ve oksidatif stresi artırabileceği bilinmektedir (48, 49). Bu durum sporcular için önemlidir çünkü yoğun fiziksel aktivite sırasında artan oksidatif stres zaten mevcuttur (50, 51). Bu artmış oksidatif yük, sporcu sağlığı ve performansı için olumsuz sonuçlar doğurabilir, çünkü serbest radikallerin aşırı üretiminin, kas hasarına, yorgunluğa ve iyileşme süreçlerinin yavaşlamasına yol açtığı gösterilmiştir (52-54). AA'nın sağlık üzerindeki potansiyel negatif etkileri göz önüne alındığında; kronik AA maruziyeti sporcuların sağlığını ve performansını olumsuz yönde etkileyebilir.

Toplumda ve sporcularda AA maruziyetinin azaltılması yönünde politikaların geliştirilebilmesi için gıdaların AA içeriklerine dair bilgiler yetersizdir. Sporcuların sıklıkla tükettiği gıdaların AA içeriklerinin belirlenmesi bu anlamda yol gösterici olacaktır.

2.3 Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizması ve Yolları

Gıdalarda AA oluşumu, özellikle yüksek sıcaklıkta pişirme işlemleri sırasında gerçekleşen karmaşık kimyasal reaksiyonlar zinciri sonucunda meydana gelir (55, 56). Bu süreç, Maillard reaksiyonu olarak bilinen, glikoz ve fruktoz gibi indirgen şekerlerin

amino asitler ile (özellikle asparajin) girdiği reaksiyonlarından kaynaklanır. Maillard reaksiyonu, yüksek sıcaklıklarda (genellikle 120°C üzerinde) ve düşük nem koşullarında gıdaların pişirilmesi sırasında gerçekleşir. Maillard reaksiyonu AA gibi istenmeyen bileşiklerin yanı sıra lezzet, renk ve aroma gibi istenen duyuşsal özellikleri de oluşturur (57). Maillard reaksiyonunun ilk aşamasında, indirgen şekerler ve asparajin, Schiff bazı ile denge halinde olan N-glukozilasparajin kompleksini oluşturarak tepkimeye girer. Bu kompleks, ısıtıldığında yüksek miktarda AA üretir. Ayrıca, dekarboksile olan asparajin (3-aminopropionamid) ısıtıldığında, indirgen şeker olmaksızın da AA üretebilir. Asparajin ve indirgen şeker arasındaki başlangıç reaksiyonundan sonra Schiff bazı oluşur ve bu molekül, dekarboksilasyon yoluyla dekarboksile Amadori ürününe dönüşür. Bu aşamada, Amadori ürünü Strecker bozulması ile AA oluşturur (57-59). Ayrıca, lipidlerin termal bozulması sırasında oluşan asetil koenzim A'nın amino asitlerle reaksiyona girmesi sonucu da AA oluşabilir. Bu mekanizma, özellikle yağlı gıdaların yüksek sıcaklıkta pişirilmesi sırasında önem kazanır ve asetil koenzim A, asparajin ile reaksiyona girerek AA'nın oluşumuna katkıda bulunur (55).

2.3.1 Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu

Maillard reaksiyonu, birçok yiyeceğin görünümünü ve lezzetini geliştirmede kritik bir rol oynamaktadır. 1953 yılında Hodge, bu reaksiyonun genel sürecini açıklayan ilk tutarlı şemayı ortaya koymuştur. Bu şemaya göre, reaksiyonun erken aşamalarında glikoz gibi bir indirgeyici şeker, serbest amino gruplarına sahip bir bileşikle (örneğin, proteinlerde bulunan lizin amino asidinin ϵ -amino grubu veya terminal amino asitlerin α -amino grupları) yoğunlaşır (60). Bu tepkime sonucunda N-değiştirilmiş glikozilamin isimli yoğunlaşma ürünü oluşur ve ardından Amadori yeniden düzenleme ürününe (ARP) dönüşür. ARP'nin parçalanması, ortamın pH değerine bağlıdır. pH 7 veya daha düşük seviyelerde, özellikle pentozlar söz konusu olduğunda furfural, heksozlar varken hidroksimetilfurfural (HMF) üretimi ile 1,2-enolizasyon gerçekleşir. pH 7'nin üzerinde ise, ARP'nin çözülmesi genellikle 2,3-enolizasyon ile olur ve bu süreçte 4-hidroksi-5-metil-2,3-dihidrofuran-3-on (HMFon) gibi redüktönler ve asetol, piruvaldehit ve diasetil gibi çeşitli bölünme ürünleri

meydana gelir. Bu bileşikler oldukça reaktiftir ve karbonil grupları amino gruplarla yoğunlaşarak ürünlere nitrojen katılımını sağlar. Dikarbonil bileşikler, amino asitlerle reaksiyona girerek aldehit ve α -aminoketonlar oluşturur, bu süreç Strecker bozulması olarak adlandırılır. İleri aşamalarda ise, çeşitli reaksiyonlar gerçekleşir; bunlar arasında siklizasyonlar, dehidrasyonlar, retroaldolizasyonlar ve 13C etiketli şekerler kullanılarak yapılan deneyler bulunur. Bu süreçlerde 1-, 3- ve 4-deoksiheksosuloso gibi anahtar ara ürünler rol alır. Amadori ürünü ve yeniden düzenlemeler, izomerizasyonlar ve daha fazla yoğunlaşma süreçleri sonucunda, nihai aşamada melanoidinler olarak bilinen kahverengi azotlu polimerler ve ko-polimerler oluşur.(61).

2.3.2 Akrilamid oluşumu için alternatif yollar

Gıdalarda AA ağırlıklı olarak Maillard reaksiyonu yoluyla oluşmasına rağmen, başka birçok oluşum mekanizması da rapor edilmiştir. Akrolein ve akrilik asit, özellikle yağlar uygunsuz derecede yüksek sıcaklıkta ısıtıldığında, gliserolün dehidrasyonu ile AA oluşabilir. Amino asitlerin parçalanması sonucu amonyakla birlikte AA oluşabilmektedir (62). Ancak amonyum tuzları, yağlar ve akrolein ile yapılan deneyler, bu mekanizmanın gıda maddelerinde AA oluşumuyla alakasız olabileceğini göstermektedir (58, 63).

3-aminopropionamid ilk olarak asparajinden AA oluşumunda geçici bir ara ürün olarak tanımlanmış olsa da, aynı zamanda gıdalarda asparajinin enzimatik dekarboksilasyonu yoluyla da üretilebilir ve bir belirli reaksiyon koşulları altında AA oluşumu için çok güçlü bir öncüdür. Bu yolun gıda işleme sırasında oluşan toplam AA'ya katkısı tam olarak hala açıklığa kavuşturulamamıştır (59, 64, 65).

Isıtılmış etteki dipeptid karnosinden AA oluşumunu bildirilmiştir (66). Bu peptid, amino asitlerin Strecker bozunmasından kaynaklanan amonyum ile reaksiyona giren b-alanin'e hidrolize olur. Et ürünlerinde AA'nın hiç bulunmaması veya çok az bulunmasının nedeni, AA'nın toksikolojik etkileri henüz bilinmeyen metil türevlerini kolayca oluşturmasıdır.

Benzer bir oluşum mekanizması, peptitler kullanılarak yapılan bir model çalışmasında önerilmiş ve buğday glteni ve glüten takviyeli buğday ekmeği ruloları için doğrulanmıştır (67, 68). Anahtar amino asit, b-H atomlu bir amino asitin bitişiğindeki proteine bağlı alanidir. Bu tür proteinler ısıtılırsa, elektrosiklik bir domino reaksiyonu, AA ve diğer asit amidlerin oluşumuna yol açar; fenilalanin'den sinamik amid gibi. Bu mekanizma, Maillard reaksiyonuyla oluşan oluşumdan biraz daha yüksek sıcaklıklar gerektirir ve bu yolun unlu mamullerdeki toplam AA'ya katkısı hala tam olarak bilinmemektedir (69).

2.4 Gıda Kaynaklı Akrilamid Maruziyeti

AA, karbonhidrat açısından zengin gıdaların, özellikle de patates ve tahıl gibi bitki bileşenlerinden elde edilenlerin pişirilmesi ile oluşan bir kimyasaldır (70). Çiğ patates gibi doğal (ham) içeriklerde AA mevcut değildir. Karbonhidrat bakımından zengin gıdaların, kızartma, fırınlama, kavurma, ızgara yöntemleri ile 120°C (248°F) veya üstü olarak kabul edilen yüksek sıcaklıklarda pişirilmesi (ısııl işlem) sırasında oluşur. Patates ve tahıllar gibi bitki içeriklerinden elde edilen gıda ürünleri en yüksek miktarda AA içerme eğilimindedir. Bu ncelikle AA oluşumunda rol oynayan reaktanların (glikoz/fruktoz ve asparajin) doğal varlığından kaynaklanmaktadır. Et rnleri, bu gerekli reaktanların eksikliği nedeniyle çok az AA içerir veya hiç içermez (71, 72).

Diyet yoluyla AA'ya maruz kalmak, gıda ürünlerinin içerdiği AA miktarı ve tüketilen gıda miktarına bağlıdır. Bu yüzden, düşük AA içerikli bir ürün bile, kahve gibi, sık tüketildiğinde veya büyük miktarlarda alındığında, diyetle AA'ya maruz kalma açısından önemli bir faktör olabilir. AA kaynakları arasında, evde pişirilen, restoranlarda, ticari işletmelerde veya catering servislerinde sunulan gıdalar bulunmaktadır (73).

AA, dünya genelinde günlük diyetlerde sıkça tüketilen birçok farklı gıda maddesinde yer almaktadır. Diyet yoluyla AA'ya maruz kalmak yalnızca birkaç spesifik gıda ile sınırlı değildir; bu, daha geniş bir gıda meselesidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan tahminlere göre, AA içeren gıdalar toplam kalori alımının

%38'ini, alınan lifin %36'sını, karbonhidratların %33'ünü ve bazı mikro besinlerin %25'inden fazlasını oluşturur (74). Çeşitli gıdaların ve gıda gruplarının AA içeriği mikrogram kilogram başına ölçümleriyle Şekil 2.2.'de sunulmuştur. Bu veriler, Mills ve diğerleri (2009) ile Petersen ve Tran (2005) tarafından yapılan çalışmalardan alınmıştır (75).

Gıda ürünlerindeki AA içeriğinin raporlanmasını zorlaştıran en önemli sorun, bir ürünün kendi içinde (örneğin patates kızartması/cipsi) gözlemlenen değerler arasındaki farklılıklardır. Bu farklılıklar, aynı üreticinin farklı üretim süreçlerinde, farklı üreticiler arasında veya farklı hasat yıllarına ait aynı ürünlerde görülebilir. Bu değişkenlik, diyet yoluyla AA'ya maruziyet miktarının belirlenmesini zorlaştırır, bu da insan sağlığı üzerindeki olası olumsuz etkilerin daha detaylı değerlendirilmesi ve risk değerlendirmeleri için önemli bir faktördür (6, 76).

Gıdalardaki AA'nın keşfedilmesinden kısa bir süre sonra, bu maddeye ilişkin verilerin izlenmesinin ve toplanmasının önemi anlaşıldı. İzleme ve raporlandırma, gıdalardaki AA düzeylerini azaltma çabalarının etkinliğini değerlendirmek açısından önem arz etmektedir. Gıda endüstrisinde üretilen, işlenen ve evlerde hazırlanan yiyeceklerde AA oluşumunun, ve azaltmak amacıyla uygulanan yöntemlerin etkinliğinin değerlendirilmesi, AA maruziyetinin azaltılmasında uzun süreli regülasyonların ve çözümlerin geliştirilebilmesi açısından değerlidir (13, 55, 77-80).

Tablo 2.1. Farklı ürünlerde ve ürün gruplarında bildirilen AA miktarlarının özeti

Ürün/ürün grubu	Akrilamid aralığı (µg/kg)
Patates (çiğ)	<10–<50
Patates cipsi/cips	117–4,215
Patates kızartması	59–5,200
Unlu mamuller ve bisküviler	18–3,324
Ekmek	<10–3.200
Ekmek (tost)	25–1,430
Kahvaltılık tahıllar	<10–1.649
Diğer meyve ve sebze ürünleri	<10-70

Tablo 2.1. Farklı ürünlerde ve ürün gruplarında bildirilen AA miktarlarının özeti (devam)

Ürün/ürün grubu	Akrilamid aralığı (µg/kg)
Çikolata ürünleri	<2-826
Kavrulmuş kahve	45-935
Kahve yerine geçen ürünler	80-5,399
Kahve özü/tozu	87-1,188
Et ve Et ürünleri	<10-116
Süt ürünleri	<10-100
Bebek maması	<10-130

Kaynak: Mills ve arkadaşları. (2009) ve Petersen & Tran (2005).

2.4.1 Kahve ve ikame ürünleri

Kahve, duyuşsal özellikleri, kafeinin uyarıcı etkisi ve biyoaktif bileşenlerin varlığı, insan sağlığına faydaları nedeniyle tercih edilen dünyanın en popüler içeceklerinden biridir (80-82). Etiyopya'da keşfedilmesinden bu yana kahve, hem yeni işleme sistemleri hem de yeni tüketim biçimlerinin de geliştirilmesiyle insanlık tarihinde önemli bir rol oynamıştır (83).

Özellikle kavurma, nihai kahve ürününün ana kimyasal, fiziksel ve organoleptik özelliklerin yanı sıra biyoaktif ve antioksidan bileşiklerin geliştirilmesinden sorumlu olan en önemli işlemdir (84-86). Bununla birlikte, bu termal süreç, esas olarak asparajin ile glikoz ve fruktoz gibi indirgeyici şekerler arasındaki Maillard reaksiyonunun bir sonucu olarak, yüksek sıcaklıklarda AA dahil olmak üzere istenmeyen toksik bileşenlerin oluşumuna neden olur (84, 87, 88).

Kahvenin hazırlanmasındaki tüm aşamaların (hammadde seçimi, kavurma, depolama ve demleme koşulları) üründeki nihai AA seviyeleri üzerinde önemli rol oynayabildiği bilinmektedir (89).

Kahveden AA'ya maruz kalmanın, toplam diyetle AA maruziyetine önemli ölçüde katkıda bulunduğu bulunmuştur. İsveç'te, kahveden alınan ortalama AA

alımının 12 µg/gün olduğu tahmin edilmektedir; bu, 31 µg/gün'lük toplam diyet alımının ~%39'udur (90). Svensson'un sonuçları, 25 µg/L AA içeren iki içime hazır kahve örneğine dayanıyordu ve dünya çapındaki diğer sonuçlarla karşılaştırıldığında bunların üst aralıkta olduğu sonucuna vardı. Dybing ve Sanner, Norveç'teki AA konsantrasyonlarını filtre kahvede 25 µg/L ve hazır kahvede 10 µg/L olarak bildirdi (91). Kahveden alınan ortalama AA alımının, erkeklerde toplam 38 µg/gün miktarının %28'ine, kadınlarda ise toplam 29 µg/gün miktarının %29'una katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir. İsviçre'de 14 erkek ve 13 kadının diyetindeki AA'nın toplam diyet çalışması, kahvenin toplam AA alımının %36'sına katkıda bulunduğunu gösterdi (92). Son zamanlarda ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), demlenmiş kahvede AA seviyelerinin 6 ila 16 µg/L arasında olduğunu bildirdi (93).

2.4.2 Patates ürünleri

AA çiğ patates yumrularında ve haşlanmış veya buharda pişirilmiş patateslerde mevcut değildir (94). AA, kızartma, fırınlama, kavurma ve bazı durumlarda mikrodalgada pişirme gibi yüksek sıcaklıklarda oluşur (95). AA oluşumunun Maillard reaksiyonunun bir yan ürünü olarak başladığı konusunda genel bir fikir birliği vardır (2, 57). Maillard reaksiyonu, patates endüstrisinde kabul edilemeyecek kadar koyu renkli cips ve patates kızartmasına yol açan melanoidin pigmentlerinin varlığı nedeniyle patates endüstrisinde iyi bilinmektedir (96, 97).

Derin yağda kızartma, bir gıda ürününün, suyun kaynama noktasının üzerinde ısıtılan yenilebilir sıvı veya katı yağa batırılması olarak tanımlanır ve bu nedenle bir dehidrasyon işlemi olarak kabul edilebilir (98). Bu koşullar yüksek ısı transfer hızlarına, hızlı pişirmeye, esmerleşmeye, doku ve lezzet gelişimine yol açar. Kızartılmış patateslerde arzu edilen duyuşal özelliklerin gelişmesinden büyük ölçüde yüksek ısı transfer oranları sorumludur (99).

Patates doğal olarak büyük miktarlarda serbest asparajin ve indirgeyici şekerler içerdiğinden, patates kızartması, patates cipsi, fırınlanmış patates ve kumpir gibi kızartılmış ve fırında pişirilmiş patates ürünleri, gıdalardaki en yüksek AA içeriğini

gösterir, bazen 3000 µg/kg miktarını aşabilir (100-104). Bu ürünlerin AA içeriğini azaltmak için çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır: kızartma işlemi optimize edilmiş ve sıkı bir şekilde kontrol edilmiştir; sitrik asit eklenmiştir; ve asparaginaz enzimi uygulanmıştır (105-107). Ancak pratikte, ısıtılan patates ürünlerinde AA oluşumunu sınırlamaya yönelik her türlü teknolojik çaba, eğer ham madde uygun değilse boşa çıkar. Glikoz ve fruktoz konsantrasyonu, patateslerde AA oluşumunu büyük ölçüde belirler ve şeker içeriğini azaltacak şekilde hammaddenin uygun seçimi, AA içeriğini azaltmak için çok önemlidir (62, 100, 105, 108). Bu nedenle, ham maddenin bileşimi ile hasat ve depolamanın etkisine ilişkin ayrıntılı bilgi temel önemdedir.

2.4.3 Tahıl ürünleri

AA miktarı tahıl bazlı gıdalarda; serbest asparajin, glikoz, fruktoz ve maltoz gibi öncülerin seviyelerine, gıdanın yapısına ve uygulanan ısı işleminin türü ile yoğunluğuna göre değişiklik göstermektedir. Tahıl ürünlerinde AA oluşumunda indirgeyici şekerlere kıyasla asparajinin daha belirleyici bir faktör olduğu bulunmuştur (109). Tahıl tanelerindeki asparajin konsantrasyonu, tahılın türüne, tarımsal uygulamalara ve çevre koşullarına bağlı olarak büyük ölçüde değişir. Buğdaydaki asparajin miktarının 61,6 ile 480,6 mg/kg arasında değiştiği; mısırdaki (189,7-470,5 mg/kg) ve arpada (297,0 mg/kg) benzer düzeylerde olduğu, çavdarda (603,2 mg/kg) ve yulafta (859,8 mg/kg) ise daha yüksek miktarlarda olduğu bildirilmiştir (110). Besin matrisi su dağılımını ve dolayısıyla meydana gelen reaksiyonların boyutunu etkiler. Matristeki düşük nem, reaktanların çözünürlüğünü azaltır ve hareketliliklerini sınırlandırarak AA oluşumunun reaksiyon hızını azaltır. Tariflerin veya işleme koşullarının değiştirilmesinin, nihai ürünün AA seviyelerinde önemli değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Bu moleküllerin bağıl konsantrasyonu ve standart reçetede ki sıcaklık, uygulanan ısı yoğunluğu, su aktivitesi gibi faktörler, ürünün nihai AA konsantrasyonunu etkilemektedir (9, 110).

Tahıl bazlı gıda ürünleri, tarife ve uygulanan ısı işlemin kapsamına göre bitmiş gıdanın tipolojisinde önemli farklılıklar gösteren geniş bir gıda kategorisini içermektedir. Günümüzde beslenmenin açlık gidermekten ziyade keyif amaçlı

yapılması ve sağlık trendleri gibi beslenme tercihlerini etkileyen gelişmeler, alternatif içerikli, yenilikçi formülasyonların tüketiciden daha fazla tercih edilmesine neden olmuştur. Bu duruma bir örnek; şeker ve yağlardan yapılan geleneksel buğday unu biskvisinin, farklı tahıllarla karıştırılmış veya yeni ortaya çıkan tahıllar, pseudo tahıllar veya yağlı tohumlar gibi diğer bileşenleri içeren yeni tariflere evrildiği, tüketicilere düşük maliyetli, daha az şeker içeren, glütensiz, yüksek lifli veya mineral bakımından zenginleştirilmiş ürünler sunan bisküvi sektöründe açıkça görülmektedir (111-114).

Tarif optimizasyonu, AA seviyelerinin kontrolü için önemli bir faktördür, nk pişirme öncesinde AA oluşturan bileşiklerin varlığını modüle edecektir. Bununla birlikte, beslenme profilini geliştirmeyi amaçlayan yeni bileşenlerin eklenmesiyle geleneksel tahıl bazlı tariflerin yeniden formüle edilmesine yönelik stratejilerde, AA oluşumu üzerindeki etkinin dikkate alınması gerekmektedir. Örneğin, tam tahılların eklenmesi, rafine tahıllarla formüle edilenlerle karışlaştırıldığında tahıl bazlı gıdalardaki AA içeriğini önemli lde artırır nk tam tahıllı un, fırıncılık formülasyonuna daha fazla asparajin katar (115). Bununla birlikte, diyet lifleri, mineraller, vitaminler ve fenolik bileşikler gibi sağlığa faydalı bileşikler, rafine edilmiş tahılların aksine tam tahılın kepeğinde ve alronunda yoğunlaşmıştır. Azaltma stratejisi olarak tam tahıl kullanımının sınırlandırılması, diyet lifi alımını artırma ve daha sağlıklı beslenme profillerinin desteklenmesi ihtiyacıyla bağlantılı olarak tam tahıl tüketimini teşvik eden beslenme kılavuzlarıyla çelişmektedir. Bu nedenle proses kirleticileri açısından bir risk/fayda değerlendirmesine ihtiyaç vardır (116, 117).

2.5 Akrlamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Günümüze kadar yapılan çalışmalar gıdalarda AA oluşumunu etkileyen bir çok faktöre değinmiştir. Etkisi araştırılan bu faktörler arasında sıklıkla; gıdanın bileşimi, indirgen şeker, asparajin konsantrasyonu, protein, amino asit içeriği ve ilavesi, pişirme süresi ve sıcaklığı, reçeteye karbondhidrat ilavesi, antioksidanların katılması, pH ve nem etkileri vardır (13, 79).

2.5.1 İndirgen şeker bileşiminin etkileri

Nişasta ve şekerler, 100°C üzeri sıcaklıklarda ve hafif asidik ortamda parçalanır. Bu durum, ısıtma işlemleri sırasında genellikle kompleks karbonhidratların monosakkaritlere dönüşmesine neden olur. Pişirme işlemi sırasında bu şekilde oluşan monosakkaritler, asparajin ile reaksiyona girer ve AA üretir (2, 58, 70, 97). Bazı çalışmalarda, gıdalarda bulunan AA miktarı, glikoz ve früktoz seviyeleriyle doğru orantılı olup, glikozun AA oluşumunda özellikle etkili olduğu, fruktozun ise glikoza kıyasla daha az etkili olduğu rapor edilmiştir (118, 119). Ayrıca gıdalardaki fruktoz ve glikoz miktarının azaltılmasının veya sakkaroz ile değiştirilmesinin AA seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (63, 120). Claeys ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları araştırma, 140°C ve 200°C sıcaklıklarda, asparajin ve çeşitli şekerlerden (glikoz, früktoz, sakkaroz) oluşan model sistemlerde AA oluşumunu incelemiştir. Bu çalışmada, asparajin ve glikoz içeren sistemde AA en hızlı, asparajin ve sakkaroz içeren sistemde ise en az oluşmuştur (121).

Biederman ve Grob'un 2003'teki çalışması, ısıtılan patatese %3'e kadar şeker (glikoz veya früktoz) eklenmesinin AA oluşumunu artırdığını, %3'ü aşan eklemelerin ise AA oluşumunu azalttığını ya da oluşum hızını düşürdüğünü belirtmiştir. Aynı zamanda, unda ya da kurutulmuş patatesteki früktozun, glikoza göre AA oluşumunu daha fazla artırdığı tespit edilmiştir (100, 108). Knol ve arkadaşlarının 2010 yılındaki çalışmaları da, asparajin ve früktoz içeren model sistemde früktoz oranı arttıkça AA oluşumunun arttığını göstermiştir (122).

2.5.2 Sıcaklık ve ısıtma süresinin etkileri

Bugüne kadar çok sayıda çalışma, sıcaklığın AA oluşumu üzerindeki etkisini belgelemiştir (2, 57, 79, 103, 119). Örneğin, Rydberg ve diğerleri (2003) tarafından yapılan çalışmalarda, patates şeritlerindeki AA miktarının belirli bir fırın sıcaklığında (200°C gibi) zamanla hızla arttığı, daha sonra ise uzun süreli ısıtma sonucu AA düzeylerinin düştüğü gözlenmiştir (79). Bu azalmanın nedeni, AA'nın bozunmasının (basit model sistemlerde de görülen bir süreç) öne çıkmasıdır (57, 123).

Patates püresinin AA oluşumu mikrodalga fırında analiz edilmiştir ve ısıtma süresinin 100 saniyeden 150 saniyeye çıkarılmasıyla AA miktarındaki artışın 140 katına çıktığı tespit edilmiştir, bu durum numunenin pirolizinin AA oluşumunu teşvik ettiğini göstermektedir. Patates kızartmasının farklı sıcaklıklarda (220°C'ye kadar) ve 15 dakikalık bir süre içinde fırında ısıtılması sırasında ağırlık kaybının düzeltilmiş ve düzeltilmemiş olarak AA içeriğine etkilerini göstermektedir (79, 102).

2.5.3 Protein açısından zengin bileşenlerin ilavesinin etkileri

Balık etinin yağsız patates örneklerine eklenmesi, ısıtılmış sığır ve balık ürünlerinde gözlemlenen düşük AA seviyelerinin, proteinlerle ilişkili reaksiyonların sonucu olabileceğini değerlendirmek için yapılmıştır. Bu bağlamda, rendelenmiş patates morina etiyle çeşitli oranlarda (%0 - 100) karıştırılarak köfteler hazırlanmış ve bu köfteler tavada ya da fırında pişirilmiştir. Yapılan deneyler, patates ve balık eşit oranlarda kullanıldığında AA seviyesinde %70 gibi önemli bir düşüş olduğunu göstermiş, bu azalma saf patates ve saf balıkta ölçülen AA miktarlarının doğrusal bir ilişkisinden daha fazla olmuştur. Bu bulgular, proteinlerin, örneğin amino asit yan zincirlerindeki nükleofilik gruplar (-SH, -NH₂) ile reaksiyona girerek AA'yı nötralize etme yoluyla koruyucu bir rol oynayabileceğini öne sürmüştür (79, 124).

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında; gıdanın protein içeriğinin artırılmasının AA oluşumunu azaltıcı etkisi olabileceğine dair sonuçlar vardır. Bu etkilerin anlaşılmasında amino asit profilinin ve asparajin içeriğinin daha belirleyici olduğu belirtilmektedir (56, 118).

2.5.4 Amino asit ilavesinin etkileri

Gıdalardaki serbest asparajin miktarının yüksek olması AA üretimini artırır. Çeşitli çalışmalar, asparajinin AA oluşumunda indirgen şekerlere kıyasla daha belirgin bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (59, 78, 125, 126).

Farklı amino asitlerin dahil edilmesinden etkilenen AA ve pirazin oluşumunun araştırıldığı bir çalışmanın verilerine göre; glisin ve sistein haricindeki asparajine eşmolar konsantrasyonda eklenen amino asitler, AA oluşum hızını artırmıştır. Artan amino asit konsantrasyonlarında çeşitli etkiler gözlenmiştir. AA oluşumunun başlangıç oranları valin, alanin, fenilalanin, triptofan, glutamin ve lösin için yüksek kalırken, prolin, triptofan, glisin ve sistein 160°C'de 60 dakika ısıtmanın ardından AA oluşumu açısından önemli bir hafifletici etki göstermiştir. İkincil amin içeren amino asitler; prolin ve triptofan, 60 dakikalık ısıtmanın ardından AA üzerinde en derin hafifletici etkiye sahipti (127).

Başka bir çalışmaya göre; düşük nem ortamında, eşit molar oranlarda asparajin ve glukoz içeren model sistemlerde, 120 ve 200°C sıcaklıklarında AA'nın oluşumu ve yok edilmesi üzerine glutamin ve sistein etkileri incelenmiştir. Araştırmada, glutamin eklenmesinin AA oluşumunu hafifçe artırdığı, ancak AA oluşum ve yok olma reaksiyonlarının hız sabitlerini önemli derecede yükselttiği bulunmuştur. Öte yandan, sisteinin AA oluşumunu azalttığı gözlemlenmiştir (128, 129).

2.5.5 Karbonhidrat ilavesinin etkileri

Dondurulmuş homojenize patates sistemine 35 mM glikozun eklenmesi, model sistemlerdeki bulgularla uyumlu olarak net AA içeriğini (%160 oranında) artırmıştır. Şaşırtıcı bir şekilde, bu artış 140 mM glukozda oldukça düşüktü (+%41). 35 mM'de fruktoz eklenmesi daha da büyük bir yükselmeye (+%460) neden oldu, bu etki daha yüksek konsantrasyonda (+%420) yine zayıfladı. Bu patates numunesindeki endojen serbest glikoz ve fruktoz içerikleri sırasıyla 21 ve 2,8 mM bulunmuştur. Böylece burada yapılan eklemeler glikoz seviyesinde 3 ve 8 kat, fruktoz seviyesinde ise 14 ve 50 kat artışlara karşılık gelmektedir. 15 ve 45 mM konsantrasyonlarda gliseraldehit ilavesi de AA içeriğinde orta derecede bir artışa (yaklaşık %60) yol açmıştır. Ayrıca 35 mM glikoz 6-fosfat, bu içeriği yaklaşık 35 mM glikoz ile aynı düzeye kadar artırmıştır (2, 57, 59, 62).

2.5.6 pH ve gıda neminin etkileri

Isıtma sonrasında homojenleştirilmiş patatesin AA içeriği üzerindeki pH değişikliklerinin etkileri de araştırılmıştır. HCl, askorbik asit veya sitrik asit ilavesiyle daha düşük pH değerleri elde edildi; NaOH eklenerek pH yükseltildi. AA içeriğinin pH'nın bir fonksiyonu olarak grafiğinin çizilmesi, yaklaşık pH 8'de bir maksimum değer ortaya çıkardı (79). Isıtmadan önce bu numunelere eklenen AA'nın geri kazanımı, daha düşük pH'larda azaldı, bu bileşiğin asitleştirilmiş matrislerde daha hızlı bozunduğunu gösterir. Bu etkiye muhtemelen oluşum oranındaki bir azalma eşlik etmektedir. Bu numunelerin pH'nın ısıtmadan önce ortam sıcaklığında ölçüldüğüne dikkat edilmelidir. Gıdaların pH'ını değiştiren katkı maddelerinin AA içeriği üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla homojenize edilmiş patatese, fırında ısıtmadan önce sitrik asit eklenmiştir. Bu eklemenin etkileri, HCl ile asitleştirme sonrasında gözlemlenenlere benziyordu (veriler gösterilmemiştir). Bu deneylerin sonuçları, bireysel yumrular ve patates partileri arasında farklılık gösterebilen numune pH'nın kontrol edilmesinin önemini vurgulamaktadır. Bu, özellikle pH'ı değiştirebilecek eklemeler yapıldığında önemlidir. Bu nedenle burada incelenen katkı maddeleri (örneğin amino asitler) mümkün olduğunca nötr formda kullanıldı (130).

2.5.7 Antioksidanların, oksidanların ve radikallerin etkisi

Askorbik asidin, bozunma ürünlerinin amino asitler ve peptitlerle reaksiyona girdiği ve esmerleşmeyi önlediği maillard reaksiyonunda indirgeyici bir şeker gibi davrandığı gösterilmiştir (131-133). Fırında ısıtılan patates örneklerinin AA içeriğine antioksidanların etkisini incelemek amacıyla bu örnekler gıda katkı maddesi olarak kabul edilen iki antioksidan eklenmiştir. Moleküllerin polaritesinin olası etkisi, lipofilik askorbil palmitatın ve hidrofilik sodyum askorbatın etkileri karşılaştırılarak aydınlatılmıştır. Test edilen en düşük konsantrasyonda (1,51 mM), bu antioksidanların her ikisi de AA içeriğinde tahmin edilen hatayı aşan hafif bir artışa neden oldu. Hidrojen peroksitin (hem oksidan hem de radikal başlatıcı olan) ve benzoil peroksitin (radikal başlatıcı) etkileri de incelenmiştir. 1 mmol/g benzoil peroksit (=1) varlığında AA içeriğinde olası bir gerçek artış (+%46) elde edilirken, 4 mmol/kg ilavesinin etkisi

tahmin edilen hata aralığındaydı. Ayrıca, artan konsantrasyonlarda hidrojen peroksit eklenmesi, ısıtmanın ardından gözlemlenen AA içeriğini değiştirmedir. Bu bulgular, peroksidasyonun veya serbest radikal oluşumunun (kızartma yağlarının yokluğunda) ısıtma ile ilişkili AA oluşumunda önemli bir rol oynamadığını göstermektedir (134).

Unlu mamullerdeki oksidatif süreçlerle olası bir bağlantı, antioksidanların unlu mamullerdeki AA oluşumu üzerindeki etkilerine ilişkin çeşitli çalışmalara yol açmıştır (135). Askorbil palmitat, sodyum askorbat, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), E vitamini, sesamol gibi antioksidanların, kekik, kızılıcık, biberiye, kimyon, anason, yeşil çay, zerdeçal, zencefil gibi çeşitli baharat ve bitki özlerinden elde edilen antioksidanların etkileri üzerine farklı çalışmalarla gıda maddelerinde AA'yı azaltıcı etkiler rapor edilmiştir (135-140). Günümüzde tüketicilerin koruyucu madde içermeyen doğal gıdalar talep etmesi nedeniyle, unlu mamuller de dahil olmak üzere gıda ürünlerinde baharat ve bitki ekstraktlarından elde edilen doğal antioksidanların, bu gıdalardaki AA oluşumunu azaltmak amacıyla kullanılmasına yönelik artan bir eğilim vardır.

2.6 Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Azaltma Yöntemleri

AA miktarını sınırlamak amacıyla önerilen ve test edilen birçok azaltma stratejisi bulunmaktadır. Bu stratejiler bazı adımları içermektedir. Gıda üretim sürecindeki prosedür değişiklikleri, AA oluşumunu azaltmada etkili olabilir. Örneğin, pişirme süresini veya sıcaklığını azaltmak veya kullanılan öncü maddeleri değiştirmek gibi prosedürel değişiklikler AA miktarını azaltabilir (141).

AA oluşumunun azaltılması için bir diğer yöntem ise gıdaların kızartma veya pişirme süreçlerindeki sıcaklık-zaman profillerinin değiştirilmesidir. Daha düşük sıcaklıkta daha kısa süre pişirme veya kızartma gibi yöntemler kullanılabilir.

Bazı gıdaların fermantasyon süreleri uzatılarak AA oluşumu azaltılabilir. Uzun fermantasyon süreleri, bazı reaksiyonların tamamlanmasını sağlayarak AA oluşumunu engelleyebilir. Bu azaltma stratejileri, AA miktarını sınırlamak amacıyla çeşitli gıda

endüstrilerinde kullanılmaktadır (142). Bununla birlikte, her gıda maddesi için etkili olan stratejiler farklılık gösterebilir ve spesifik gıda ve proses koşulları dikkate alınması gerekmektedir.

2.6.1 Asparaginaz kullanımı

Asparaginaz kullanımı AA oluşumunu azaltmaya yönelik diğer bir stratejidir. Asparaginaz enzimi, gıdalardaki asparajin amino asidini aspartik asite dönüştürerek AA oluşumunu engelleyebilir (143). Asparajinaz enzimi genellikle unlu mamuller, patates ve kahve gibi AA oluşumu yüksek olan gıdalarda kullanılmaktadır. Asparajinaz enzimi, işlenmiş gıda üretiminin erken aşamalarında (örneğin hamuru hazırlama veya patates işleme) kullanılabilir (90).

Asparajinaz kullanımı, AA oluşumunu önlemekte etkili bir yöntem olmasına rağmen, her gıda maddesi ve üretim süreci için etkinliği farklılık gösterebilir. Bu nedenle, AA oluşumu yüksek olan gıdaların üretimi sırasında asparajinaz kullanımı üzerine yapılan çalışmalara ve rehberliklere uygun olarak doğru dozaj ve sürelerin belirlenmesi önemlidir (57, 90).

2.6.2 Çok değerlikli katyonların kullanımı

Kalsiyum (Ca^{2+}) ve magnezyum (Mg^{2+}) gibi iki değerlikli katyonların, sodyum (Na^{+}) ve potasyum (K^{+}) gibi tek değerlikli katyonlara göre AA oluşumunu daha etkili bir şekilde azalttığını göstermiştir. İki değerlikli katyonların varlığı, maillard reaksiyonuna katılan reaktif maddelerin aktivitesini düşürerek AA oluşumunu engelleyebilir (143, 144).

2.6.3 Amonyum bikarbonatın değiştirilmesi

Amonyum bikarbonatın kullanıldığı endüstriyel pişirme denemelerinde AA oluşumunun arttığı bulunmuştur. Özellikle tam buğday unu içeren ürünlerde amonyum bikarbonat kullanımıyla AA miktarında bir artış gözlenmiştir. Bu tespitler, amin

bileşikleri (amino asitler, proteinler) ile karbonhidratlar arasındaki reaksiyonların AA oluşumunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Amonyum bikarbonatın içerdiği amonyak, amin bileşikleri ile reaksiyona girerek AA'nın oluşumunu teşvik edebilir. Gıdalardaki amonyum bikarbonat bileşenin yapısının değiştirilmesi AA oluşumunu azaltacak yöntemler arasındadır (145).

2.6.4 Antioksidanların kullanımı

Antioksidanlar, serbest radikallerin olumsuz etkilerini nötralize ederek veya azaltarak çalışır. Bu bileşikler, serbest radikallerle reaksiyona girerek onları stabilize eder veya oksijen molekülleri arasında elektron transferini engeller. Antioksidanlar, hücre hasarını azaltmaya, bağışıklık sistemini desteklemeye, yaşlanma sürecini yavaşlatmaya ve çeşitli hastalıkların riskini azaltmaya yardımcı olabilir. Antioksidanlar, AA oluşumunu engellemedeki etkilerini çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştirir (146).

Antioksidanlar, serbest radikalleri yakalayarak ve stabilizasyonunu sağlayarak oksidatif stresi azaltır. AA oluşumu, oksidatif koşullar altında gerçekleşir.

Antioksidanlar, birçok karbonil bileşiği ($>C=O$) ile reaksiyona girerek stabil kompleksler oluşturabilir. Bu kompleksler, karbonil bileşiklerin AA ile reaksiyona girmesini önleyerek AA oluşumunu engelleyebilir (144, 146). Maillard reaksiyonunda rol alan reaktif ön maddelerin (örneğin şekerler ve amino asitler) yapısını ve reaktivitesini değiştirerek AA oluşumunu azaltabilirler. Bu, AA'nın oluşumuna katkıda bulunan reaksiyon yollarını etkileyerek ön maddeleri AA oluşumundan koruyabilir.

Farklı kimyasal reaksiyonların etkisini değiştirme de antioksidanların AA üzerine etkilerinden biridir. Maillard reaksiyonunda AA oluşumuna yol açabilen bazı ara ürünlerin oluşumunu ya da etkisini değiştirebilir. Örneğin, antioksidanlar, AA'nın ana kaynağı olan glisidimilimidin ve metilglioksalin oluşumunu azaltabilir. Genel olarak, antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek oksidatif stresi azaltır, reaktif

karbonil bileşiklerin oluşmasını engeller, Maillard reaksiyonundaki ön maddelerin reaktifliğini değiştirir veya reaksiyon koşullarını etkileyerek AA oluşumunu engeller. Bu mekanizmaların kombinasyonu, antioksidanların AA oluşumunu engellemedeki etkisini açıklamaktadır (146).

2.6.4.1 Aronya

Aronya, bilimsel adıyla *Aronia melanocarpa* veya *Aronia mitschurinii* olan bir bitki türüdür. Aronya, Rosaceae (Gül ailesi) familyasından gelir ve ormanlarda doğal olarak yetişebilen bir meyve bitkisidir. Aronya meyveleri antioksidan açısından zengin bir içeriğe sahiptir. Bu meyveler, antosiyaninler, flavonoidler, polifenoller ve C vitamini gibi birçok farklı antioksidan bileşiği içerir. Aronya meyvelerinin özellikle antosiyanin bakımından zengin olması dikkat çekicidir. Antosiyaninler, bitkilerde renk pigmenti olarak görev yaparlar ve güçlü antioksidan özelliklere sahiptirler. Aynı zamanda flavonoidler ve polifenoller de antioksidan aktiviteye sahiptir ve hücrel oksidatif stresi azaltmaya yardımcı olabilirler (147).

Yüksek antioksidan içeriği nedeniyle, aronya meyvesinin sağlık açısından yararları oldukça fazladır. Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu hücrel hasarı önleyebilir ve vücudun bağışıklık sisteminin desteklenmesine yardımcı olabilir. Bu nedenle, aronya, anti-aging, kardiyovasküler sağlık, bağışıklık sistemi güçlendirme, kanser riskini azaltma gibi birçok potansiyel sağlık faydalarıyla ilişkilendirilmiştir. Ancak, aronya meyvelerinin antioksidan içeriği, meyvenin taze, dondurulmuş veya kurutulmuş olmasına, yetiştirme koşullarına ve bitkinin genotipine bağlı olarak değişebilir (148). Dolayısıyla, antioksidan etkilerinden en yüksek şekilde faydalanabilmek için taze ve olgun aronya meyvelerinin tüketilmesi tavsiye edilir.

2.6.4.2 Antioksidan analizi

Antioksidan analizi, besin veya diğer hammaddelerdeki antioksidan içeriğinin belirlenmesini hedefleyen bir analiz yöntemidir. Antioksidanlar, hücrelerdeki serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruma sağlayan bileşiklerdir. Bu nedenle,

antioksidan analizi, besinlerin veya diğer ürünlerin sağlık faydalarını ve oksidatif stres ile ilişkisini anlamak için önemlidir. Antioksidan analizi yapmak için birçok farklı yöntem mevcuttur. Bunlar arasında 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) gibi reaktif maddelerin kullanıldığı spektrofotometrik yöntemler, çelik topların öğütülmesi ile çözeltiye ekstraksiyon ve ardından yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz gibi yöntemler bulunur (146, 149).

Spektrofotometrik yöntemlerden biri olan DPPH yöntemi, antioksidan aktivitenin belirlenmesinde sıkça kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde, DPPH serbest radikal ajanı ile analiz edilen örnekteki antioksidanlar arasındaki reaksiyon ölçülür. Antioksidanlar, DPPH radikalleriyle etkileşime girerek renk değişikliğine neden olur ve bu değişiklik spektrofotometrik olarak ölçülerek antioksidan aktivite miktarı belirlenebilir.

HPLC, antioksidanlar gibi bileşiklerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir analiz yöntemidir. Bu yöntemde, örnekteki antioksidan bileşiklerin ayrışması ve tespiti için yüksek basınç altında bir mobil faz (çözgen) kullanılarak ayrı bir sütun üzerinden geçirilir. HPLC, farklı bileşikleri hassas bir şekilde ayırarak ve belirli bir dalgaboyunda değerlendirerek antioksidan bileşiklerin miktarını belirleme imkanı sağlar. Bu yöntem, bileşiklerin analiz edilmesi ve konsantrasyonlarının hesaplanması için güvenilir bir yol sunar. Antioksidan analizi, besin endüstrisinde ürünlerin kalite kontrolünde, besin değeri değerlendirmesinde, takviye edici gıda üretiminde ve ilaç geliştirme süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu analizler, antioksidan içeriği yüksek olan ürünlerin tespit edilmesine ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin daha fazla araştırılmasına olanak tanır (150).

2.6.4.3 Antioksidan analiz yöntemleri

Antioksidan analiz yöntemleri, antioksidan bileşiklerin varlığını ve aktivitesini belirlemek için kullanılan çeşitli teknikler içerir. Bu yöntemlerden bazıları şunlardır ; Spektrofotometri, HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi), ORAC (Oksijen

Radikal Emme Kapasitesi), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (143, 149, 150).

Spektrofotometri yöntemiyle antioksidan aktivitesi, bir maddeye etki eden iyonlar veya radikaller tarafından oluşturulan renk değişiklikleri veya emilim ölçülerek belirlenebilir. Örneğin, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) veya serbest radikal salınımı üzerine etkisi olan diğer bileşiklerin absorbansını ölçmek amacıyla kullanılabilir (151).

HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) yönteminde, antioksidan bileşiklerin konsantrasyonlarını belirlemek için örnek içindeki bileşiklerin kimyasal özelliklerine dayalı olarak tespit edilir. HPLC ayrıca antioksidan aktiviteyi ölçmek için bazı dedektörlerle birlikte kullanılabilir (150, 151).

ORAC (Oksijen Radikal Emme Kapasitesi) yöntemi, antioksidan bileşiklerin serbest radikallere karşı oksidatif koruma kapasitesini ölçer. Bu yöntemde, bir oksidasyon reaksiyonu tetiklenir ve antioksidanların ne kadar serbest radikal yakalayabildiği belirlenir.

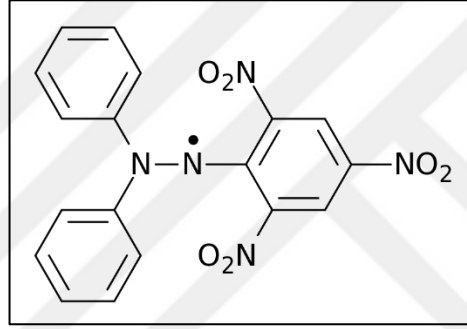
FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) yöntemi antioksidanların demir (Fe^{3+}) ile redüksiyon kapasitesini ölçer. Antioksidanlar, indirgeme yetenekleriyle Fe^{3+} iyonlarını Fe^{2+} iyonlarına dönüştürerek redüktör olarak davranır.

TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) yöntemi, antioksidanların Trolox (bir E vitamini analogu) eşdeğer antioksidan kapasitesini ölçer. Ortamda bulunan bir radikal türü ile antioksidanlar arasındaki redoks tepkimesini değerlendirir.

Bu yöntemlerin her biri farklı prensiplere dayanır ve farklı antioksidanlarla uyumlu olabilir. Her bir yöntemin avantajları ve dezavantajları vardır ve belirli bir örneğin veya bileşiğin analizi için en uygun yöntem seçilmelidir. Ayrıca, antioksidan analizlerde birden fazla yöntemin kullanılması ve sonuçların karşılaştırılması, daha kesin ve güvenilir sonuçları sağlayabilir (152).

2.6.4.4 DPPH

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), bir yapıya sahip olan ve serbest radikal olarak davranan bir bileşiktir. Molekülün yapısı, iki fenil halkasıyla birleşmiş olan bir pikrilhidrazil grubundan oluşur. Pikrilhidrazil grubu, bir azo bileşiği olan hidrazilin pikril asidin bir türeyle birleşmesiyle oluşur. Bu grup, DPPH molekülünde kararlı bir serbest radikal oluşturan elektron delokalizasyonunu sağlar. Delokalizasyon sayesinde molekülün serbest radikal karakteri korunur ve molekül dimerleşme gibi diğer serbest radikallerin gösterdiği reaksiyonlara girmeme özelliğine sahip olur (152, 153).



Şekil 2.2. DPPH moleküler yapısı

DPPH'nin yapısı, iki fenil halkasının hidrazin grubuna bağlandığı ve pikril asit türevinin hidrazin grubuyla birleştiği bir bileşik olarak gösterilebilir. Delokalizasyon sayesinde pi elektronlarının molekülde yayılması ve stabil bir serbest radikal oluşumu gerçekleşir. DPPH'nin yapısı, bileşiğin oksidasyon-reduksiyon (redoks) özelliklerine, serbest radikal reaktivitesine ve antioksidan analizlerinde kullanımına katkıda bulunur (153, 154).

2.6.4.5 Total fenolik bileşik

Fenolik bileşikler, aromatik halkaya (-OH) bağlanmış bir fenol fonksiyonel grubunun varlığıyla karakterize edilen çeşitlilik gösteren kimyasal bileşikler grubudur. Doğada yaygın olarak bulunurlar ve meyve, sebze, tahıl, kuruyemiş ve otlar gibi çeşitli bitkisel gıdalarda bulunabilirler. Bu bileşikler bitkilerde ikincil metabolitler olarak

önemli roller üstlenirler ve patojenlere, UV ışınlarına ve oksidatif strese karşı savunma mekanizmaları olarak işlev görürler. Birçok yiyeceğin ve içeceğin tadına, rengine ve aromasına katkıda bulunurlar. Fenolik bileşiklerin iyi bilinen örnekleri arasında resveratrol, flavonoidler (quercetin, kateşinler ve antosiyaninler gibi), tanenler ve fenolik asitler (kafeik asit ve klorojenik asit gibi) bulunur (155, 156).

Bileşikler güçlü antioksidan özelliklere sahiptirler, zararlı serbest radikalleri etkisiz hale getirebilir ve vücuttaki oksidatif stresi azaltabilirler. Bu nedenle, fenolik bileşikler anti-enflamatuvar, antikanser, kardiyovasküler, nörokoruyucu ve antimikrobiyal etkilere sahip olabilirler. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi-mass spektrometrisi (GC-MS) ve spektrofotometri gibi teknikler karmaşık matrislerde fenolik bileşikleri tanımlamak ve ölçmek için yaygın olarak kullanılır.

2.6.4.6 Klorojenik asit

Klorojenik asit, kahve çekirdekleri, meyveler ve sebzeler gibi çeşitli bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan bir fenolik bileşiktir. Güçlü bir antioksidan olarak görev yapar ve anti-enflamatuvar, anti-kanser ve kardiyovasküler koruyucu etkiler de dahil olmak üzere birçok sağlık faydasıyla ilişkilendirilmiştir. Klorojenik asit, kilo yönetimi ve kan şekerinin düzenlenmesi gibi alanlarda potansiyel bir rolü olduğu için de üzerinde araştırmalar yapılmaktadır (157, 158).

Klorojenik asidin antioksidan bir bileşik olmasına karşın, pişirme yöntemlerine bağlı olarak oluşabilen AA'yı potansiyel olarak artırdığını gösteren bazı çalışmalar vardır (156, 157).

2.6.5 İşleme yöntemleri

AA oluşumunu azaltmak veya önlemek için bazı işleme yöntemleri kullanılabilir. AA oluşumu, yiyecekler yüksek sıcaklıkta uzun süreler boyunca pişirildiğinde artabilir. Bu nedenle, pişirme süresi ve sıcaklığını kontrol etmek, AA oluşumunu

azaltmak için etkili bir stratejidir. Yiyeceklerin düşük veya orta sıcaklıkta pişirilmesi ve pişirme süresinin mümkün olduğunca kısa tutulması önerilir.

Bazı gıdaları pişirmeden önce su içine batırmak veya yıkamak, AA oluşumunu azaltabilir. Bu yöntem, özellikle patates gibi nişasta içeren gıdalar için etkilidir. Batırma veya yıkama işlemi, gıdaların üzerindeki nişasta miktarını azaltarak AA oluşumunu azaltır (159).

Gıdaları pişirmeden önce kısa bir süre suda ön pişirmek veya blanşe etmek, AA oluşumunu azaltabilir. Bu işlem, gıdaların yüzeyindeki nişastayı biraz çıkarmak ve AA oluşumunu azaltmak için kullanılır (155, 157, 158).

Gıdaları marinasyon sosları içinde bekletmek veya baharatlarla ovuşturmak, AA oluşumunu azaltmada etkili olabilir. Özellikle asit içeren marinasyonlar (limon suyu, sirke, yoğurt gibi) AA oluşumunu azaltmada yardımcı olabilir (159).

AA oluşumunu azaltmak için farklı pişirme yöntemleri kullanılabilir. Örneğin, kızartma yerine buharda pişirme veya ızgara gibi daha az yağ içeren yöntemler tercih edilebilir. AA oluşumu, nişasta içeren gıdalarda daha belirgin olabilir. Nişastadan zengin olan patates gibi gıdalar yerine, alternatif nişasta kaynakları olan mısır, çavdar veya yulaf gibi gıdalar tercih edilebilir.

2.7 Gıdalarda Akrilamid Analiz Yöntemleri

AA, polar yapısı ve yüksek çözünürlüğü nedeniyle çeşitli analiz yöntemleri ile incelenebilir. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), LC-MS, LC-MS/MS, Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) gibi yöntemler, AA analizinde yaygın olarak kullanılır. Ayrıca, elektrokinetik kapiler kromatografi, biyosensör kitleri, yakın kızılötesi (NIR) ve Enzim Bağlı İmmün Sorbent Assay (ELISA) yöntemleri de AA analizinde uygulanabilir. Ancak, GC, GC-MS, HPLC ve LC-MS/MS yöntemleri genellikle daha kolay erişilebilir ve hızlı sonuçlar verdikleri için tercih edilmektedir (160, 161).

2.7.1 HPLC, LC-MS, LC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi

HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi/Kütle Spektrometresi) yöntemleri, AA analizinde en yaygın kullanılan tekniklerdir. Bu yöntemlerde, izotop seyreltmeli tandem kütle spektrometresi detektörleri ile daha doğru sonuçlar elde edilebilir. LC-MS yöntemi ise özellikle karmaşık matrislerde, örneğin kahve gibi, yüksek hassasiyetle AA tespitinde etkilidir. HPLC, bileşenlerin ayrılması ve miktarlarının ölçülmesinde kullanılırken, LC-MS hem ayrılma hem de yapısal tanımlama için kullanılır (162).

Örnekler, sabit bir akış hızıyla kolonda taşınır ve bileşenlerin kolon üzerindeki etkileşimleri farklı tutunma süreleriyle sonuçlanır. Bu şekilde, bileşenler ayrılarak tanımlanabilir ve miktarları hesaplanabilir.

LC-MS, sıvı kromatografi (LC) ve kütle spektrometrisi (MS) tekniklerinin bir kombinasyonudur. LC bileşenleri ayırırken, MS molekül ağırlığını ve yapılarını belirler. LC-MS, ayrılma ve yapısal bilgi sağlama yeteneği nedeniyle daha hassas ve doğru sonuçlar elde etmeye yardımcı olur. Bu yöntem, düşük konsantrasyonlardaki bileşenleri tespit etmede oldukça uygundur. HPLC analizleri genellikle daha hızlı gerçekleştirilirken, LC-MS analizleri daha fazla bilgi sağladığı için biraz daha uzun sürebilir.

Sonuç olarak, HPLC ve LC-MS, farklı analiz amaçlarına yönelik olarak kullanılan iki farklı yöntemdir. HPLC, bileşenlerin ayrılması ve miktarlarının belirlenmesi için uygunken, LC-MS, hem ayrılma hem de yapısal tanımlama ve düşük konsantrasyonlarda bileşen tespiti için daha uygundur (163, 164).

2.7.2 GC, GC-MS, GC-MS/MS yöntemi ile akrilamid analizi

Gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS), iki farklı analitik tekniği birleştirir: gaz kromatografisi (GC) ve kütle spektrometresi (MS). Genellikle, bu

cihazlar gaz kromatografi bileşeninden oluşur ve ısınmış bir transfer hattı ile kütle spektrometresine bağlanır, bu sayede iki teknik ardışık olarak uygulanır. Ancak, bazı uzman ve genellikle taşınabilir veya minyatür cihazlar, tam bir GC-MS sistemini tek bir cihazda birleştirirler (165).

GC yöntemlerinde, AA'nın türevlendirilmesi (bromlama) işlemi ile 2,3-dibromopropionamide dönüştürülür. Türevlendirme işlemi, AA'nın polarlığını azaltır ve bu sayede polar olmayan organik çözücülerde daha kolay çözünmesini sağlar. Ancak, türevlendirme süreci zaman alıcı olabilir ve yan reaksiyonlara neden olabileceği için dikkatle uygulanmalıdır (161).

2.7.3 Akrlamid analizi için kullanılan diğer yöntemler

Türevlendirme yapılmadan kullanılan yöntemler nadiren tercih edilir. Bu yöntemlerde, analiz için AA su veya n-propanol gibi organik çözücülerin karışımı ile ekstrakte edilip, saflaştırma için genellikle grafitize karbon kartuşlar kullanılır. Analiz genellikle 71 ve 55 iyonları üzerinden gerçekleştirilir.

AA'nın polar yapısından dolayı polar kolonlar kullanılır ve sıcaklık programı, türevlendirme yapılmadan yapılan analizlerle benzerdir (166, 167).

Son yıllarda, yüksek performanslı sıvı kromatografinin (HPLC) yerine organik bileşiklerin ayrılması ve tanımlanması için bazı yeni teknikler geliştirilmiştir. Bunlardan biri Mikellar Elektrokinektik Kromatografi (MEKC) ve diğeri Kapiler İzotakoforezdir (168).

MEKC, organik bileşiklerin ayrılmasında etkili bir yöntemdir. Bu teknikte, bir yüzey aktif madde tampon sistemine eklenir ve bu maddeler micelle adı verilen yapılar oluşturur. Yüksüz organik bileşikler, micelleler ve tampon çözeltisi arasında geçici olarak birikir. Micellelerin yüklü dış yüzeyleri, elektrostatik etkileşimler sayesinde ayrılma işlemini gerçekleştirir ve bileşikler micelle içinde geçirdikleri süreye göre ayrılır.

Biyosensör ile AA analiz yöntemi, analit ve bakteriyel hücreler arasındaki biyokimyasal etkileşime dayanır. Bu yöntemde, *Pseudomonas aeruginosa*'nın tüm hücreleri biyosensör olarak kullanılır. Bu hücreler, AA'nın hidrolizini katalize eden amonyum iyonu (NH_4^+) ve akrilik asit üreten amidaz enzim aktivitesine sahiptir. Amonyum iyonu, seçici bir elektrot aracılığıyla tespit edilir. Hücreler polietersülfon, naylon veya polikarbonat gibi polimer membran disklerine immobilize edilir ve elektrot yüzeyine takılır. Ancak, biyosensörlerin bozulması enzim değişikliklerine yol açabilir (169).

NIR (Yakın Kızılötesi Yansıtma) tekniği, gıdaların kimyasal bileşimini belirlemek için elektromanyetik spektrumu kullanır. Gıdalardaki her kimyasal elementin kendine özgü bir NIR spektrumu vardır. NIR, organik materyallerdeki temel bileşenlerin hızlı, doğru ve güvenilir bir şekilde analiz edilmesini sağlar ve laboratuvar yöntemlerinin yerine geçebilecek bir tekniktir (170, 171).

ELISA yöntemi, AA'yı tespit etmek için kullanılan bir immunoassay yöntemidir. Amacı antikorlar aracılığıyla AA'nın besindeki varlığını tespit etmektedir. Yapılan çalışmalar geliştirilen ELISA yönteminin, AA'yı saptama sınırını 18,6 ng/ml olarak belirlemiştir. Aynı çalışmalar ayrıca, geri kazanım oranları %74,4 ile 98,1 arasında bulunmuştur. Bu oranlar, ELISA yönteminin AA tespitinde etkili ve güvenilir olduğunu göstermektedir (172).

ELISA'nın sonuçlarını doğrulamak için HPLC yöntemi kullanılmıştır. Bu doğrulama işlemi, ELISA yöntemiyle elde edilen sonuçların güvenilirliğini ve tutarlılığını kontrol etmek amacıyla yapılmıştır. Bu sayede ELISA yöntemiyle elde edilen sonuçların doğruluğu sağlanmış ve güvenilirlikleri onaylanmıştır (173, 174).

2.8 Sporcularda Besin Takviyelerinin Kullanımı

Besin takviyeleri, genel popülasyondaki yaygın kullanım oranları gibi, sporun her seviyesindeki sporcular tarafından da yaygın olarak kullanılmaktadır. ABD'de yetişkin nüfusun yaklaşık yarısı bir tür besin takviyesi kullanıyor ve kültürel, bölgesel ve

ekonomik farklılıklara rağmen diğer birçok bölgede de benzer kullanım oranlarının olduğu tahmin edilmektedir (175).

Sporcular takviye seçimleri için çeşitli nedenleri öne sürmektedirler; takviyeler performans açısından birden fazla role hizmet ediyor. Bu roller arasında, belirli besin maddelerinin yeterli miktarda alınmasını sağlayarak genel sağlığın korunması, mikro besin eksikliklerinin giderilmesi ve yalnızca diyet yoluyla elde edilmesi zor olabilecek enerji ve makro besin öğelerinin sağlanması yer alır. Ek olarak sporcular, yoğun antrenman temposunda toparlanmayı desteklemek, kas kütlesi kazanımı, fiziksel gelişim ve enerji artışı sağlamak, kas-iskelet sistemi ağırlarını hafifletmek, yaralanmalardan iyileşmeyi hızlandırmak ve ruh halini iyileştirmek gibi doğrudan performansı artırmak veya dolaylı faydalar için besin takviyelerini kullanır.

Sporcu beslenme kılavuzları sporculara, çeşitli senaryolara göre uyarlanmış enerji ve makro besin öğeleri alımına yönelik özel öneriler sunmaktadır. Bununla birlikte, sporcuların sedanter bireylere kıyasla artan beslenme gereksinimlerini, yalnızca normal yiyeceklerle karşılamaları; yoğun antrenman temposunda yiyecek hazırlama veya saklama zorluğu, antrenman programları sırasında tüketime fırsat bulamamaları, gastrointestinal semptomlar yaşayabilmeleri ile ilgili zorluklar nedeniyle pratik olmayabilir. Bu gibi durumlarda besin takviyeleri, bu beslenme ihtiyaçlarının karşılanması için genellikle daha maliyetli olsa da uygun bir alternatif olarak sporculara hizmet edebilir (176, 177).

Sporcuların yoğun egzersiz temposuna bağlı olarak beslenme ve makro besin ögesi gereksinimleri artmaktadır. Özellikle kas protein sentezinin sağlanması, yıkımının önlenmesi, optimal vücut gelişimi ve performans için sporcuların diyetle yeterli miktarda ve kaliteli kaynaklardan protein tüketmeleri önemlidir. Uygun gıdaların seçilmesiyle çok yüksek protein alımı elde edilebilirken, protein açısından zengin gıdaların çoğunun aynı zamanda yağ oranı da yüksektir. Sporcular sıklıkla gıda kompozisyonu hakkında ayrıntılı bilgiden yoksundur, bu da sınırlı gıda seçimine yol açar ve potansiyel olarak protein alım hedeflerini tutturamamalarına neden olur. Protein takviyeleri, sporculara, yağ alımını önemli ölçüde artırmadan veya diyetlerinde

büyük değişiklikler yapmadan, istedikleri protein seviyelerine ulaşmaları için bir yol sunar. Bu, sporcuların antrenman uyarısından kaynaklanan adaptasyonları desteklemek için antrenmandan hemen önce veya sonra protein tüketmeyi hedefledikleri durumlarda özellikle faydalıdır (178). Protein tozlarıyla yapılan süt bazlı protein karışımları, sporcuların kaliteli protein alımını sağlamaları için uygun, pratik ve lezzetli bir yöntem sunmaktadır (177).

2.8.1 Peynir altı suyu proteini (whey) takviyesi

Peynir altı suyu (whey), peynirin üretimi sırasında ortaya çıkıp; sütün pıhtılaşması sonucu oluşan sıvı bir yan üründür. Süt, peynir yapımı sırasında süt asitleri veya enzimlerle pıhtılaştırıldığında, pıhtının içerisinde peynir oluşurken, kalan sıvı kısım peynir altı suyu olarak bilinir. Peynir altı suyu, içeriğinde bulunan aminoasit, laktöz (şeker) ve minerallerle besleyici bir yapıya sahiptir (179).

Whey proteini ise peynir altı suyundan elde edilen bir protein kaynağıdır. Peynir altı suyu, pıhtılaşma sırasında ortaya çıkan proteinleri içerirken, whey protein ise bu sıvı kısmın yoğunlaştırılmasıyla elde edilir (180).

Sporcular arasında oldukça yaygın olan whey protein kullanımı, kas gelişimini destekler ve kas onarımını hızlandırır. Whey proteini hızlı sindirilebilme özelliği sayesinde kaslara hızlı bir şekilde ulaşp protein sentezini teşvik etmektedir. Ayrıca, whey proteini genellikle yüksek kalitede protein içerir ve tüm esansiyel amino asitleri sağlar. Bu, vücut için gerekli olan amino asitlere kolayca erişimin sağlanması açısından önemlidir (181).

Bununla birlikte, whey protein sadece sporcular için değil, genel olarak sağlıklı bir yaşam süren insanlar için de faydalı olabilir. Whey proteinin bağışıklık sistemi sağlığına destek olabileceği, kilo yönetimine yardımcı olabileceği ve genel sağlığın korunmasına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (182). Sonuç olarak, whey protein peynir üretimi sırasında oluşan bir yan ürün olan peynir altı suyundan elde edilen yüksek kaliteli bir protein kaynağıdır. Whey protein tozları kas gelişimini

desteklemesi, kas iyileşmesini ve toparlanmayı hızlandırması, bağışıklık sistemini desteklemesi ve sağlıklı bir yaşam için önemli bir bileşen olması sebebiyle sporcular için önemlidir (176, 183-185).

2.9 Yüksek Proteinli Pankek

Sporcu beslenmesinin gelişmesi ve öneminin anlaşılması ile birlikte yeni sağlıklı tariflerin gelişimi kaçınılmaz olmuştur. Özellikle sporcuların whey protein tozunu farklı biçimlerde tüketebildikleri görülmüştür. Sporcular whey protein tozunu tek başına tüketebildikleri gibi, sağlıklı ve yüksek proteinli tarifler hazırlamak amacıyla da kullanmaktadır. Sosyal medyanın etkileri, sürdürülebilirlik ve çeşitlilik arayışları sebebiyle whey protein tozu içeren yüksek proteinli birçok yeni yemek ya da atıştırmalık tarifinin geliştirildiği ve popülerlik kazandığı söylenebilir. Kolay hazırlanması, lezzetli ve besin öğeleri açısından zengin bir içeriğe sahip olması sebebiyle yüksek proteinli PK tarifleri sporcular ve vücut geliştirme toplulukları arasında oldukça ünlüdür. Piyasaya hazır protein PK harcı içeren ürünler dahi sunulmuş ve bu hazır ürünler kısa sürede çokça satılmıştır (186-188).

Avrupa Komisyonuna göre bir gıdanın yüksek proteinli olarak sınıflandırılması için toplam enerjinin en az %20'sinin proteinden gelmesi gerekmektedir. Türk Gıda Kodeksi Sporcu Gıdaları Tebliği'ne göre ise, proteince zenginleştirilmiş ürünlerde toplam enerjinin en az %25'i yumurta, süt, et veya soya kaynaklı proteinlerden sağlanmalıdır.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Pankek örnekleri

Yüksek proteinli ve diğer PK örnekleri; Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü pişirme laboratuvarında hazırlanmıştır. Yüksek proteinli PK örneklerinde 1 ölçek whey protein tozu (25 gram protein ilavesi) kullanılmıştır. Hazırlanan yüksek proteinli PK'ların 100 gramında yaklaşık olarak 20,1-22,6 gram protein bulunmaktadır.

3.1.2 Kullanılan malzemeler

Tam buğday unu, yulaf unu, laktosuz süt (UHT), yumurta, sükraloz tatlandırıcı metro gross marketten, kakaolu whey protein tozu (MuscleTech Nitro-Tech %100 Whey Gold Protein) Supplementler mağazasından, aronya (Yalova) Taze dükkan firmasından temin edilmiştir.

3.1.3 Kullanılan kimyasallar

Standart AA (A3553-100G) Sigma-Aldrich firmasından (Steinhein, Almanya), asetonitril (sıvı kromatografisine uygun) Merck firmasından (Darmstadt, Almanya), n-hekzan Merck firmasından (Darmstadt, Almanya), aseton (HPLC saflıkta) Sigma-Aldrich firmasından (Steinhein, Almanya) ve ultra saf su (HPLC saflıkta) temin edilmiştir.

3.1.4 Kullanılan alet/cihaz ve ekipmanlar

Pişirme için; PK tavası (madame coco), parçalayıcı mikser, dijital gıda termometresi, hassas gıda tartısı, mutfak ekipmanları, ölçekli plastik kap ve ölçekli kaşıklar temin edilmiştir.

AA ekstraksiyonu ve örneğin hazırlanması için; Steril kapaklı falkon tüp 50 mL (ISOLAB), tüp standı, cam huni (ISOLAB), çeşitli hacimlerde mezür (ISOLAB), çeşitli hacimlerde beher (ISOLAB), çalkalama cihazı (VELP CLASSIC Vortex Mixer), çalkalamalı su banyosu (Weightlab Instruments WF-SBC30), orta akış hızlı filtre kağıt (ISOLAB), plastik şırınga 5 mL (BERIKA), şırınga ucu filtre steril (CA (Selüloz Asetat) 0.45 µm / 25 mm), 0.1-2.5 µL ayarlanabilir mikro otomatik pipet (Eppendorf Research), spatula (Sigma-Aldrich), kilitli kapaklı santrifüj tüp 5 mL (ISOLAB) temin edilmiştir.

AA tayini için; HPLC Perkin-Elmer 200 serisi (USA) cihaz, C-18 analitik kolon (ACE 250 mmx 4.6 mm; 5 µm partikül yarıçapı), ultrasonik banyo (ISOLAB), vida kapaklı cam vial (ISOLAB-N8-1,5 ml-11,6 x 32 mm) kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

PK örneklerinde; AA (HPLC) ve örneklerde kullanılan aronyalarda; antioksidan testi (DPPH), total fenolik bileşik ve klorojenik asit (HPTLC) analizleri yapılmıştır.

3.2.1 Akrilamid analizi

3.2.1.1 Pankek gruplarının belirlenmesi

Çalışma planında toplam 8 PK örneği belirlenmiştir; Tam buğday veya yulaf unu ile hazırlanan standart PK; kontrol grubu, tam buğday veya yulaf ununa ek whey protein takviyesi yapılan PK; whey grubu, tam buğday veya yulaf ununa ek aronya takviyesi yapılan PK; aronya grubu ve tam buğday veya yulaf ununa ek whey ve aronya takviyesi yapılan PK; whey-aronya grubu olarak adlandırılmış, böylece 4 ana grup içerisinde 8 ayrı PK harcı hazırlanmıştır. Çalışma güvenilirliği açısından her PK harcı ile (8 örnek) 2 kere pişirme yapılmış ve finalde 16 PK örneği çalışmaya dahil edilmek üzere hazırlanmıştır. Tablo 3.1. PK grup ve örneklerinin bileşimlerini açıkça ifade etmektedir.

Tablo 3.1. PK gruplarının içeriği ve PK örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemelerin miktarı

Kontrol Grubu	İçindekiler
1-Tam Buğday Pankek 1 (TBK)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr tam buğday unu 1 tk sükraloz (5 mL)
2-Tam Buğday Pankek 2 (TBK2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.
3-Yulaf Pankek 1 (YK)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr yulaf unu 1 tk sükraloz (5 mL)
4-Yulaf Pankek 2 (YK2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.
Whey Grubu (Yüksek Proteinli)	İçindekiler
5-Tam Buğday Wheyli Pankek 1 (TBW)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr tam buğday unu 1 ölçek whey protein tozu (32 gr)
6-Tam Buğday Wheyli Pankek 2 (TBW2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.
7-Yulaf Wheyli Pankek 1 (YW)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr yulaf unu 1 ölçek whey protein tozu (32 gr)
8-Yulaf Wheyli Pankek 2 (YW2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.
Aronya Grubu	İçindekiler
9-Tam Buğday Aronyalı Pankek 1 (TBA)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr tam buğday unu 1 tk sükraloz (5 mL) 20 gr aronya
10-Tam Buğday Aronyalı Pankek 2 (TBA2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.
11-Yulaf Aronyalı Pankek 1 (YA)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr yulaf unu 1 tk sükraloz (5 mL) 20 gr aronya
12-Yulaf Aronyalı Pankek 2 (YA2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.

Tablo 3.2. PK gruplarının içeriği ve PK örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemelerin miktarı

Whey-Aronya Grubu (Yüksek Proteinli)	İçindekiler
13-Tam Buğday Wheyli Aronyalı Pankek 1 (TBWA)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr tam buğday unu 1 ölçek whey protein tozu (32 gr) 20 gr aronya
14-Tam Buğday Wheyli Aronyalı Pankek 2 (TBWA2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.
15-Yulaf Wheyli Aronyalı Pankek 1 (YWA)	1 adet yumurta (50 gr) 50 mL laktozsuz süt 30 gr yulaf unu 1 ölçek whey protein tozu (32 gr) 20 gr aronya
16-Yulaf Wheyli Aronyalı Pankek 2 (YWA2)	İlk harç ile tekrar pişirildi.

3.2.1.2 Pankeklerin standardizasyonu ve pişirilmesi

PK örnekleri için hazırlanan harçlar mikser yardımıyla çırpılarak 2 dakika süreyle akışkan sıvı bir kıvam elde edilene dek homojenize edilmiştir. Pişirme için kullanılan PK tavaşı (madame coco) ocakta 1 dakika boyunca orta ateşte ısıtılmıştır. Homojenize edilmiş PK harcı, PK tavaşının orta gözünü dolduracak miktarda dökülmüş ve 2.5 dakika boyunca alt taraf pişirilmiştir. Daha sonrasında plastik spatula yardımıyla PK ters çevirilmiş ve diğer tarafı 1.5 dakika boyunca orta ateşte pişirilerek tavadan soğumak üzere tabağa alınmıştır. İşlem tekrarlanmadan önce kullanılacak tavalarda soğumaya bırakılmış ve her pişirme öncesinde sıcaklık kontrol edilerek pişirme işlemine başlanmıştır. Bu şekilde tekrarlar yapılarak 16 PK pişirilmiş ve tabaklara alınarak oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır.

3.2.1.3 Pankek örneklerinin akıbeti

PK örnekleri oda sıcaklığında soğuduktan sonra her PK örneği aynı harc ile hazırlanan tekrarı ile birlikte mikserde parçalanmıştır. Ana gruplar ve birlikte parçalanmış PK örneklerinin bilgisi Tablo 3.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Mikserde birlikte parçalanmış pankek örneklerinin bilgisi

Kontrol Grubu
1. Tam Buğday Pankek 1 ve Tam Buğday Pankek 2 (TBK)
2. Yulaf Pankek 1 ve Yulaf Pankek 2 (YK)
Whey Grubu (Yüksek Proteinli)
3. Tam Buğday Wheyli Pankek 1 ve Tam Buğday Wheyli Pankek 2 (TBW)
4. Yulaf Wheyli Pankek 1 ve Yulaf Wheyli Pankek 2 (YW)
Aronya Grubu
5. Tam Buğday Aronyalı Pankek 1 ve Tam Buğday Aronyalı Pankek 2 (TBA)
6. Yulaf Aronyalı Pankek 1 ve Yulaf Aronyalı Pankek 2 (YA)
Whey-Aronya Grubu (Yüksek Proteinli)
7. Tam Buğday Wheyli Aronyalı Pankek 1 ve Tam Buğday Wheyli Aronyalı Pankek 2 (TBWA)
8. Yulaf Wheyli Aronyalı Pankek 1 ve Yulaf Wheyli Aronyalı Pankek 2 (YWA)

Sonuç olarak parçalanmış 8 adet örnek; tam buğday kontrol (TBK), yulaf kontrol (YK), tam buğday wheyli (TBW), yulaf wheyli (YW), tam buğday aronyalı (TBA), yulaf aronyalı (YA), tam buğday wheyli aronyalı (TBWA) ve yulaf wheyli aronyalı (YWA) olarak adlandırılmıştır (Tablo 3.3.). PK gruplarının makro besin ögesi değerleri Tablo 3.4.'te verilmiştir.

Daha sonrasında her PK örneği hassas terazi yardımıyla 16 gram tartılarak falkon tüplere (50 mL) alınmış ve AA ekstraksiyonuna hazır hale getirilmiştir.

Tablo 3.4. Pankek gruplarının ve örneklerinin son durumu

Kontrol Grubu
1. Tam Buğday Pankek (TBK)
2. Yulaf Pankek (YK)
Whey Grubu (Yüksek Proteinli)
3. Tam Buğday Wheyli Pankek (TBW)
4. Yulaf Wheyli Pankek (YW)
Aronya Grubu
5. Tam Buğday Aronyalı Pankek (TBA)
6. Yulaf Aronyalı Pankek (YA)
Kontrol Grubu
Whey-Aronya Grubu (Yüksek Proteinli)
7. Tam Buğday Wheyli Aronyalı Pankek (TBWA)
8. Yulaf Wheyli Aronyalı Pankek (YWA)

Tablo 3.5. Pankek gruplarının makro besin ögesi değerleri

1.TBK (100 gr)	
Enerji	151,6 kcal
Protein (24%)	9,1 g
Yağ (28%)	4,8 g
Karbonhidrat (48%)	18 g
2.YK (100 gr)	
Enerji	157,4 kcal
Protein (24%)	9,3 g
Yağ (33%)	5,8 g
Karbonhidrat (43%)	17 g
3.TBW (100 gr) (Yüksek Proteinli)	
Enerji	199,3 kcal
Protein (45%)	22,4 g
Yağ (23%)	5,3 g
Karbonhidrat (31%)	15,5 g
4.YW (100 gr) (Yüksek Proteinli)	
Enerji	204,1 kcal
Protein (45%)	22,6 g
Yağ (26%)	6,1 g
Karbonhidrat (29%)	14,7 g
5.TBA (100 gr)	
Enerji	137,4 kcal
Protein (24%)	8,1 g
Yağ (27%)	4,2 g
Karbonhidrat (49%)	16,8 g
6.YA (100 gr)	
Enerji	143,1 kcal
Protein (23%)	8,3 g
Yağ (32%)	5,1 g
Karbonhidrat (45%)	16 g
7.TBWA (100 gr) (Yüksek Proteinli)	
Enerji	181,9 kcal
Protein (44%)	20,1 g
Yağ (23%)	4,7 g
Karbonhidrat (33%)	14,8 g
8.YWA (100 gr) (Yüksek Proteinli)	
Enerji	186,7 kcal
Protein (44%)	20,2 g
Yağ (26%)	5,5 g
Karbonhidrat (31%)	14,1 g

3.2.1.4 Akrlamidin pankek örneklerinden ekstraksiyonu

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü pişirme laboratuvarında pişirilen ve hazırlığı tamamlanan PK örneklerinden AA'nın ekstraksiyonu Khosnam ve ark. tarafından açıklanan yöntem uygulanarak gerçekleştirilmiştir (189).

16 gram tartılarak 50 mL'lik falkon tüpler içerisine alınan örnekler numaralandırılmış olarak tüp standına yerleştirilmiş ve ekstraksiyon işlemi için Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi ARGE laboratuvarına taşınmıştır.

Khosnam'ın yöntemine uygun olacak şekilde önce yağ dekantasyonu yapılmıştır. Örneklerin bulunduğu falkon tüplerinin içerisine 40 mL n-hekzan ilave edildikten sonra örnekler çalkalama cihazı ile 1'er dakika karıştırılmış daha sonrasında 10 dakika süreyle çalkalamalı su banyosuna bırakılmıştır. Su banyosundan alınan örnekler tek tek parmak yardımıyla dekante edilmiş, atık n-hekzan kimyasalı boş bir behere alınarak uzaklaştırılmıştır. Bu uygulama toplamda 3 kere tekrarlandıktan sonra falkon tüpler kapakları açık bir şekilde 12 saat laboratuvar ortamında bırakılmış böylece uçucu bir kimyasal olan n-hekzan tamamen ortamdaki uzaklaştırılarak yağın uzaklaştırma süreci tamamlanmıştır.

Numuneler 12 saat bekletildikten sonra ertesi gün falkon tüplerine 40'ar mL aseton mezür yardımıyla dökülmüştür. Tüplerin kapakları sıkıca kapatıldıktan sonra örnekler vortex ile 1'er dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonrasında örnekler 40°C sıcaklığa ayarlanan çalkalamalı su banyosuna 20 dakika boyunca bırakılmıştır. Bu işlem de tamamlandıktan sonra kağıt filtre yardımıyla 8 örneğin tamamı, sırasıyla 50 mL'lik cam beherlere süzölmüştür. Cam beherler 40°C sıcaklığa ayarlanan sıcak plakaların üstüne yerleştirildikten sonra asetonun uçması beklenmiştir. Yaklaşık 3 saatlik sürecin sonunda 8 örneğin tamamı için aseton uçurulmuş ve geriye katı madde cam beherlerin içerisinde kalmıştır. Cam beherlere sırasıyla 2 mL ultra distile su otomatik pipet yardımıyla ilave edilmiş ve spatula yardımıyla beherlerin dibinde kalan katı maddeler ultra distile su içerisinde iyice çözünene dek karıştırılmıştır. 8 örnek için

hazırlanan çözeltiler şırınga ile çekilmiş ve şırınga filtreden geçirilerek 5 mL'lik kilitli kapaklı santrifüj tüplerine alınmıştır. AA ekstraksiyonu gerçekleştirilerek tüplere alınan örnekler HPLC analizine hazır bir şekilde beklemek üzere -20°C dondurulmuştur.

3.2.1.5 Akrilamid standartlarının hazırlanması

AA'nın stok çözeltisi (1000 µg/ml), 0.1000 g standart AA'nın 100 ml ultra saf su içerisinde çözülmesiyle hazırlandı. Bu ana çözeltilerden önce 100 µg/ml ve sonrasında 2 µg/ml stok çözeltileri hazırlandı. AA'nın standart çözeltileri (20, 40, 80, 160, 240, 320 ve 400 ng ml⁻¹), 2 µg/ml stok çözeltinin ultra saf su ile uygun şekilde seyreltilmesiyle hazırlandı. Tüm stok çözeltiler ve çalışma standartları -20°C'de 1 ay süreyle saklanmıştır.

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standart AA çözeltileri (Tablo 4.1.) HPLC'ye enjekte edilerek Şekil 4.1.'de verilmiş olan AA'nın çalışma grafiği ve doğru denklemi oluşturulmuştur. AA'nın standart çözeltilerine dair bilgiler ve hesaplanan değerlerin detayları Tablo 4.1.'de verilmiştir. PK örneklerindeki AA miktarları oluşturulan bu doğru denklemi yardımıyla hesaplanmıştır.

3.2.1.6 Pankek örneklerinin HPLC cihazı ile akrilamid tayini

Daha önce ekstraksiyon işlemleri tamamlanan PK örnekleri öncelikle ultrasonik banyoya bırakılarak tayin için hazır hale getirilmiştir. Daha sonrasında otomatik pipet yardımı ile 1'er mL örnekler santrifüj tüplerinin içerisinde HPLC cihazına uygun 1.5 mL hacimli cam viallere aktararak tayine hazır hale getirilmiştir.

3.2.1.6.1 Kromatografik çalışma koşulları

AA tayini için HPLC cihazındaki kromatografik çalışma koşulları Tablo 3.5.'te ve yürütülen metodun detayları Tablo 3.6.'te belirtilmiştir.

Tablo 3.6. HPLC kromatografik çalışma koşulları

Kromatografik Çalışma Koşulları	
Akış hızı	0.5 ml / dk
Enjeksiyon hacmi	40 mikrolitre
Kolon	ACE 5 RP-C18 analitik kolon (25 cm x 4.6 mm, 5 µm partikül yarıçapı)
Mobil faz	(A) Ultra saf su (%100) (B) Asetonitril (%100)
Absorbans	204
Maksimum basınç	400 bar

Tablo 3.7. HPLC kuaterner pompa çalışma metodu

Süre (dk.)	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	Akış (mL/dk)	Maksimum Basınç Limit (bar)
0.00	95.0	5.0	0.0	0.0	0.500	400.00
0.00	95.0	5.0	0.0	0.0	0.500	400.00
15.00	95.0	5.0	0.0	0.0	0.500	400.00
15.01	0.0	100.0	0.0	0.0	0.500	400.00
65.00	0.0	100.0	0.0	0.0	0.500	400.00
65.01	95.0	5.0	0.0	0.0	0.500	400.00
80.00	95.0	5.0	0.0	0.0	0.500	400.00

Cam viallere aktarılan 8 PK örneğinin Tablo 3.4. ve Tablo 3.5'te belirtilen çalışma koşullarına uygun biçimde AA tayin işlemi HPLC cihazında peş peşe sekans sistemiyle yürütülmüştür. Çalışma güvenilirliği açısından her PK örneği için 2'şer kere ölçüm yapılmıştır.

3.2.2 Gerçekleştirilen diğer analizler

PK örneklerinde kullanılan aronya meyvesinin antioksidan testi DPPH yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca aronyalarda total fenolik bileşik analizi ve HPTLC cihazında klorojenik asit tayini yapılmıştır.

3.2.2.1 DPPH radikal temizleme aktivite tayini ile in vitro antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Aronyalarda, DPPH radikal temizleme aktivitesini belirlemek için, taze seyreltilmiş numune çözeltilerinin (1 mg/mL stok çözeltisinden hazırlanan çeşitli konsantrasyonlar) ve metanolik DPPH çözeltisinin (100 mM) bir kombinasyonu yapıldı. Oda sıcaklığında 45 dakika inkübasyonun ardından absorbans 517 nm'de okundu. Bir kalibrasyon eğrisi elde etmek için referans bileşiği olarak bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT) kullanıldı. Sonuçların yarı maksimum inhibitör konsantrasyon değerleri µg/mL olarak belirtilmiştir (190).

3.2.2.2 Total fenolik bileşik analizi

İnfüzyonların toplam fenolik içeriğinin değerlendirilmesi Singleton ve Rossi tarafından açıklanan yöntemle göre gerçekleştirildi (191). Seyreltilmiş infüzyon numuneleri, Na₂CO₃ (%20) ve FCR (H₂O (1:9) ile seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi) karışımına dahil edildi. Daha sonra 45°C'de 30 dakika inkübasyon süresinden sonra karışımların absorbansı 765 nm'de hesaplandı. Sonuçlar, gram kuru ekstrakt (DE) başına gallik asit eşdeğerleri (GAE) olarak ifade edildi.

3.2.2.3 HPTLC ile klorojenik asitin miktarının belirlenmesi

Biyoaktif ana metabolitin kalitatif ve kantitatif analizi Barak ve ark.'nın yöntemi kullanılarak yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC) sistemi ile yapıldı (192). Aronya ekstresinin klorojenik asit miktar tayini HPTLC kullanılarak ölçüldü. HPTLC için bir CAMAG Otomatik TLC Sampler IV kullanıldı. VisionCATS yazılımı, cihaz kontrolü ve görüntü işleme için kullanıldı. HPTLC analizi için 20 cm x 10 cm HPTLC silika jel 60 F 254 plakalar kullanıldı (Merck, Darmstadt, Almanya). Referans çözeltileri ve numuneler şırınga yardımıyla uygulanmıştır. Çalışma koşulları: enjeksiyon hacmi; 0,5–6 µl, şırınga dağıtım hızı; 100 nl/s, alttan mesafe; 15 mm, kromatogramın uzunluğu; Uygulama noktasından 70 mm; analitlerin bant genişliği; 8 mm şeklindedir. Geliştirme işleminden önce bağıl nemi %33'e ayarlamak için doymuş

MgCl₂·6H₂O (Sigma Aldrich) çözeltisi kullanıldı. Mobil faz, etil asetat:diklorometan:asetik asit:formik asit (hepsi Sigma Aldrich):damıtılmış su (100:25:10:10:11, hacimce) idi. Geliştirme işleminin ardından HPTLC plakaları plaka ısıtıcısıyla 100°C'de 3 dakika kurutuldu. Daldırma cihazı ve görselleştirici kullanılarak türetme için doğal ürün reaktifi (NPR: 200 ml etil asetat içerisinde çözünmüş 1 g difenilborik asit 2-aminoester (Sigma Aldrich)) kullanıldı. Geliştirme işleminin ardından HPTLC plakaları plaka ısıtıcısıyla 100°C'de 3 dakika kurutuldu. Daldırma cihazı ve görselleştirici kullanılarak türetme için doğal ürün reaktifi (NPR: 200 ml etil asetat içerisinde çözünmüş 1 g difenilborik asit 2-aminoester (Sigma Aldrich)) kullanıldı. Tarayıcı, 366 nm UV ışığı kullanılarak türetilmiş plakalar üzerindeki noktaları belirlemek için kullanıldı.

MeOH içerisinde çözündürülmüş klorojenik asit (KA) standardının (Sigma Aldrich) konsantrasyonu 100 µg/ml'ye ayarlandı. Numune çözeltisi 10 mg/ml kullanıldı. Zirve alanlarının kalibrasyon eğrisi (KA kullanılarak), zirve alanları arasındaki doğrusallığa göre oluşturuldu ve KA standart konsantrasyonları doğrulandı. KA ölçümü için korelasyon katsayıları (r²) > 0,98 olarak bulunmuştur. Sonuç µg/100 mg toplam ağırlık olarak hesaplanarak rapor edilmiştir.

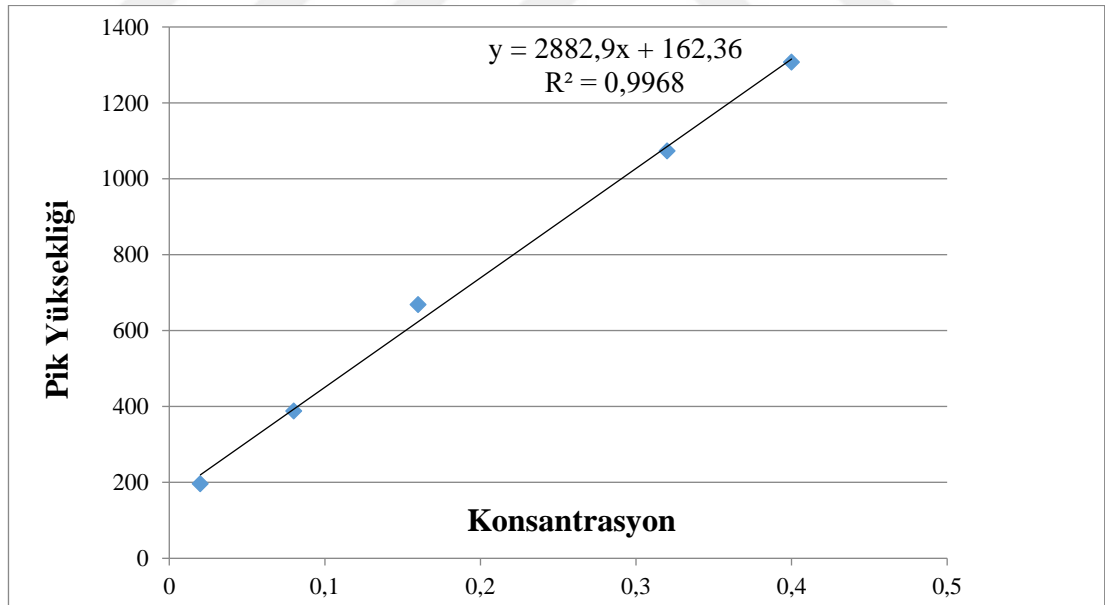
4 BULGULAR

4.1 Akrilamidin Standart Çözeltisi, Grafiği ve Denklemi

Standart AA çözeltilerinin derişimleri, HPLC cihazında ölçülen değerler ile oluşturulan tablo (Tablo 4.1.) ve AA'nın çalışma grafiği ve doğru denklemi (Şekil 4.1.) aşağıda verilmiştir.

Tablo 4.1. AA'nın standart çözeltilerine ve ölçülen değerlere dair bilgiler

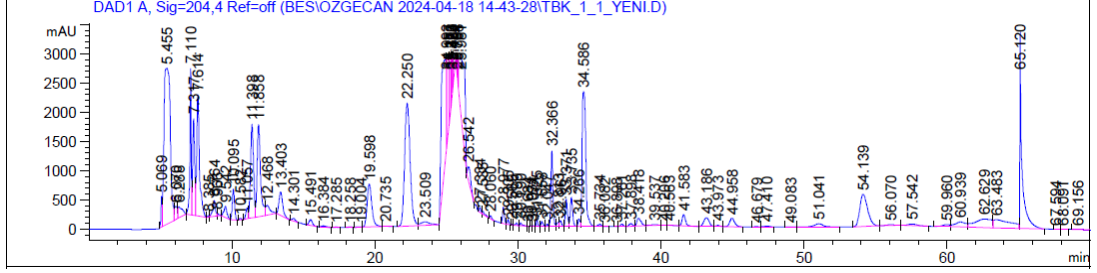
	ng/ml	µg/ml	yükseklik	alan
1	400	0,4	1308	3,21
2	320	0,32	1074	8,6
3	160	0,16	669	16
4	80	0,08	389	18
5	20	0,02	197	8



Şekil 4.1. Akrilamidin çalışma grafiği ve doğru denklemi

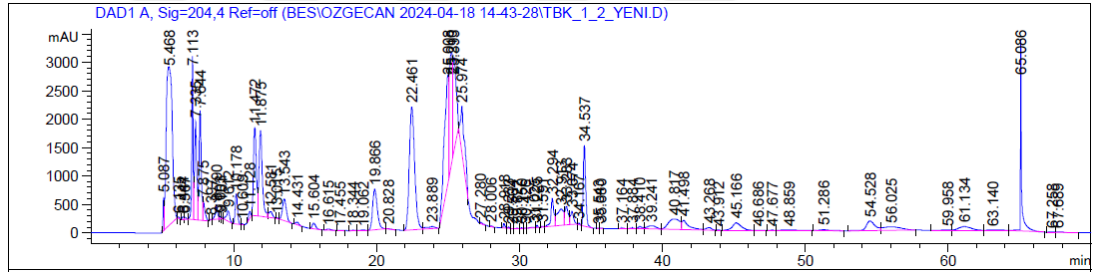
4.2 Pankek Örneklerinin HPLC Cihazında Saptanan Sinyal Grafikleri

PK örneklerinde HPLC-DAD ile saptanan AA'nın kromotogramları, tutulma zamanı ve yüksekliği aşağıda her örnek için sırasıyla verilmiştir (Şekil 4.2-4.17).



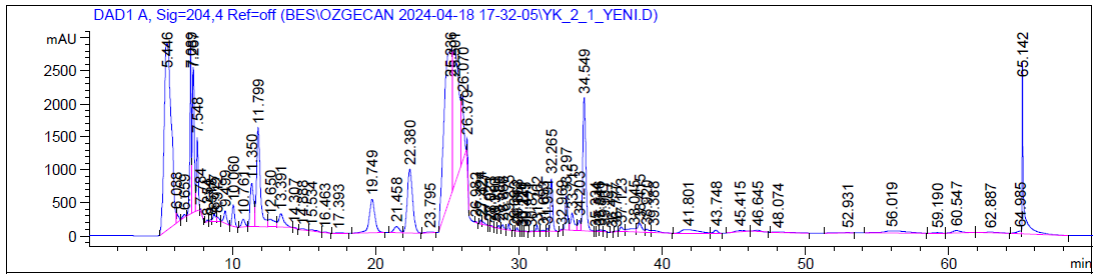
Şekil 4.2. Tam buğday pankek (TBK) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7317 ve yükseklik: 1663



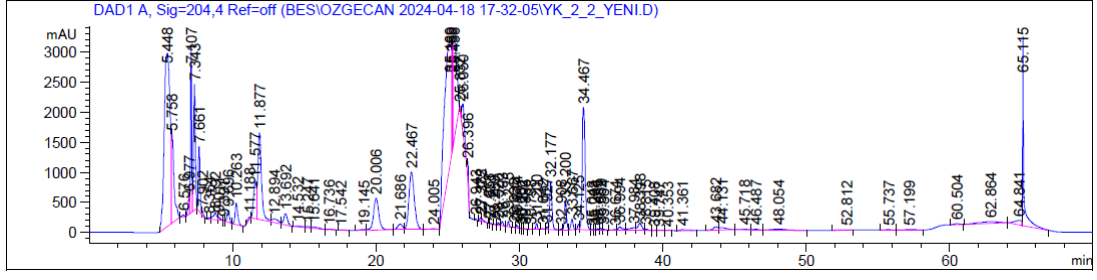
Şekil 4.3. Tam buğday pankek (TBK) 2. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7335 ve yükseklik: 1735



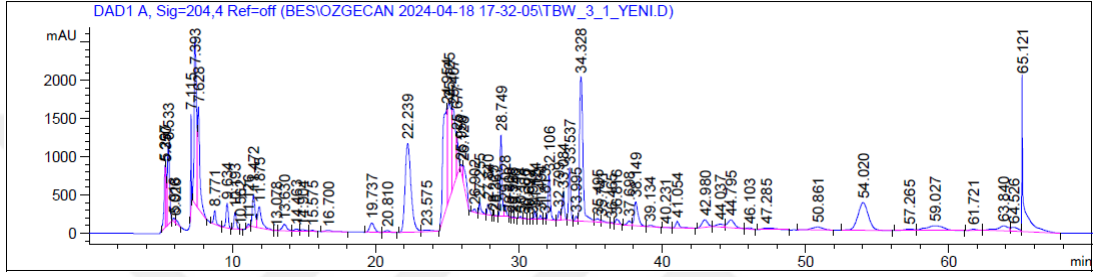
Şekil 4.4. Yulaf pankek (YK) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7267 ve yükseklik: 2205



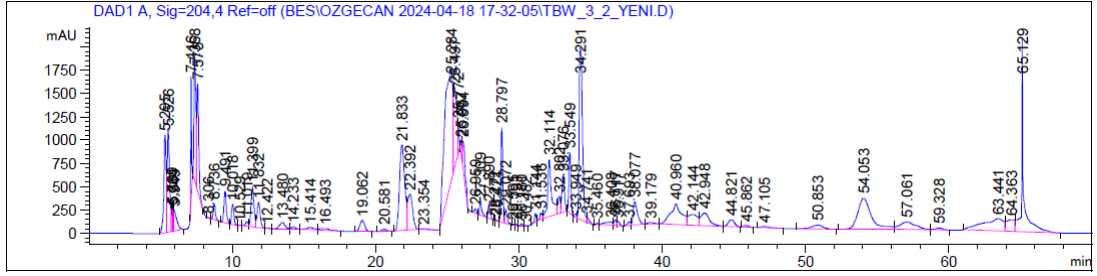
Şekil 4.5. Yulaf pankek (YK) 2. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7343 ve yükseklik: 2090



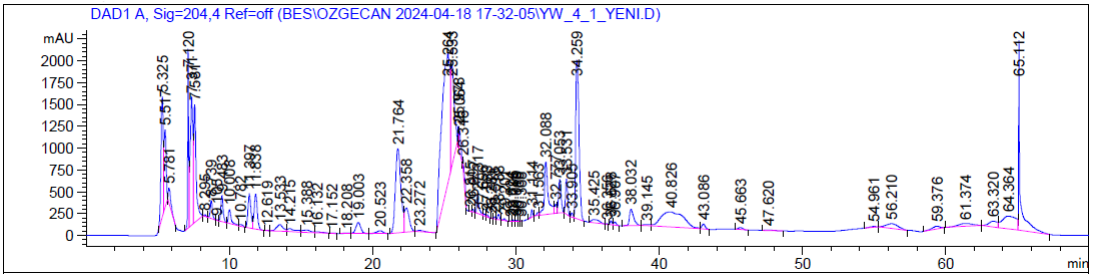
Şekil 4.6. Tam buğday wheyli pankek (TBW) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7393 ve yükseklik: 2177



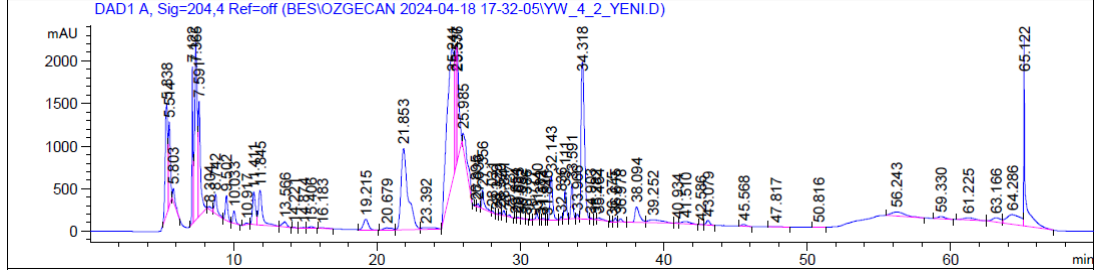
Şekil 4.7. Tam buğday wheyli pankek (TBW) 2. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7368 ve yükseklik: 1328



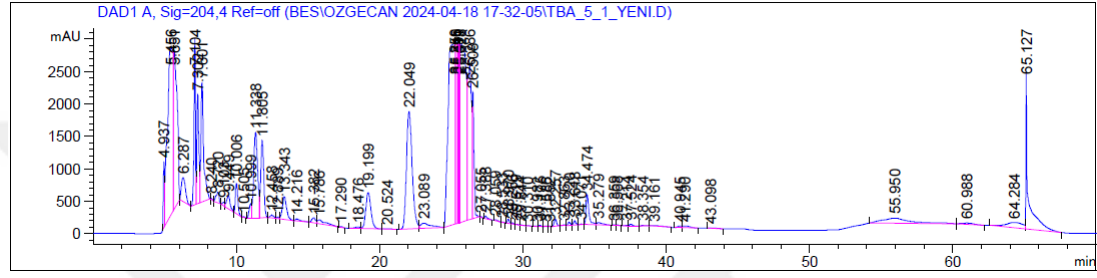
Şekil 4.8. Yulaf wheyli pankek (YW) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7371 ve yükseklik: 1464



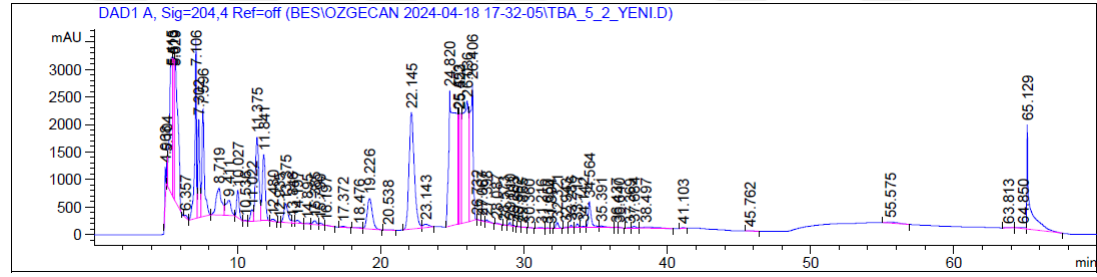
Şekil 4.9. Yulaf wheyly pankek (YW) 2. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7365 ve yükseklik: 2084



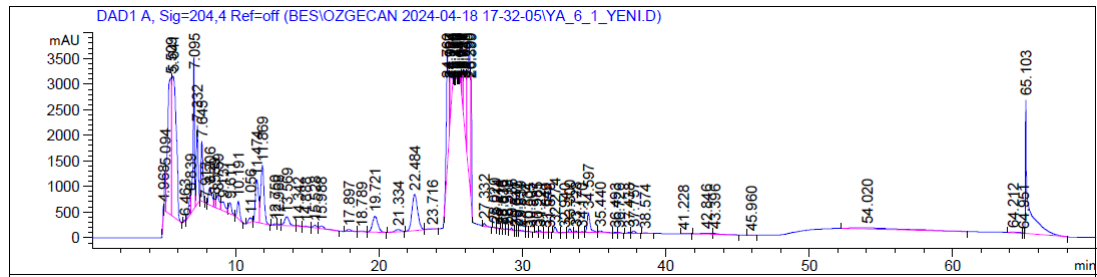
Şekil 4.10. Tam buğday aronyalı pankek (TBA) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7302 ve yükseklik: 1678



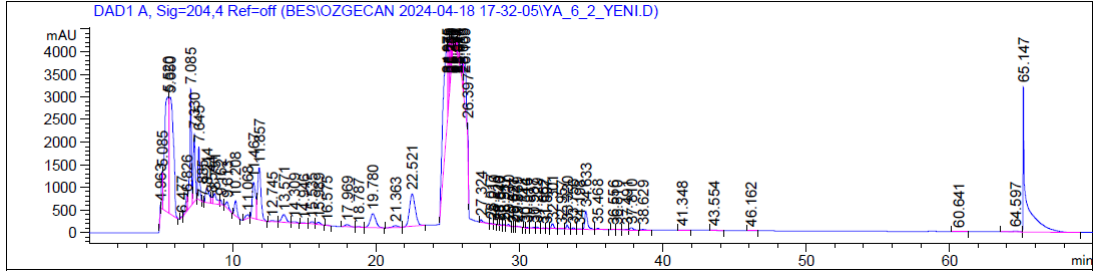
Şekil 4.11. Tam buğday aronyalı pankek (TBA) 2. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7302 ve yükseklik: 1778



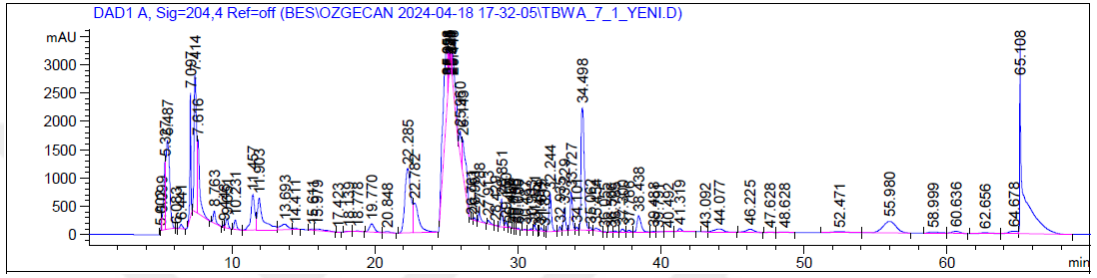
Şekil 4.12. Yulaf aronyalı pankek (YA) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7332 ve yükseklik: 1545



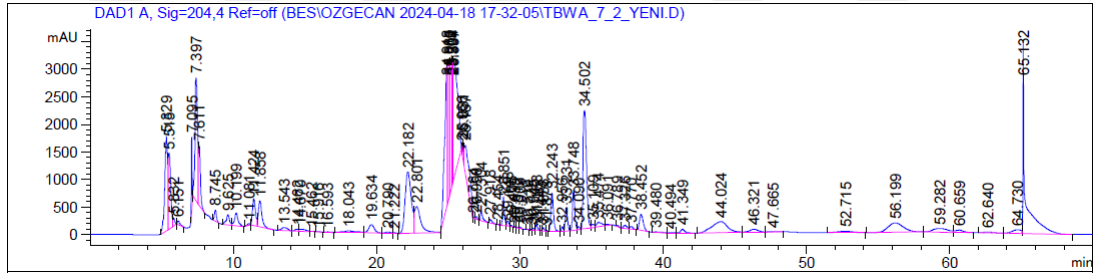
Şekil 4.13. Yulaf aronyalı pankek (YA) 2. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7330 ve yükseklik: 1518



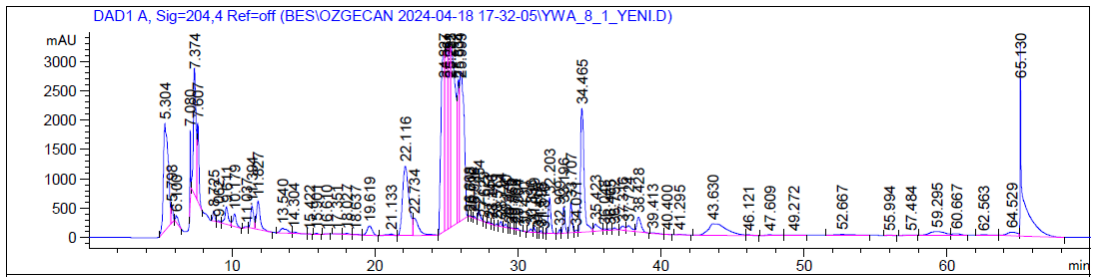
Şekil 4.14. Tam buğday wheyly aronyalı (TBWA) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7414 ve yükseklik: 2400



Şekil 4.15. Tam buğday wheyly aronyalı (TBWA) 2. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7397 ve yükseklik: 2233

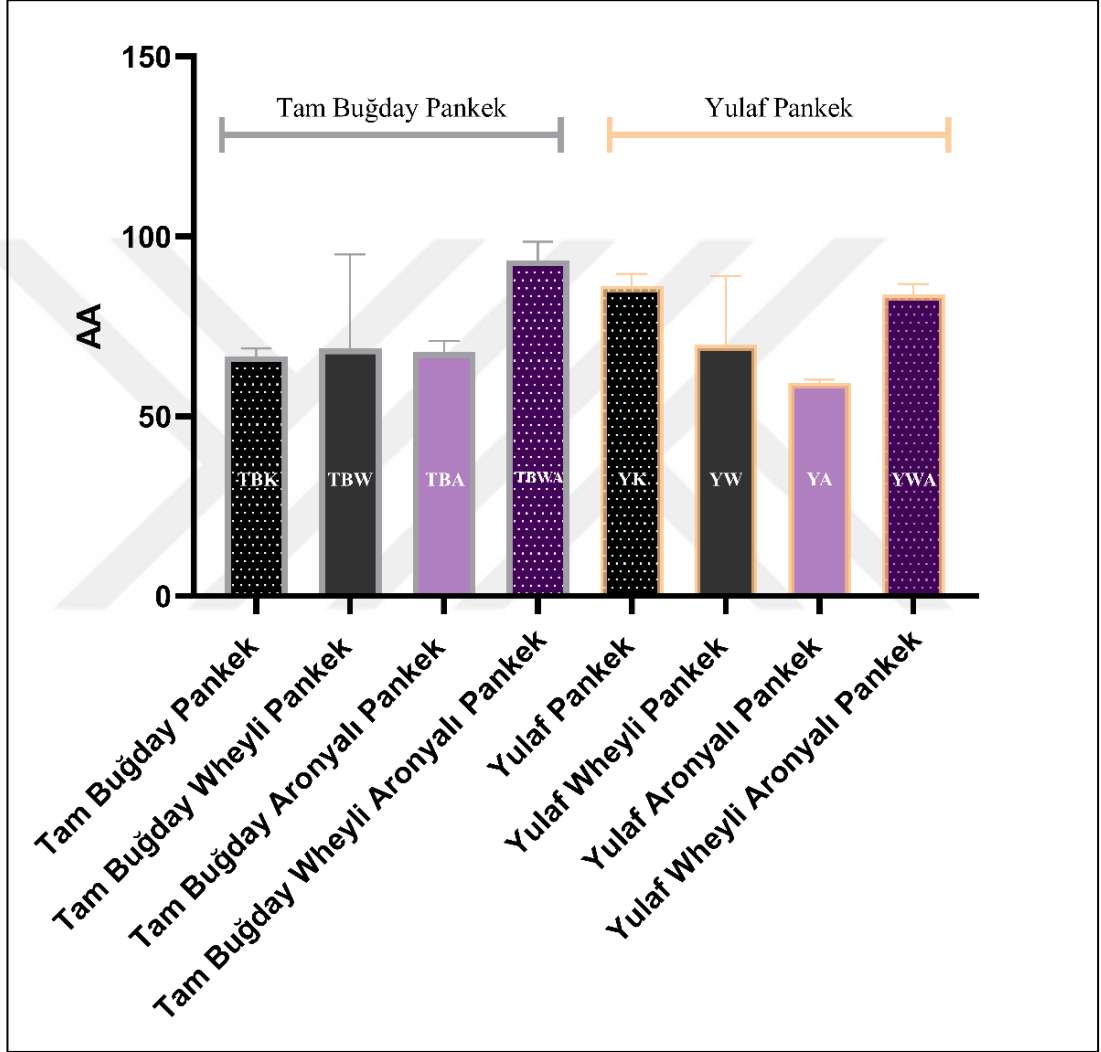


Şekil 4.16. Yulaf wheyly aronyalı (YWA) 1. ölçüm kromotogramı

Tutulma zamanı: 7374 ve yükseklik: 2144

4.3.1 Pankek örneklerinin akrilamid miktarlarının kıyaslanması

PK örneklerinin; farklı unlarla hazırlanan PK'ların, whey protein ilavesiyle hazırlanan yüksek proteinli PK'ların ve antioksidan ilavesiyle hazırlanan PK'ların AA içeriklerinin kıyaslandığı sütun grafiği Şekil 4.18.'de verilmiştir.



Şekil 4.18. Pankek örneklerindeki akrilamid miktarlarının kıyaslanması

4.4 Aronyada Antioksidan, Total Fenolik Bileşik ve Klorojenik Asit Tayini

Aronya meyvesinin AA oluşumunda ki etkilerinin değerlendirilebilmesi amacıyla aronyalarda çeşitli analizler yapılmıştır.

4.4.1 DPPH antioksidan aktivite testi

Tablo 4.3. DPPH radikal temizleme aktivite tayini ile belirlenen antioksidan miktarı

Numune Adı	DPPH* Radikal Temizleme Aktivite Tayini
Aronya (100 mg/ml)	3369 ± 13

*Sonuçlar, 100 mg toplam ağırlıkta üçlü ± standart sapma (S.S.) ve mg bütillenmiş hidroksi toluen eşdeğeri (BHTE) olarak ifade edildi.

4.4.2 Total fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi

Tablo 4.4. Aronyalarda total fenolik bileşiklerin miktarı

Numune Adı	Total Fenolik Bileşikler**
Aronya (100 mg/ml)	319 ± 5

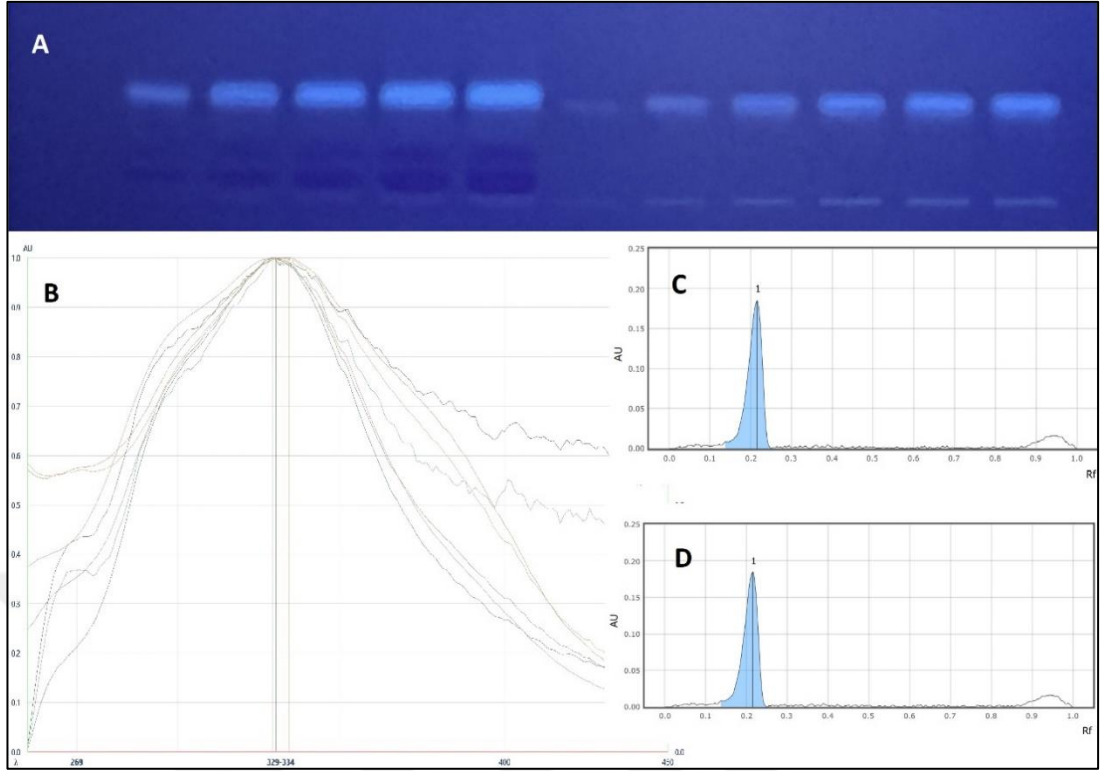
**Sonuçlar, 100 mg toplam ağırlıkta üçlü ± standart sapma (S.S.) ve mg gallik asit eşdeğeri (GE) olarak ifade edildi.

4.4.3 HPTLC ile klorojenik asitin miktarının belirlenmesi

Tablo 4.5. Aronyalarda klorojenik asitin miktarı

Bileşik	Miktar	VK (%)	R ²
Klorojenik Asit*	176.13 ± 2.65	1.52%	0.998

* Sonuç µg/100 mg toplam ağırlık olarak hesaplandı. VK: Varyasyon katsayısı.



Şekil 4.19. Ekstraktların HPTLC analizi

(A) Plakanın görselleştirilmesi (Aronya özütü ve klorojenik asit standardı) (B) Klorojenik asidin UV spektrumları ve 200-450 nm'de izlerin aynı Rf değeri. (C) Standardın HPTLC Kromatogramı (D) Ekstraktın HPTLC Kromatogramı. Mobil faz: EtOAc-CHCl₃-FA-AA-H₂O (100:25:10:10:11) Türevlendirme: NPR reaktifi. Görselleştirme: 366 nm.

5 TARTIŞMA

AA maruziyetinin anlaşılması toplum ve sporcu sağlığının korunması ve geliştirilmesi açısından önemli bir konudur. AA'nın sağlık üzerindeki toksik etkilerinin yanı sıra spor performansı üzerinde de olumsuz etkileri olabileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur (193, 194). Kronik AA maruziyetinin sporcu performansı ve sağlığı üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması açısından literatürde çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

AA'nın sporcular üzerindeki etkilerinin anlaşılmasının ilk adımı sporcuların beslenmesinde yer alan gıdaların AA miktarlarının belirlenmesinin gerekliliğidir. Bu anlamda literatürde ciddi bir boşluk olduğu söylenebilir. Çeşitli besin gruplarında ve alternatif tariflerde AA miktarlarının belirlenmesi, koruyucu stratejilerin ve regülasyonların geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızda sporcu beslenmesinde önemli bir yeri olan whey protein ilavesi ile tavada yüksek ısıda pişirme yöntemiyle hazırlanan yüksek proteinli PK'larda AA miktarının ve formasyona etki edebilecek faktörlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda ev ortamında hazırlanan PK'lar için sağlıklı alternatifler olan tam buğday unu ve yulaf unu seçilerek unların, whey proteini ilavesinin ve AA formasyonunu azaltıcı etkileri olduğu gösterilen antioksidan ilavesinin etkilerinin saptanması hedeflenmiştir. AA formasyonu çok hassas bir süreçtir ve aynı içeriklere sahip, aynı koşullarda hazırlanan ürünlerde bile ciddi farklılıklar olabileceği bildirilmiştir (6). Çalışma planında önyargı yaratabilecek etkilerin elimine edilebilmesi için metotlar geliştirilmiş ve standardizasyon sağlanmıştır. Böylece whey protein ve aronya ilavesinin AA oluşumundaki etkileri anlaşılmaya çalışılmıştır.

5.1 Pankek Örneklerinde Akrilamid Miktarının ve Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi

Acıbadem Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü pişirme laboratuvarında pişirilerek PK örneklerinin ekstraksiyon süreçleri Khosnam ve arkadaşlarının geliştirdiği

yönteme uygun bir şekilde her adımda kontroller sağlanarak yapılmıştır. HPLC cihazında öncelikle AA standart çözeltilerinin grafiği ve doğru denklemi oluşturulmuş daha sonrasında PK örneklerinin sinyal grafiklerinde saptanan AA'ya ait yükseklik değerleri denklemde yerine konarak PK örneklerinin AA içerikleri hesaplanmıştır (Şekil 4.1. ve Tablo 4.2.).

Yapılan hesaplamalara göre en yüksek AA miktarları whey proteinli aronyalı örneklerde bulunmuş olup en düşük AA formasyonu yulaf unu ile hazırlanan aronyalı PK örneğinde görülmüştür. Beklenileceği üzere tam buğday unlu standart PK'te yulaf unlu standart PK'ya kıyasla daha düşük AA oluşumu görülmüştür. Bu durum yulaf ununun daha fazla serbest asparajin içeriği ile ilişkilendirilebilir (110). Fakat aronya ilave edilen tam buğday ve yulaf unu içeren PK'lar kıyaslandığında tam buğday aronyalı PK'da daha fazla AA oluşumu görülmüş olup sebebi açıklanamamıştır.

Whey proteinin aspartik asitten zengin olması sebebiyle yüksek proteinli PK'larda AA miktarının artabileceği öngörülmekteydi fakat çalışma sonuçları bu durumu doğrulamadı. Aspartik asitin AA oluşumuna katkısı ile ilgili literatürde çelişkili sonuçlar vardır. Gıdanın hazırlanmasında ön işlem olarak asparajinin asparajinaz enzimi ile aspartik asite parçalanması sonucunda gıdada AA oluşumunun azaltılabileceği gösterilmiştir. Ayrıca gıdalara protein eklenmesinin AA oluşumunu azaltabileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur. Bütün bu durumlar ele alındığında whey protein ilavesinin AA oluşumunu artırmaması normal karşılanabilir.

Şekil 4.18.'de açıkça görüldüğü üzere çalışmada bulunan PK örnekleri incelendiğinde; farklı unların, whey protein ilavesinin ve aronya ilavesinin istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanamamıştır. Bu durum çeşitli faktörler sebebiyle gerçekleşmiş olabilir. Literatürde bulunan çalışmalara da baktığımızda AA formasyonu çok hassastır ve çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (6). Protein ilavesinin AA oluşumunu azaltabileceğini gösteren çalışmalar da vardır (79, 124). Bütün bu sonuçlar; PK örneklerindeki sinerjik etkilerin AA miktarlarını etkilemiş ve anlamlı farklar görülmesine engel olmuş olabileceğini düşündürmektedir.

İlerideki çalışmaların daha fazla tekrarlar içeren denemelerle yapılması güvenilirliği artıracak ve sonuçları etkileyecektir. Ek olarak PK harçları içerisinde bulunan farklı besin içerikleri harçların kıvamını ve dolayısıyla pişen PK'ların hacmini etkilemiştir. Aynı miktarda sıvı PK harcı kullanılmasına rağmen PK'lar farklı hacimlerde olmuş bu da nüfuz eden ısının PK örnekleri arasında değişkenlik gösterebileceğini düşündürmüştür. Bu anlamda fiziksel özelliklerin değerlendirilmesi ve AA oluşumuna etkisi olabilecek diğer faktörlerin göz ardı edilebilmesi amacıyla diğer analizlerin (pH, nem gibi.) de yapılması ilerleyen çalışmalarda önyargı faktörünü azaltacak ve güvenilirliği artırarak daha güçlü sonuçlar verecektir.

5.2 Aronya Meyvesinin Akrilamid Oluşumundaki Etkilerinin Anlaşılması

PK örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemeler taze bir şekilde tedarik edilmiş, aronya meyvesi Yalovadan soğuk zincir ile getirilmiştir. Aronya meyvesi -80°C'de 1 ay süreyle laboratuvar ortamında saklanmıştır. Bu süreçte aronyanın antioksidan, total fenolik bileşik ve klorojenik asit tayini yapılmış, aynı aronya meyvesi PK örneklerinde kullanılmıştır.

5.2.1 Aronyaların antioksidan aktivitesi ve total fenolik bileşik içeriği

Aronya meyvesi diğer tüm gıdalar ve berry grubu meyvelerle kıyaslandığında; antioksidan aktivitesi oldukça yüksek ve fenolik bileşiklerden zengin bir meyvedir (195-199). Bizim çalışmamızda bulduğumuz veriler de Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.'te görülebileceği gibi literatürü destekler niteliktedir.

Aronya meyvesinin antioksidan kapasitesi bitkinin hasat edilme zamanına, gelişimine, mevsim koşullarına bağlı olarak değişebileceği gibi hasat edildikten sonra evimize gelene kadar geçirdiği süreçte saklama koşullarından (soğuk zincir gibi.) etkilenir (200). Hasat edildikten sonra hemen dondurulan meyvelerin antioksidan aktivitesinde kayıplar olmayabileceği gibi, dondurulmuş meyve ve sebzelerin taze alınanlardan daha güçlü antioksidan aktivite gösterebileceğini söyleyen kanıtlar vardır

(201-204). Bu bağlamda mevsiminde hasat edilen ve soğuk zincir ile evlere gelen aronyanın güçlü bir antioksidan olduğunu söyleyebiliriz.

5.2.2 Aronyaların klorojenik asit içeriği

Çalışmamızda kullandığımız aronyalardaki klorojenik asit miktarı Tablo 4.5.'te paylaşılmıştır. Bu sonuçlara göre; aronyalardaki klorojenik asit miktarı 176.13 ± 2.65 $\mu\text{g}/100$ mg, yani ~ 1.76 g/100 g olarak bulunmuştur. Literatürdeki veriler göz önünde bulundurulduğunda aronyanın klorojenik asit içeriği oldukça yüksektir (205).

5.2.3 Aronya ve akrilamid oluşumu

Bugüne kadar ki çalışmalar antioksidan ilavesinin AA oluşumunu azalttığını göstermiştir (9). Bizim çalışmamızda ise ev ortamında hazırlanan PK'lara eklenen aronyanın istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunamamıştır. Bu sonucun görülmesine çalışmanın sınırlılıkları sebebiyet vermiş olabilir.

PK harçlarının hazırlanmasında kullanılan aronya meyvesi her grup için 20 gram katı meyve şeklindedir. Malzemeler mikser ile çekildiğinde elde edilen harçtan yaklaşık 5-6 adet PK elde edilmekte bu da hazırlanan bir PK için ortalama 3-4 gram aronya kullanıldığını göstermektedir. Sürdürülen testler sonucu güçlü bir antioksidan olduğu gösterilen aronyaların düşük hacimde daha yüksek miktarda meyve içeren sıvı ekstrakt formda karışıma ilave edilmesi sonuçları etkileyebilir; aronyaların AA formasyonuna olan etkilerinin daha iyi anlaşılması açısından daha fazla tekrarlı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Ayrıca literatürde klorojenik asitin AA oluşumunu artırabileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur (206). Çalışmamızda kullanılan aronyalar, antioksidan aktivitesi yüksek, total fenolik bileşiklerden ve klorojenik asitten zengin bir meyvedir. Bütün bu sonuçlar değerlendirildiğinde sinerjik etkiler aronyanın AA oluşumuna etkisini nötralize etmiş olabilir.

6 SONUÇ

Sporcuların ev ortamında pişirme ile hazırladıkları gıdaların AA miktarlarının tayin edilmesi ve AA maruziyetini azaltmak amacıyla izlenecek stratejilerin belirlenmesi koruyucu sağlık ve sporcu sağlığı açısından önemlidir.

Çalışmamızda sporcuların diyetlerinin bir parçası olan whey protein takviyeleri ile hazırlanan yüksek proteinli PK örneklerinin AA miktarları ilk defa saptanarak literatüre sunulmuştur. Beklendiği üzere tavada yüksek sıcaklıkta kızartma yöntemi ile pişirilen PK'larda AA formasyonu görülmektedir. Patates, kahve ve fırıncılık ürünleriyle kıyaslandığında standart ve yüksek proteinli PK'larda düşük miktarlarda AA oluştuğu söylenebilir. Whey proteinin AA formasyonuna istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunamamıştır. Bu etkilerin tam olarak anlaşılması açısından hazırlanan PK'larda fiziksel özelliklerin (renk, kalınlık vb.) ve detaylı analizlerin (pH, nem vb.) değerlendirilmesi önemlidir. Hazırlanan harçların farklı kıvamalarda olması ve pişirildiklerinde farklı hacimlere ulaşması PK'nın maruz kaldığı ısı ve AA formasyonunun belirlenmesi açısından çalışmanın sınırlılığıdır.

Çalışmamızda antioksidan kaynağı olarak kullanılan aronyaların güçlü bir antioksidan aktivitesinin olduğu gösterilmiş ancak AA formasyonuna etkisi anlaşılammıştır. AA analizlerinin hassasiyeti sebebiyle bu etkilerin belirlenebilmesi açısından ilerleyen çalışmalarda daha fazla tekrarlı denemeler yapılmalıdır. Ayrıca ilave edilen antioksidan kaynağının ekstrakt şeklinde düşük hacimde yüksek miktarda meyve içermesi antioksidan ilavesinin AA formasyonuna etkilerini gözlemlemek açısından daha güvenilir veriler sağlayacaktır. Yine buna ek olarak diyetle alınan antioksidanların AA formasyonu haricinde, biyoyararlanımı ile ilişkisinin incelenmesi, antioksidanların insanlarda AA maruziyeti üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasına ve önleyici stratejilerin geliştirilmesine olanak tanıyacaktır.

Antioksidan gıdaların sporcu diyetinde sağlık ve toparlanma gibi önemli etkileri olduğunu göz önüne aldığımızda; ülkemizde yetişen aronya meyvesinin sporcu beslenmesindeki önemli yeri göz ardı edilmemelidir.

7 KAYNAKLAR

1. Nizamlıoğlu NM, Nas S. Gıdalarda Akrilamid Oluşum Mekanizmaları, Gıdaların Akrilamid İçeriği ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda*. 2019-09-02;17(1).
2. Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, et al. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature* 2002 419:6906. 2002/10;419(1).
3. Michalak J, Czarnowska-Kujawska M, Klepacka J, Gujska E, Michalak J, Czarnowska-Kujawska M, et al. Effect of Microwave Heating on the Acrylamide Formation in Foods. *Molecules* 2020, Vol 25, Page 4140. 2020-09-10;25(1).
4. Scientific Opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal*. 2015/06/01;13(1).
5. Benford D, Bignami M, Chipman JK, Bordajandi LR. Assessment of the genotoxicity of acrylamide. *EFSA Journal*. 2022/05/01;20(1).
6. Yu WZ, Shen P, Lim I, Shi RRS, Cai M, Chin YS, et al. Occurrence and Dietary Exposure to Acrylamide from Foods Consumed within and outside Main Meals in Singapore. *Foods* 2023, Vol 12, Page 3022. 2023-08-11;12(1).
7. Exon JH. A Review of the Toxicology of Acrylamide. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2006-12-1;9(1).
8. Friedman M, Levin CE. Review of Methods for the Reduction of Dietary Content and Toxicity of Acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. July 15, 2008;56(1).
9. Sarion C, Codină GG, Dabija A, Sarion C, Codină GG, Dabija A. Acrylamide in Bakery Products: A Review on Health Risks, Legal Regulations and Strategies to Reduce Its Formation. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2021, Vol 18, Page 4332. 2021-04-19;18(1).
10. Jovanov P, Đorđić V, Obradović B, Barak O, Pezo L, Marić A, et al. Prevalence, knowledge and attitudes towards using sports supplements among young athletes. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2019-7-4(1).
11. Pietropaoli F, Pantalone S, Cichelli A, d'Alessandro N. Acrylamide in widely consumed foods – a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2022-5-4(1).
12. Acrylamide: a common food toxin related to physiological functions and health - PubMed. *Physiological research*. 05/04/2017;66(1).
13. Lignert H, Grivas S, Jägerstad M, Skog K, Törnqvist M, Åman P. Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Food & Nutrition Research*. 2002/12/01;46(1).
14. Udovenko AA, Kolzunova LG, Udovenko AA, Kolzunova LG. Crystal structure of acrylamide. *Journal of Structural Chemistry* 2008 49:5. 2008-11-19;49(1).
15. Pan M, Liu K, Yang J, Hong L, Xie X, Wang S, et al. Review of Research into the Determination of Acrylamide in Foods. *Foods* 2020, Vol 9, Page 524. 2020-04-22;9(1).
16. Timmermann CAG, Mølck SS, Kadawathagedara M, Bjerregaard AA, Törnqvist M, Brantsæter AL, et al. A Review of Dietary Intake of Acrylamide in Humans. *Toxics*. 2021/07;9(1).

17. A Review on Acrylamide in Food: Occurrence, Toxicity, and Mitigation Strategies - PubMed. *International journal of toxicology*. 2020 Mar/Apr;39(1).
18. Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA. A Prospective Study of Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Endometrial, Ovarian, and Breast Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2007/11/01;16(1).
19. Kopańska M, Łagowska A, Kuduk B, Banaś-Ząbczyk A, Kopańska M, Łagowska A, et al. Acrylamide Neurotoxicity as a Possible Factor Responsible for Inflammation in the Cholinergic Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol 23, Page 2030. 2022-02-12;23(1).
20. A first approach to estimate the internal exposure to acrylamide in smoking and non-smoking adults from Germany. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2003/01/01;206(1).
21. Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*. 1988/01/01;195(1).
22. Acrylamide impairs ovarian function by promoting apoptosis and affecting reproductive hormone release, steroidogenesis and autophagy-related genes: An in vivo study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020/07/01;197(1).
23. Acrylamide exposure of infants and toddlers through baby foods and current progress on regulations. *Current Opinion in Food Science*. 2022/08/01;46(1).
24. Birth weight, head circumference, and prenatal exposure to acrylamide from maternal diet: the European prospective mother-child study (NewGeneris) - PubMed. *Environmental health perspectives*. 2012 Dec;120(1).
25. Schettgen T, Kütting B, Hornig M, Beckmann MW, Weiss T, Drexler H, et al. Trans-placental exposure of neonates to acrylamide—a pilot study. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 2004 77:3. 2004-01-22;77(1).
26. A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity - PubMed. *Carcinogenesis*. 2007 Mar;28(1).
27. Chaperones and folding of MHC class I molecules in the endoplasmic reticulum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2003/06/17;1641(1).
28. Molecular mechanisms of aldehyde toxicity: a chemical perspective - PubMed. *Chemical research in toxicology*. 07/21/2014;27(1).
29. Başaran B, Çuvalcı B, Kaban G. Dietary Acrylamide Exposure and Cancer Risk: A Systematic Approach to Human Epidemiological Studies. *Foods*. 2023/01;12(0).
30. Acrylamide and cancer risk—expert risk assessments and the public debate. *Food and Chemical Toxicology*. 2004/03/01;42(0).
31. Virk-Baker MK, Nagy TR, Barnes S, Groopman J. Dietary Acrylamide and Human Cancer: A Systematic Review of Literature. *Nutrition and cancer*. 2014;66(0).
32. Pelucchi C, Bosetti C, Galeone C, Vecchia CL. Dietary acrylamide and cancer risk: An updated meta-analysis. *International Journal of Cancer*. 2015/06/15;136(0).

33. Maternal acrylamide exposure during pregnancy and fetal growth: A systematic review and dose-response meta-analysis of epidemiological studies - PubMed. *Environmental research*. 2022 Oct;213(1).
34. Dietary acrylamide intake during pregnancy and fetal growth-results from the Norwegian mother and child cohort study (MoBa) - PubMed. *Environmental health perspectives*. 2013 Mar;121(1).
35. Gestational acrylamide exposure and biomarkers of fetal growth: Probing the mechanism underlying the association between acrylamide and reduced fetal growth. *Environment International*. 2021/10/01;155(1).
36. Duarte-Salles T, Stedingk Hv, Granum B, Gützkow KB, Rydberg P, Törnqvist M, et al. Dietary Acrylamide Intake during Pregnancy and Fetal Growth—Results from the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). *Environmental Health Perspectives*. 2012-11-29;121(1).
37. Dietary acrylamide intake during pregnancy and postnatal growth and obesity: Results from the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). *Environment International*. 2018/04/01;113(1).
38. LoPachin RM, Barber DS. Synaptic Cysteine Sulfhydryl Groups as Targets of Electrophilic Neurotoxicants. *Toxicological Sciences*. 2006/12/01;94(1).
39. In Vivo and In Vitro Effects of Acrylamide on Synaptosomal Neurotransmitter Uptake and Release. *NeuroToxicology*. 2004/03/01;25(1).
40. Tian S-m, Ma Y-x, Shi J, Lou T-y, Liu S-s, Li G-y. Acrylamide neurotoxicity on the cerebrum of weaning rats. *Neural Regeneration Research*. 2015/06;10(1).
41. LoPachin RM, Gavin T. Molecular Mechanism of Acrylamide Neurotoxicity: Lessons Learned from Organic Chemistry. *Environmental Health Perspectives*. 2012/12;120(1).
42. Acrylamide: review of toxicity data and dose-response analyses for cancer and noncancer effects - PubMed. *Critical reviews in toxicology*. 2006 Jul-Aug;36(6-7).
43. Zhao M, Zhang B, Deng L. The Mechanism of Acrylamide-Induced Neurotoxicity: Current Status and Future Perspectives. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9.
44. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Current Neuropharmacology*. 2009/03;7(1).
45. The Changing View of Acrylamide Neurotoxicity. *NeuroToxicology*. 2004/06/01;25(1).
46. Erkekoglu P, Baydar T. Acrylamide neurotoxicity. *Nutritional Neuroscience*. 2014-2-1;17(1).
47. Zamani E, Shokrzadeh M, Fallah M, Shaki F. A review of acrylamide toxicity and its mechanism. *Pharmaceutical and Biomedical Research*. 2017/5/10;3(1).
48. Catalgol B, Özhan G, Alpertunga B, Betül Catalgol GÖ, Buket Alpertunga. Acrylamide-induced oxidative stress in human erythrocytes. *Human & Experimental Toxicology*. 2009-10-07;28(1).
49. Acrylamide-induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats. *Toxicology*. 2006/02/15;219(1).
50. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001/10/01;31(1).

51. Džuvo AH-, Valjevac A, Lepara O, Pjanić S, Hadžimuratović A, Mekić A. Oxidative stress status in elite athletes engaged in different sport disciplines. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2014/05;14(1).
52. Wang F, Wang X, Liu Y, Zhang Z. Effects of Exercise-Induced ROS on the Pathophysiological Functions of Skeletal Muscle. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021(1).
53. Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC - PubMed. *Free radical biology & medicine*. 01/15/2008;44(1).
54. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*. 2008 Oct 01;88(1).
55. Gökmen V, Palazoğlu T, Gökmen V, Palazoğlu T. Acrylamide Formation in Foods during Thermal Processing with a Focus on Frying. *Food and Bioprocess Technology*. 2008;1(1).
56. Raffan S, Halford NG. Acrylamide in food: Progress in and prospects for genetic and agronomic solutions. *The Annals of Applied Biology*. 2019/11;175(1).
57. Acrylamide is formed in the Maillard reaction - PubMed. *Nature*. 10/03/2002;419(1).
58. In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the maillard reaction - PubMed. *Journal of agricultural and food chemistry*. 08/25/2004;52(1).
59. Acrylamide formation mechanism in heated foods - PubMed. *Journal of agricultural and food chemistry*. 07/30/2003;51(1).
60. Response surface methodology for meat-like odorants from Maillard reaction with glutathione I: the optimization analysis and the general pathway exploration - PubMed. *Journal of food science*. 2012 Sep;77(1).
61. Zhang Y, Zhang Y. Formation and Reduction of Acrylamide in Maillard Reaction: A Review Based on the Current State of Knowledge. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2007-6-28;47(1).
62. Adam Becalski, †, ‡, Benjamin P.-Y. Lau, David Lewis, Stephen W. Seaman, Stephen Hayward, Michael Sahagian, #, et al. Acrylamide in French Fries: Influence of Free Amino Acids and Sugars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. May 22, 2004;52(1).
63. Amrein TM, Andres L, Escher F, Amadò R. Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options. *Food Additives and Contaminants*. 2007-7-1(1).
64. Quantitation of 3-Aminopropionamide in Potatoes A Minor but Potent Precursor in Acrylamide Formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(1).
65. Thermally generated 3-aminopropionamide as a transient intermediate in the formation of acrylamide - PubMed. *Journal of agricultural and food chemistry*. 08/09/2006;54(1).
66. Yaylayan VA, Stadler RH. Acrylamide formation in food: a mechanistic perspective. *J AOAC Int*. 2005;88(1):262-7.
67. Influence of agronomic factors and extraction rate on the acrylamide contents in yeast-leavened breads - PubMed. *Journal of agricultural and food chemistry*. 11/15/2006;54(1).
68. Pyrolytic acrylamide formation from purified wheat gluten and gluten-supplemented wheat bread rolls - PubMed. *Molecular nutrition & food research*. 2006 Jan;50(1).

69. Buhlert J, Carle R, Majer Z, Spitzner D. Thermal Degradation of Peptides and Formation of Acrylamide, Part 2.
70. Acrylamide in foods: a review of the science and future considerations - PubMed. Annual review of food science and technology. 2012;3(1).
71. Basaran B, Faiz O. Determining the Levels of Acrylamide in Some Traditional Foods Unique to Turkey and Risk Assessment. Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR. 2022/12;21(1).
72. Effects of consumer food preparation on acrylamide formation - PubMed. Advances in experimental medicine and biology. 2005;561(1).
73. Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans - PubMed. Chemotherapy. 2002;48(1).
74. Exposure to acrylamide: placing exposure in context - PubMed. Advances in experimental medicine and biology. 2005;561(1).
75. Process-Induced Food Toxicants. 2008.
76. Challenges in estimating dietary acrylamide intake. Acrylamide in Food. 2024/01/01(1).
77. Stadler RH, Scholz G. Acrylamide: an Update on Current Knowledge in Analysis, Levels in Food, Mechanisms of Formation, and Potential Strategies of Control. Nutrition Reviews. 2004/12/01;62(1).
78. Keramat J, LeBail A, Prost C, Soltanizadeh N, Keramat J, LeBail A, et al. Acrylamide in Foods: Chemistry and Analysis. A Review. Food and Bioprocess Technology 2010 4:3. 2010-11-25;4(1).
79. Per Rydberg, Sune Eriksson, Eden Tareke, Patrik Karlsson, Lars Ehrenberg a, Margareta Törnqvist*. Investigations of Factors That Influence the Acrylamide Content of Heated Foodstuffs. October 18, 2003(1).
80. Seal CJ, Mul Ad, Eisenbrand G, Haverkort AJ, Franke K, Lalljie SPD, et al. Risk-Benefit Considerations of Mitigation Measures on Acrylamide Content of Foods – A Case Study on Potatoes, Cereals and Coffee | British Journal of Nutrition | Cambridge Core. British Journal of Nutrition. 2008/04;99(1).
81. Effect of vacuum roasting on acrylamide formation and reduction in coffee beans - PubMed. Food chemistry. 02/15/2014;145(1).
82. Hu H, Liu X, Jiang L, Zhang Q, Zhang H. The relationship between acrylamide and various components during coffee roasting and effect of amino acids on acrylamide formation. Journal of Food Processing and Preservation. 2021/05/01;45(1).
83. Acrylamide in coffee: formation and possible mitigation strategies - a review - PubMed. Critical reviews in food science and nutrition. 2020;60(1).
84. Anese M, Valoppi F, Calligaris S, Lagazio C, Suman M, Manzocco L, et al. Omega-3 Enriched Biscuits with Low Levels of Heat-Induced Toxicants: Effect of Formulation and Baking Conditions. Food and Bioprocess Technology 2015 9:2. 2015-10-08;9(1).
85. Acrylamide in coffee: review of progress in analysis, formation and level reduction - PubMed. Food additives and contaminants. 2007;24 Suppl 1(1).

86. Soares C, Alves R, Oliveira M, Soares C, Alves R, Oliveira M. Factors Affecting Acrylamide Levels in Coffee Beverages. *Coffee in Health and Disease Prevention*. 2014(1).
87. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Research International*. 2016/12/01;90(1).
88. Taeymans D, Wood J, Ashby P, Blank I, Studer A, Stadler RH, et al. A Review of Acrylamide: An Industry Perspective on Research, Analysis, Formation, and Control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2004-9-1;44(1).
89. Schouten MA, Tappi S, Romani S. Acrylamide in coffee: formation and possible mitigation strategies – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020-12-15;60(1).
90. Dietary intake of acrylamide in Sweden - PubMed. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2003 Nov;41(1).
91. Dybing E, Sanner T. Risk Assessment of Acrylamide in Foods. *Toxicological Sciences*. 2003/09/01;75(1).
92. Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee. *Analytica Chimica Acta*. 2004/08/23;520(1).
93. Denis Andrzejewski, John A. G. Roach, Martha L. Gay a, Musser SM. Analysis of Coffee for the Presence of Acrylamide by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. March 10, 2004;52(1).
94. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs - PubMed. *Journal of agricultural and food chemistry*. 08/14/2002;50(17).
95. Rumination as a predictor of relapse in mindfulness-based cognitive therapy for depression - PubMed. *Psychology and psychotherapy*. 2011 Jun;84(1).
96. Kumar J, Das S, Teoh SL. Dietary Acrylamide and the Risks of Developing Cancer: Facts to Ponder. *Frontiers in Nutrition*. 2018;5(1).
97. Bethke PC, Bussan AJ, Bethke PC, Bussan AJ. Acrylamide in Processed Potato Products. *American Journal of Potato Research* 2013 90:5. 2013-05-14;90(5).
98. Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International*. 2005/01/01;38(1).
99. Modeling heat and mass transfer in immersion frying. I, model development. *Journal of Food Engineering*. 1996/08/01;29(1).
100. Potential of Acrylamide Formation, Sugars, and Free Asparagine in Potatoes: A Comparison of Cultivars and Farming Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(1).
101. Olsson K, Svensson R, Roslund C-A. Tuber components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: variation by variety, year, storage temperature and storage time. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2004/04/15;84(1).
102. Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(1).
103. Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(1).

104. Rosén J, Rosén J, Hellenäs K-E, Hellenäs K-E. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst*. 2002/06/27;127(1).
105. Grob K, Biedermann M, Biedermann-Brem S, Noti A, Imhof D, Amrein T, et al. French fries with less than 100 µg/kg acrylamide. A collaboration between cooks and analysts. *European Food Research and Technology* 2003 217:3. 2003-08-02;217(1).
106. Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. *LWT - Food Science and Technology*. 2004/09/01;37(1).
107. Jung MY, Choi DS, Ju JW. A Novel Technique for Limitation of Acrylamide Formation in Fried and Baked Corn Chips and in French Fries. *Journal of Food Science*. 2003/05/01;68(1).
108. Biedermann-Brem S, Noti A, Grob K, Imhof D, Bazzocco D, Pfefferle A, et al. How much reducing sugar may potatoes contain to avoid excessive acrylamide formation during roasting and baking? *European Food Research and Technology* 2003 217:5. 2003-09-10;217(1).
109. Europe FD. Acrylamide toolbox. BEL Bruselas; 2019.
110. Acrylamide formation in biscuits made of different wholegrain flours depending on their free asparagine content and baking conditions. *Food Research International*. 2020/06/01;132.
111. Suriya M, Rajput R, Reddy CK, Haripriya S, Bashir M. Functional and physicochemical characteristics of cookies prepared from *Amorphophallus paeoniifolius* flour. *Journal of Food Science and Technology*. 2017/06;54(7).
112. Budžaki S, Komlenić DK, Čačić JL, Čačić F, Jukić M, Kožul Ž. Influence of cookies composition on temperature profiles and qualitative parameters during baking. *Croatian journal of food science and technology*. 2014;6(1).
113. Adeola AA, Ohizua ER. Physical, chemical, and sensory properties of biscuits prepared from flour blends of unripe cooking banana, pigeon pea, and sweet potato. *Food Science & Nutrition*. 2018/05;6(1).
114. Pasqualone A, Haider NN, Summo C, Coldea TE, George SS, Altemimi AB, et al. Biscuit Contaminants, Their Sources and Mitigation Strategies: A Review. *Foods* 2021, Vol 10, Page 2751. 2021-11-10;10(1).
115. Reassessment of acrylamide content in breakfast cereals. Evolution of the Spanish market from 2006 to 2018. *Food Control*. 2019/11/01;105(1).
116. Investigation on heat-induced chemical indexes in traditional and reformulated biscuits. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021/08/01;101(1).
117. An updated view of acrylamide in cereal products. *Current Opinion in Food Science*. 2022/08/01;46(1).
118. Effect of amino acids on acrylamide formation and elimination kinetics - PubMed. *Biotechnology progress*. 2005 Sep-Oct;21(1).
119. Acrylamide is formed in the Maillard reaction - PubMed. *Nature*. 10/03/2002;419(6906).
120. Is lowering reducing sugars concentration in French fries an effective measure to reduce acrylamide concentration in food service establishments? *Food Chemistry*. 2012/12/01;135(1).

121. Kinetics of Acrylamide Formation and Elimination during Heating of an Asparagine–Sugar Model System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(1).
122. Unravelling the kinetics of the formation of acrylamide in the Maillard reaction of fructose and asparagine by multiresponse modelling. *Food Chemistry*. 2010/06/15;120(1).
123. Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(3).
124. Assessment of the acrylamide bioaccessibility in cereal and potato-based foods after in vitro digestion. *Food Research International*. 2022/11/01;161(1).
125. Shih FF, Boué SM, Daigle KW, Shih BY, Shih FF, Boué SM, et al. Effects of flour sources on acrylamide formation and oil uptake in fried batters. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2004 81:3. 2004/03;81(1).
126. Correlations between the Amounts of Free Asparagine and Saccharides Present in Commercial Cereal Flours in the United Kingdom and the Generation of Acrylamide during Cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(15).
127. Koutsidis G, Simons SPJ, Thong YH, Haldoupis Y, Mojica-Lazaro J, Wedzicha BL, et al. Investigations on the Effect of Amino Acids on Acrylamide, Pyrazines, and Michael Addition Products in Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. September 9, 2009;57(1).
128. Modelling acrylamide changes in foods: from single-response empirical to multiresponse mechanistic approaches. *Trends in Food Science & Technology*. 2009/04/01;20(3-4).
129. Role of precursors on the kinetics of acrylamide formation and elimination under low moisture conditions using a multiresponse approach – Part II: Competitive reactions. *Food Chemistry*. 2009/05/15;114(1).
130. Mestdagh F, Maertens J, Cucu T, Delporte K, Peteghem C, Meulenaer B. Impact of additives to lower the formation of acrylamide in a potato model system through pH reduction and other mechanisms. *Food Chemistry*. 2008;107(1).
131. Thermal interaction of ascorbic acid and sodium ascorbate with proteins in relation to nonenzymic browning and Maillard reactions of foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1989;37(6).
132. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal electroshock seizure models - PubMed. *Epilepsy research*. 1991 Mar;8(2).
133. Matheis G, Whitaker JR. A Review: Enzymatic Cross-linking of Proteins Applicable to Foods. *Journal of Food Biochemistry*. 1987/12/01;11(4).
134. Acrylamide formation in vegetable oils and animal fats during heat treatment. *Food Chemistry*. 2016/12/01;212.
135. Hedegaard RV, Granby K, Frandsen H, Thygesen J, Skibsted LH, Hedegaard RV, et al. Acrylamide in bread. Effect of prooxidants and antioxidants. *European Food Research and Technology* 2007 227:2. 2007-09-26;227(2).

136. Optimizing the Addition of Functional Plant Extracts and Baking Conditions To Develop Acrylamide-Free Pita Bread. *Journal of Food Protection*. 2018/10/01;81(10).
137. Lotfy TMR, Agamy N, El-wardany NA, Younes NM. Effect of Thyme, Cumin and Anise on the Formation of Acrylamide in Some Bakery Products. *Alexandria Journal of Agricultural Sciences*. 2018;63(3).
138. Yang H, Li L, Yin Y, Li B, Zhang X, Jiao W, et al. Effect of ground ginger on dough and biscuit characteristics and acrylamide content. *Food Science and Biotechnology* 2019 28:5. 2019-03-18;28(5).
139. Miśkiewicz K, Nebesny E, Rosicka-Kaczmarek J, Żyżelewicz D, Budryn G, Miśkiewicz K, et al. The effects of baking conditions on acrylamide content in shortcrust cookies with added freeze-dried aqueous rosemary extract. *Journal of Food Science and Technology* 2018 55:10. 2018-07-28;55(10).
140. Effect of (–)-epigallocatechin gallate (EGCG) extracted from green tea in reducing the formation of acrylamide during the bread baking process. *Food Chemistry*. 2018/03/01;242.
141. Acrylamide: formation, occurrence in food products, detection methods, and legislation - PubMed. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2014;54(1).
142. Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science*. 2008/03/01;47(2).
143. Jia R, Wan X, Geng X, Xue D, Xie Z, Chen C. Microbial L-asparaginase for Application in Acrylamide Mitigation from Food: Current Research Status and Future Perspectives. *Microorganisms*. 2021/08;9(8).
144. Antioxidant-capacity-based models for the prediction of acrylamide reduction by flavonoids - PubMed. *Food chemistry*. 02/01/2015;168(1).
145. Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems - PubMed. *Journal of agricultural and food chemistry*. 12/27/2006;54(26).
146. Petka K, Wajda Ł, Duda-Chodak A. The Utilisation of Acrylamide by Selected Microorganisms Used for Fermentation of Food. *Toxics*. 2021/11;9(1).
147. Assefa D, Dessalegn E, Abegaz K. Antioxidant activity and reduction potential of dietary herbs on acrylamide formation in asparagine-glucose reaction model. *International Journal of Food Properties*. 2023-09-22;26(1).
148. Protective effect of Aronia melanocarpa juice against acrylamide-induced cellular toxicity - PubMed. *Journal of environmental science and health Part B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*. 2023;58(1).
149. Borczak B, Sikora M, Kapusta-Duch J, Fołta M, Szewczyk A, Zięć G, et al. Antioxidative Properties and Acrylamide Content of Functional Wheat-Flour Cookies Enriched with Wild-Grown Fruits. *Molecules* 2022, Vol 27, Page 5531. 2022-08-28;27(1).
150. Cao X, Yang L, Xue Q, Yao F, Sun J, Yang F, et al. Antioxidant evaluation-guided chemical profiling and structure-activity analysis of leaf extracts from five trees in Broussonetia and Morus (Moraceae). *Scientific Reports* 2020 10:1. 2020-03-16;10(1).

151. Becker EM, Nissen LR, Skibsted LH, Becker EM, Nissen LR, Skibsted LH. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology* 2004 219:6. 2004-10-14;219(1).
152. Meziane-Assami D, Tomao V, Ruiz K, Meklati BY, Chemat F, Meziane-Assami D, et al. Geographical Differentiation of Rosemary Based on GC/MS and Fast HPLC Analyses. *Food Analytical Methods* 2012 6:1. 2012-05-16;6(1).
153. Antioxidants: Scientific Literature Landscape Analysis - PubMed. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 01/08/2019;2019.
154. La J, Kim M-J, Lee J. Evaluation of solvent effects on the DPPH reactivity for determining the antioxidant activity in oil matrix. *Food Science and Biotechnology*. 2021/03;30(3).
155. Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*. 2011/08;48(1).
156. Minatel IO, Borges CV, Ferreira MI, Gomez HAG, and C-YOC, Lima GPP, et al. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability | *IntechOpen*. 2017/03/08(1).
157. Lea AJ, Tung J, Zhou X. A Flexible, Efficient Binomial Mixed Model for Identifying Differential DNA Methylation in Bisulfite Sequencing Data. *PLOS Genetics*. 24 Kas 2015;11(1).
158. Budryn G, Nebesny E, Oracz J. Correlation Between the Stability of Chlorogenic Acids, Antioxidant Activity and Acrylamide Content in Coffee Beans Roasted in Different Conditions. *International Journal of Food Properties*. 2015-2-1;18(1).
159. Santanatoglia A, Angeloni S, Bartolucci D, Fioretti L, Sagratini G, Vittori S, et al. Effect of Brewing Methods on Acrylamide Content and Antioxidant Activity: Studying Eight Different Filter Coffee Preparations. *Antioxidants* 2023, Vol 12, Page 1888. 2023-10-21;12(1).
160. Castle L, Eriksson S. Analytical Methods Used to Measure Acrylamide Concentrations in Foods. *Journal of AOAC International*. 2005/01/01;88(1).
161. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: Review and recent developments. *Journal of Chromatography A*. 2005/05/20;1075(1-2).
162. HPLC-UV quantitative analysis of acrylamide in baked and deep-fried Chinese foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2013/08/01;31(1).
163. RP-HPLC-DAD studies on acrylamide in cereal-based baby foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2013/11/01;32(1).
164. An improved LC-MS/MS method for the quantitation of acrylamide in processed foods. *Food Chemistry*. 2007/01/01;101(1).
165. Rapid sample preparation method for LC-MS/MS or GC-MS analysis of acrylamide in various food matrices - PubMed. *Journal of agricultural and food chemistry*. 09/20/2006;54(19).
166. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review - PubMed. *Food additives and contaminants*. 2003 Oct;20(10).
167. Response to Zhang et al (2005): loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major Depression. *Neuron* 45, 11-16 - PubMed. *Neuron*. 12/08/2005;48(5).

168. Separation and determination of acrylamide in potato chips by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Talanta*. 2007/03/15;71(4).
169. Occurrence, synthesis, toxicity and detection methods for acrylamide determination in processed foods with special reference to biosensors: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2019/03/01;85.
170. Adedipe OE, Johanningsmeier SD, Truong V-D, Yencho GC. Development and Validation of a Near-Infrared Spectroscopy Method for the Prediction of Acrylamide Content in French-Fried Potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. February 22, 2016;64(8).
171. On-line monitoring of fat, dry matter and acrylamide contents in potato chips using near infrared interactance and visual reflectance imaging. *Food Chemistry*. 2010/07/15;121(2).
172. Analytical evaluation of a high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for acrylamide determination in fried foods - PubMed. *Talanta*. 2014 Jun;123.
173. Development of an Enhanced Chemiluminescence ELISA for the Rapid Detection of Acrylamide in Food Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(13).
174. Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed foods: A review. *Food Control*. 2015/10/01;56.
175. Dietary Supplement Use in the United States, 2003–2006. *The Journal of Nutrition*. 2011/02/01;141(2).
176. Maughan RJ, Burke LM, Dvorak J, Larson-Meyer DE, Peeling P, Phillips SM, et al. IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. *British Journal of Sports Medicine*. 2018-04-01;52(7).
177. Maughan RJ, Depiesse F, Geyer H. The use of dietary supplements by athletes. *Journal of Sports Sciences*. 2007-12-1;25(sup1).
178. Promoting training adaptations through nutritional interventions - PubMed. *Journal of sports sciences*. 2006 Jul;24(7).
179. Pires AF, Marnotes NG, Rubio OD, Garcia AC, Pereira CD. Dairy By-Products: A Review on the Valorization of Whey and Second Cheese Whey. *Foods*. 2021/05;10(5).
180. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates - PubMed. *Amino acids*. 2018 Dec;50(12).
181. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men - PubMed. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2009 Sep;107(3).
182. Frestedt JL, Zenk JL, Kuskowski MA, Ward LS, Bastian ED, Frestedt JL, et al. A whey-protein supplement increases fat loss and spares lean muscle in obese subjects: a randomized human clinical study. *Nutrition & Metabolism* 2008 5:1. 2008-03-27;5(1).
183. Chalé A, Cloutier GJ, Hau C, Phillips EM, Dallal GE, Fielding RA. Efficacy of Whey Protein Supplementation on Resistance Exercise-Induced Changes in Lean Mass, Muscle Strength, and Physical Function in Mobility-Limited Older Adults. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2013/06/01;68(6).

184. Volek JS, Volk BM, Gómez AL, Kunces LJ, Kupchak BR, Freidenreich DJ, et al. Whey Protein Supplementation During Resistance Training Augments Lean Body Mass. *Journal of the American College of Nutrition*. 2013-4-1;32(2).
185. West DWD, Sawan SA, Mazzulla M, Williamson E, Moore DR, West DWD, et al. Whey Protein Supplementation Enhances Whole Body Protein Metabolism and Performance Recovery after Resistance Exercise: A Double-Blind Crossover Study. *Nutrients* 2017, Vol 9, Page 735. 2017-07-11;9(7).
186. Afeefa F. Development of Protein Enriched Pancake Mix. 2021.
187. Elfeky W, Mohamed E, Hussien H. Nutritional Properties of High Protein Pancakes Using Sorghum and Sweet Lupine. *Food Technology Research Journal*. 2024;3(2):81-93.
188. Kiprushkina E, Golovinskaia O, Ovsyuk E, Baklanova V, Alekseeva L, Tulina A, et al. Pancakes for a healthy diet: low-carb, prebiotic, gluten-free. 2020.
189. Khoshnam F, Zargar B, Pourreza N, Parham H, Khoshnam F, Zargar B, et al. Acetone extraction and HPLC determination of acrylamide in potato chips. *Journal of the Iranian Chemical Society* 2010 7:4. 2010/12;7(1).
190. Influence of extraction method on enzyme inhibition, phenolic profile and antioxidant capacity of *Sideritis trojana* Bormm. *South African Journal of Botany*. 2019/03/01;121.
191. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965-01-01;16(3).
192. In vitro human digestion simulation of the bioavailability and antioxidant activity of phenolics from *Sambucus ebulus* L. fruit extracts. *Food Bioscience*. 2020/10/01;37.
193. Veronese N, Dominguez LJ, Ragusa S, Solimando L, Smith L, Bolzetta F, et al. Dietary acrylamide and physical performance tests: A cross-sectional analysis. *PLoS ONE*. 2021;16(11).
194. Govindaraju I, Sana M, Chakraborty I, Rahman MH, Biswas R, Mazumder N, et al. Dietary Acrylamide: A Detailed Review on Formation, Detection, Mitigation, and Its Health Impacts. *Foods* 2024, Vol 13, Page 556. 2024-02-12;13(1).
195. Jakobek L, Šeruga M, Medvidović-Kosanović M, Novak I, editors. *Antioxidant Activity and Polyphenols of Aronia in Comparison to other Berry Species* 2007.
196. Oszmiański J, Wojdyło A, Oszmiański J, Wojdyło A. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology* 2005 221:6. 2005-08-16;221(1).
197. Sreeramulu D, Reddy CVK, Chauhan A, Balakrishna N, Raghunath M. Natural Antioxidant Activity of Commonly Consumed Plant Foods in India: Effect of Domestic Processing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013;2013(1).
198. Kim J-S. Antioxidant Activities of Selected Berries and Their Free, Esterified, and Insoluble-Bound Phenolic Acid Contents. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2018/03;23(1).
199. Tolić M-T, Jurčević IL, Krbavčić IP, Marković K, Vahčić N. Phenolic Content, Antioxidant Capacity and Quality of Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Products. *Food Technology and Biotechnology*. 2015/06;53(1).

200. Thi ND, Hwang E-S. Bioactive Compound Contents and Antioxidant Activity in Aronia (*Aronia melanocarpa*) Leaves Collected at Different Growth Stages. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2014/09;19(3).
201. Duygu Benzer Gürel DK, Özlem Çağındı & Neriman Bağdatlıoğlu. Determination of Antioxidant Activity and Total Anthocyanin Content of Frozen and Thawed Strawberries under Different Conditions. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*. 2018-09-26;2(1).
202. Antioxidant Activity in Frozen Plant Foods: Effect of Cryoprotectants, Freezing Process and Frozen Storage - PubMed. *Foods (Basel, Switzerland)*. 12/17/2020;9(1).
203. Antioxidant Activity of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Fruit Pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(1).
204. Polyphenols and Antioxidant Capacity of Vegetables under Fresh and Frozen Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(1).
205. Wang L, Pan X, Jiang L, Chu Y, Gao S, Jiang X, et al. The Biological Activity Mechanism of Chlorogenic Acid and Its Applications in Food Industry: A Review. *Frontiers in Nutrition*. 2022/06/29;9.
206. Chlorogenic acid increased acrylamide formation through promotion of HMF formation and 3-aminopropionamide deamination - PubMed. *Journal of hazardous materials*. 03/15/2014;268.

8 EKLER

EK 1. Pankek Örnekleri



EK 2. Yalova Aronyası



EK 3. Akrilamidin Ekstraksiyonu



9 ÖZGEÇMİŞ



